

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR  
MUND-, KIEFER- UND GESICHTSCHIRURGIE  
DIREKTOR: PROF. DR. DR. T.E. REICHERT  
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

*Immunhistochemie als Prognoseindikator bei  
Speicheldrüsenerkrankungen*  
*Eine klinisch-pathologische Studie mit 5-Jahres-Follow-Up*

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Medizinischen Fakultät  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Dr. med. dent. Tobias Ettl  
aus Bruck / Opf.

2009



AUS DEM LEHRSTUHL FÜR  
MUND-, KIEFER- UND GESICHTSCHIRURGIE  
DIREKTOR: PROF. DR. DR. T.E. REICHERT  
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

***Immunhistochemie als Prognoseindikator bei  
Speicheldrüsenerkrankungen***  
*Eine klinisch-pathologische Studie mit 5-Jahres-Follow-Up*

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Medizinischen Fakultät  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Dr. med. dent. Tobias Ettl  
aus Bruck / Opf.

2009

Dekan: Prof. Dr. Bernhard Weber

1. Berichterstatter: Priv.- Doz. Dr. Dr. Oliver Driemel

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Thomas Kühnel

Tag der mündlichen Prüfung: 12.08.2009 (Prof. Dr. Kühnel, Regensburg)

25.08.2009 (Priv.-Doz. Dr. Dr. Driemel, Lüneburg)

**Meiner Mutter**

**Sowie**

**Meiner Frau Carolin**

**In Liebe und Dankbarkeit gewidmet.**

# Inhalt

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Maligne Speicheldrüsenneoplasien</b>	<b>1</b>
<b>1.1.1</b>	<b>Häufigkeits-, Alters- und Geschlechtsverteilung</b>	<b>1</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Ätiologie</b>	<b>2</b>
<b>1.1.3</b>	<b>Klinische Symptome</b>	<b>2</b>
<b>1.1.4</b>	<b>Darstellung in der Bildgebung</b>	<b>3</b>
<b>1.1.5</b>	<b>Histologische Klassifikation</b>	<b>4</b>
1.1.5.1	Azinuszellkarzinom ICD-O code: 8550/3	5
1.1.5.2	Mukoepidermoidkarzinom ICD-O code: 8439/3	7
1.1.5.3	Adenoid-zystisches Karzinom ICD O code: 8200/3	9
1.1.5.4	Speichelgangkarzinom ICD-O code: 8500/3	12
1.1.5.5	Karzinom aus pleomorphem Adenom ICD-O code: 8941/3	13
<b>1.1.6</b>	<b>Staging</b>	<b>16</b>
1.1.6.1	TNM-Klassifikation	16
1.1.6.2	Histopathologisches Grading	18
1.1.6.3	Residualtumor-(R-)Klassifikation	20
<b>1.1.7</b>	<b>Therapie</b>	<b>20</b>
1.1.7.1	Chirurgie des Primärtumors	21
1.1.7.2	Chirurgie der Lymphknoten („Neck dissection“)	23
1.1.7.3	Adjuvante Strahlentherapie	27
1.1.7.4	Chemotherapie	28
1.1.7.5	Antikörpertherapie	28
<b>1.1.8</b>	<b>Prognostische Faktoren</b>	<b>29</b>
1.1.8.1	Genetik und Molekularbiologie	30

1.1.8.1.1	P53	32
1.1.8.1.2	Ki-67 - Synonym: MIB-1	33
1.1.8.1.3	Epidermale Wachstumsfaktoren der EGFR-Familie	34
1.1.8.1.4	C-KIT - Synonym: CD117	37
1.1.8.1.5	Maspin	38
<b>2</b>	<b>Fragestellung</b>	<b>41</b>
<b>3</b>	<b>Patienten und Methoden</b>	<b>42</b>
<b>3.1</b>	<b>Patienten</b>	<b>42</b>
<b>3.2</b>	<b>Datenerhebung</b>	<b>42</b>
<b>3.3</b>	<b>Histopathologische Untersuchungen</b>	<b>43</b>
<b>3.4</b>	<b>Multiblock</b>	<b>44</b>
<b>3.5</b>	<b>Immunhistochemie</b>	<b>46</b>
3.5.1	Entparaffinierung	47
3.5.2	Vorbehandlung	48
3.5.3	Immunfärbung und Detektion	48
<b>3.6</b>	<b>Verwendete Materialien und Reagenzien</b>	<b>52</b>
<b>3.7</b>	<b>Auswertung der immunhistochemischen Färbungen</b>	<b>53</b>
<b>3.8</b>	<b>Statistische Auswertung</b>	<b>57</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>58</b>
<b>4.1</b>	<b>Deskriptive Analyse - Klinisch-pathologische Parameter</b>	<b>58</b>
4.1.1	Tumorentitäten	58
4.1.2	Geschlechts- und Altersverteilung	60
5.1.3	Lokalisation	61
4.1.4	Klinische Symptomatik - Schmerzen und Fazialisparese	62
4.1.5	TNM-Klassifikation	62

4.1.6	Therapie	66
4.1.7	Rezidivaufreten	69
<b>4.2</b>	<b>Deskriptive Analyse - Immunhistochemische Parameter</b>	<b>70</b>
4.2.1	Ki-67 (MIB-1)	70
4.2.2	P53, HER2, EGFR und C-KIT	73
4.2.3	Maspin	76
<b>4.3</b>	<b>Überleben und Prognose - Klinisch-pathologische Parameter</b>	<b>78</b>
<b>4.4</b>	<b>Überleben und Prognose - Immunhistochemische Parameter</b>	<b>85</b>
4.4.1	Ki-67, P53, HER2, EGFR und C-KIT	85
4.4.1	Maspin	89
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>93</b>
<b>5.1</b>	<b>Diskussion der Methodik</b>	<b>93</b>
<b>5.2</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>96</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Deskriptive Analyse - Klinisch-pathologische Parameter</b>	<b>96</b>
5.2.1.1	Tumorphistologie	96
5.2.1.2	Lokalisation, Alters- und Geschlechtsverteilung	97
5.2.1.3	Klinische Symptomatik - Schmerzen und Fazialisparese	99
5.2.1.4	Grading	100
5.2.1.5	Größe und Nodalstatus	101
5.2.1.6	Therapie und Resektionsstatus	102
5.2.1.7	Rezidiv	103
<b>5.2.2</b>	<b>Deskriptive Analyse - Immunhistochemische Parameter</b>	<b>104</b>
5.2.2.1	Ki-67	104
5.2.2.2	P53	105
5.2.2.3	HER2	106

5.2.2.4	EGFR	107
5.2.2.5	C-KIT	108
5.2.2.6	Maspin	108
<b>5.2.3</b>	<b>Überleben und Prognose - Klinisch-pathologische Parameter</b>	<b>110</b>
5.2.3.1	Histologischer Subtyp	111
5.2.3.2	Lokalisation und Alter	112
5.2.3.3	Grading	112
5.2.3.4	TNM-Stadium	113
5.2.3.5	Resektionsstatus	114
<b>5.2.4</b>	<b>Überleben und Prognose - Immunhistochemische Parameter</b>	<b>114</b>
5.2.4.1	Ki-67	114
5.2.4.2	P53	116
5.2.4.3	HER2	116
5.2.4.4	EGFR	117
5.2.4.5	C-KIT	119
5.2.4.6	Maspin	120
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>122</b>
<b>7</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>125</b>

## **Abkürzungsverzeichnis**

<b>ACC</b>	Adenoid cystic carcinoma
<b>ACCC</b>	Acinic cell carcinoma
<b>ADC</b>	Adenocarcinoma NOS
<b>ASC</b>	Adenosquamous carcinoma
<b>BCAC</b>	Basal cell adenocarcinoma
<b>CAC</b>	Cystadenocarcinoma
<b>CXPA</b>	Carcinoma ex pleomorphic adenoma
<b>DAB</b>	Diaminobenzidintetrahydrochlorid
<b>EGFR</b>	Epidermal Growth Factor Receptor
<b>HE</b>	Hämatoxylin-Eosin
<b>HER2</b>	Human Epidermal Growth Factor Receptor vom Typ 2
<b>ICD-O</b>	International Statistical Classification of Diseases for Oncology
<b>LEC</b>	Lymphoepitheial carcinoma
<b>MASPIN</b>	Mammary Serine Protease Inhibitor
<b>MEC</b>	Mucoepidermoid carcinoma
<b>MYEC</b>	Myoepithelial carcinoma
<b>OCC</b>	Oncocytic carcinoma
<b>PEC</b>	Plattenepithelkarzinom
<b>PLGAC</b>	Polymorphous low-grade adenocarcinoma
<b>UDC</b>	Undifferentiated carcinoma
<b>SABC</b>	StreptAvidin-Biotin Complex
<b>SDC</b>	Salivary duct carcinoma - Speichelgangkarzinom
<b>TMA</b>	Tissue Microarray
<b>TNM</b>	Tumor - Nodes, Lymphknotenmetastasen - Metastasen

**TSÜ** Tumorspezifisches Überleben

**UICC** International Union Against Cancer

**WHO** World Health Organization

## 1 Einleitung

### 1.1 Maligne Speicheldrüsenneoplasien

#### 1.1.1 Häufigkeit, Lokalisation, Geschlechts- und Altersverteilung

Maligne Neoplasien der Speicheldrüsen besitzen einen Anteil von etwa 0,5% an allen malignen Erkrankungen und etwa 5% an den Karzinomen im Kopf-, Halsbereich [[Speight and Barrett, 2002](#)]. 64-73% aller Speicheldrüsenkarzinome finden sich in der Gl. parotis, 8-11% in der Gl. submandibularis, 9-23% in den kleinen Speicheldrüsen und weniger als 1% in der Gl. sublingualis [[Ellis and Auclair, 2003; Neville et al., 2009](#)]. Der prozentuale Anteil maligner Tumoren an allen Speicheldrüsenneoplasien variiert je nach Lokalisation und beträgt für die Gl. parotis 15-32%, für die Gl. submandibularis 37-45%, für die kleinen Speicheldrüsen 45-80% und für die Gl. sublingualis 70-90% [[Eveson et al., 2005; Neville et al., 2009](#)]. Der Gaumen gilt mit 42-54% der Fälle als häufigste Lokalisation für Karzinome der kleinen Speicheldrüsen.

Frauen sind insgesamt häufiger von Speicheldrüsenkarzinomen betroffen als Männer, jedoch variiert die Geschlechterverteilung je nach Tumortyp [[Eveson et al., 2005](#)].

Das Durchschnittsalter liegt für maligne Neoplasien bei 47 Jahren, mit einem Gipfel der meisten Entitäten im 60. und 70. Lebensjahrzehnt. Für das Mukoepidermoidkarzinom und das Azinuszellkarzinom hingegen wird ein Altersgipfel in der vierten Lebensdekade angegeben [[Eveson et al., 2005](#)].

Das Mukoepidermoidkarzinom gilt mit etwa 20-35% als insgesamt häufigster maligner Tumor, gefolgt vom adenoid-zystischen Karzinom mit etwa 15-25% [[Spiro, 1986; Ellis and Auclair, 1996; Speight and Barrett, 2002; Lang et al., 2005b](#)].

### 1.1.2 Ätiologie

Die Ursachen maligner Speicheldrüsentumoren sind weitgehend unbekannt. Für die Tumorigenese des lymphoepithelialen Karzinoms ist eine Assoziation mit dem Epstein-Barr-Virus beschrieben [Eveson et al., 2005]. Es gibt Hinweise, dass eine Exposition gegenüber ionisierenden Strahlen die Entstehung eines Speicheldrüsentumors begünstigt. Langzeitstudien an Überlebenden der Atombombenexplosionen in Hiroshima und Nagasaki zeigten ein dosisabhängiges 11-fach erhöhtes relatives Risiko für maligne Neoplasien der Speicheldrüsen [Ellis and Auclair, 2003; Eveson et al., 2005]. Therapeutische Strahlen, besonders in der Kopf-, Halsregion, sind ebenfalls mit einem signifikant erhöhten Risiko für die Entstehung von Speicheldrüsenkarzinomen vergesellschaftet. Dies gilt auch für zahnärztliche Röntgenaufnahmen sowie für ultraviolette Strahlen [Eveson et al., 2005]. Des Weiteren erscheint eine gesteigerte Tumorinzidenz bei erhöhter Exposition gegenüber Asbest, Nickelbestandteile oder Quarzstaub möglich, gilt aber nicht als gesichert [Lang et al., 2005b].

### 1.1.3 Klinische Symptome

Maligne Neoplasien der Speicheldrüsen manifestieren sich üblicherweise in Form einer unspezifischen, knotigen, eher derben und unverschieblichen Schwellung. Schmerzen treten in 10-29% der Fälle mit Parotiskarzinomen auf [Spiro, 1986; Renahan et al., 1996; Spiro and Spiro, 2003]. Malignome der Gl. submandibularis sind in bis zu 50% der Fälle von einer Schmerzsymptomatik begleitet [Spiro and Spiro, 2003]. Prinzipiell gehen Schmerzen eher mit malignen Speicheldrüsenneoplasien einher, sind aber keineswegs beweisend. Die meisten Tumoren der Gl. parotis entstehen präaurikulär im oberflächlichen Anteil der Drüse. Während

benigne Tumoren zumeist keine Symptomatik zeigen, sind eine plötzlich auftretende periphere Parese des N. facialis, vergrößerte ipsilaterale zervikale Lymphknoten sowie eine Infiltration der oberflächlichen Haut deutliche Hinweise auf ein malignes Geschehen [Shah, 2004]. Tumoren im tiefen Anteil der Gl. parotis zeigen für gewöhnlich eine diffuse Ausbreitung im retromolaren Anteil der Drüse mit Expansion in den Parapharyngealraum sowie gelegentlich auch Schwellungen des weichen Gaumens. Differentialdiagnostisch müssen bei Tumoren im Bereich der Ohrspeicheldrüse Metastasen primärer Hauttumoren wie Plattenepithelkarzinome oder maligne Melanome in Betracht gezogen werden [Shah, 2004]. Maligne Tumoren der Gl. submandibularis imponieren als derbe Schwellung des Mundbodens im Bereich des Kieferwinkels. Schmerzen sind oftmals Ausdruck einer Gangobstruktion der Drüse. Wichtig ist die differentialdiagnostische Abgrenzung von benachbarten vergrößerten zervikalen Lymphknoten [Shah, 2004].

Malignome der kleinen Speicheldrüsen zeigen sich zumeist als submuköse Gewebsvermehrungen mit gelegentlichen Ulzerationen und können oftmals nur schwer vom oralen Plattenepithelkarzinom abgegrenzt werden. Prädilektionsstellen in der Mundhöhle sind der Gaumen, die Lippen und die Wangenschleimhaut [Neville et al., 2009].

### 1.1.4 Darstellung in der Bildgebung

Die Bildgebung bei Speicheldrüsenkarzinomen dient in erster Linie der Bestimmung der exakten Lokalisation und Größe des Primärtumors sowie der Detektion bestehender Lymphknotenmetastasen. Dabei wird Ausdehnung des Tumors beurteilt, ob es sich um eine intraglanduläre Läsion handelt oder ob Nachbarstrukturen bereits infiltriert sind [Spiro and Spiro, 2003; Shah, 2004]. Übliche bildgebende Maßnahmen sind die Sonographie, die Computertomographie (CT), die CT-Sialographie und die Magnetresonanztomographie

(MRT). Die Computertomographie eignet sich besonders zur Evaluation möglicher Knocheninfiltrationen, während die Magnetresonanztomographie besser Weichgewebsinfiltrationen oder die Ausbreitung entlang kranialer Nerven zeigt [[Spiro and Spiro, 2003](#)]. Beide Verfahren dienen zudem der Entscheidungsfindung zur Durchführung einer chirurgischen Entfernung metastasenspekter Halslymphknoten (Neck dissection), vor allem bei Patienten mit klinisch, palpatorisch unauffälligem Lymphknotenstatus (sog. elektive Neck dissection) [[Stern et al., 1990; Vandecaveye et al., 2009](#)].

### 1.1.5 Histologische Klassifikation

Die Klassifikation nach aktueller WHO (Tab. 1) beinhaltet mehr als 20 verschiedene maligne epitheliale Tumortypen [[Barnes et al., 2005](#)]. Eine präzise Terminologie und Einteilung in prognostische Gruppen ist jedoch für ein adäquates Therapiemanagement essentiell [[Speight and Barrett, 2002](#)].

**Tab. 1** Histologische Klassifikation von Speicheldrüsenkarzinomen nach WHO - 2005

Maligne epitheliale Tumoren	ICD-O
Azinuszellkarzinom	8550/3
Mukoepidermoidkarzinom	8430/3
Adenoid-zystisches Karzinom	8200/3
Polymorphes low-grade Adenokarzinom	8525/3
Epitheliales-myoepitheliales Karzinom	8562/3
Klarzelliges Karzinom NOS (not otherwise specified)	8310/3
Basalzelladenokarzinom	8147/3
Talgdrüsenkarzinom	8410/3
Sebaziöses Lymphadenokarzinom	8410/3
Zystadenokarzinom	8440/3
Low-grade kribriiformes Zystadenokarzinom	
Muzinöses Adenokarzinom	8480/3
Onkozytäres Karzinom	8290/3
Duktales Adenokarzinom - Synonym: Speichelgangkarzinom	8500/3
Adenokarzinom NOS (not otherwise specified)	8140/3
Myoepitheliales Karzinom	8982/3

Karzinom aus pleomorphem Adenom	8941/3
Karzinosarkom	8980/3
Metastasierendes pleomorphes Adenom	8940/1
Plattenepithelkarzinom	8070/3
Kleinzelliges Karzinom	8041/3
Großzelliges Karzinom	8012/3
Lymphoepitheliales Karzinom	8082/3
Sialoblastom	8974/1
ICD-O: International Classification of Diseases for Oncology Code /3: maligne Tumoren; code /1: Borderline-Tumoren	

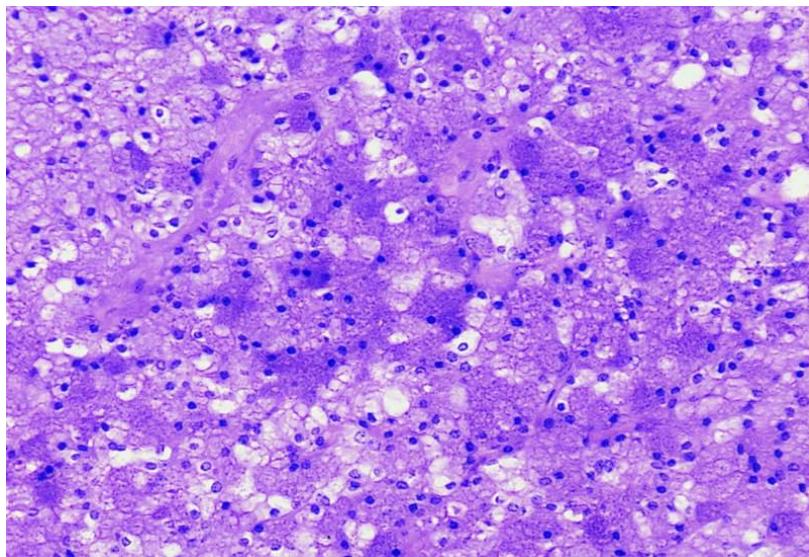
Im Folgenden sollen das Azinuszellkarzinom, das Mukoepidermoidkarzinom, das adenoidzystische Karzinom, das Speichelgangkarzinom sowie das Karzinom aus pleomorphem Adenom als Tumoren mit größter Häufigkeit und besonderer klinischer Relevanz detaillierter dargestellt werden.

### 1.1.5.1 Azinuszellkarzinom (ICD-O code: 8550/3)

Ca. 10% aller malignen Speicheldrüsentumoren sind Azinuszellkarzinome [[Spiro, 1986; Ellis and Auclair, 1996](#)]. Betroffen sind alle Altersgruppen mit einem vermehrten Auftreten im 4.-5. Lebensjahrzehnt, Frauen etwas häufiger als Männer. In etwa 80% der Fälle tritt das Azinuszellkarzinom in der Gl. parotis auf, zu etwa 17% findet es sich in den kleinen Speicheldrüsen, zu etwa 4% in der Gl. submandibularis und weniger als 1% findet man in der Gl. sublingualis [[Ellis and Auclair, 1996; Ellis and Simpson, 2005](#)].

Klinisch manifestiert sich das Azinuszellkarzinom typischerweise als langsam wachsender Tumor von solider, weicher oder zystischer Konsistenz. Ein Drittel der Patienten klagt über unspezifische intermittierende Schmerzen, etwa 5-10% entwickeln eine periphere Fazialisparese [[Ellis and Simpson, 2005](#)]. Üblicherweise metastasiert das Azinuszellkarzinom primär in zervikale Lymphknoten. Fernmetastasen, zumeist in der Lunge, können auftreten sind aber selten [[Ellis and Corio, 1983](#)].

Histomorphologisch zeigt der Tumor seröse Azinuszellen (Abb. 1), kann aber auch duktale, vakuoläre, klare und glanduläre Zellen mit soliden, mikrozystischen, papillär-zystischen oder follikulären Wachstumsmustern aufweisen [Ellis and Simpson, 2005]. Nekrosen, Blutungen und (Pseudo)zysten sind häufig [Lang et al., 2005b].



**Abb. 1** Azinuszellkarzinom der Gl. parotis: Klassische Variante mit Tumorzellen, welche an seröse Speicheldrüsen erinnern [Huvos and Paulino, 2004].

Prognostisch wird für das Azinuszellkarzinom eine Rezidivrate von 35%, eine Metastasierungs- und Sterberate von 16% angegeben [Ellis and Corio, 1983; Lewis et al., 1991]. Intraorale Tumoren haben eine bessere Prognose als Tumoren der großen Speicheldrüsen [Zbaeren et al., 1991]. Die 5-Jahre-Überlebensrate ist kein zuverlässiger Indikator, da Metastasen und Letalität oftmals erst Jahre nach der initialen Therapie auftreten [Lewis et al., 1991]. Das Grading der Azinuszellkarzinome scheint keine Aussage über die Prognose zuzulassen, von größerer Bedeutung ist das Staging des Tumors. Die Bestimmung des Zellproliferationsindex mit Hilfe der Immunhistologie für Ki-67 hat sich als vielversprechender Prognoseindikator gezeigt [Skalova et al., 1994b; Hellquist et al., 1997].

### 1.1.5.2 Mukoepidermoidkarzinom (ICDO-code: 8439/3)

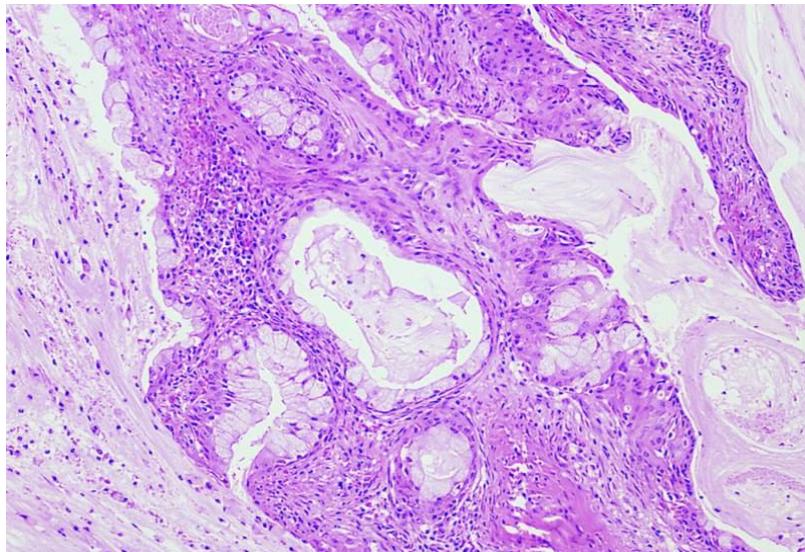
Das Mukoepidermoidkarzinom gilt mit etwa 20-35% als häufigster maligner Speicheldrüsentumor sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern [[Spiro, 1986; Ellis and Auclair, 1996; Neville et al., 2009](#)] und zeigt eine gleichmäßige Altersverteilung mit einem durchschnittlichen Erkrankungsalter von 47 Jahren [[Ellis and Auclair, 2003](#)]. Frauen sind etwas häufiger betroffen als Männer. Etwa die Hälfte der Tumoren tritt in den großen Speicheldrüsen auf, davon 45% in der Gl. parotis, 7% in der Gl. submandibularis und 1% in der Gl. sublingualis. Die häufigste Lokalisation bei Befall der kleinen Speicheldrüsen sind der Gaumen und die bukkale Schleimhaut [[Goode and El-Naggar, 2005](#)].

Klinisch imponieren die meisten Tumoren der Gl. parotis und der Gl. submandibularis als derbe, unverschiebbliche und schmerzlose Schwellungen. Intraorale Neoplasien schimmern bisweilen ähnlich einer Mukozele oder vaskulären Läsionen blau-rötlich durch die bedeckende Schleimhaut. Sie können glatte oder papilläre Oberflächen aufweisen, gelegentlich sammeln sie Flüssigkeiten und müssen dann von einem entzündlichen Prozess abgegrenzt werden. Sie wachsen infiltrativ und können angrenzenden kortikalen Knochen arrodieren [[Ellis and Auclair, 2003; Goode and El-Naggar, 2005](#)].

Histopathologisch ist das Mukoepidermoidkarzinom durch eine biphasische Differenzierung aus schleimproduzierenden Zellen und soliden Zellverbänden mit Plattenepithel- und Intermediärzellen charakterisiert. Zu finden sind fokale Sklerosierungen und mukoide Extravasationen mit Entzündungen. Ungewöhnlich sind hingegen Nerveninvasionen, Nekrosen, vermehrte Mitosen und zelluläre Anaplasien [[Seifert, 1997; Goode and El-Naggar, 2005](#)].

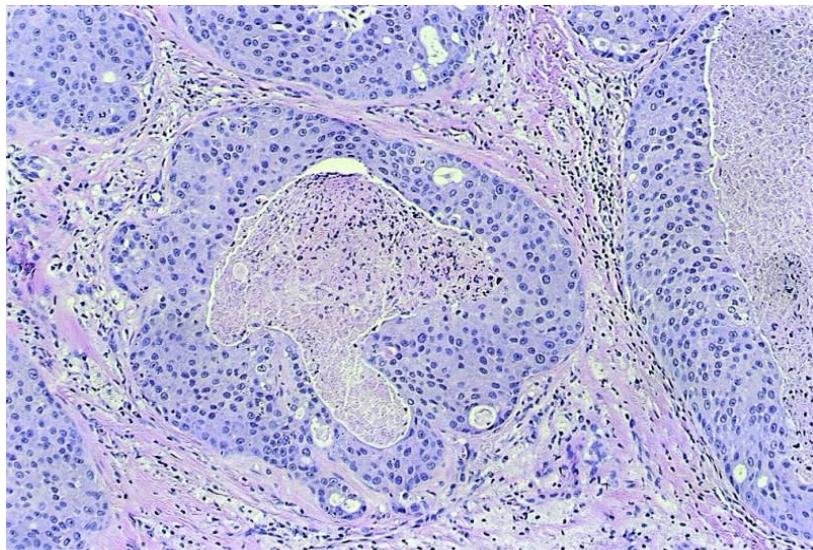
AUCLAIR et al. etablierten 1992 ein reproduzierbares dreistufiges Gradiingsystem basierend auf morphologischen und zytologischen Kriterien [[Auclair et al., 1992](#)]. Bei den Parametern handelt es sich um die Größe des zystischen Anteils, eine gegebene perineurale Ausbreitung,

vorhandene Nekrosen, Anzahl an Mitosen und Anaplasien. So besitzt das niedrigmaligne Mukoepidermoidkarzinom (55%) große zystische Hohlräume, es finden sich wenige Mitosen, keine neurale Invasion und auch keine Nekrosen und zelluläre Anaplasien (Abb. 2).



**Abb. 2** Niedrigmalignes Mukoepidermoidkarzinom der Gl. parotis. Die drüsig erweiterten Hohlräume sind von muzinösen, einschichtigen, zylindrischen Epithelzellen umgeben [[Huivos and Paulino, 2004](#)].

Tumoren von mittlerem Malignitätsgrad (25%) zeigen mehr solide Anteile und besitzen zelluläre Anaplasien, gelegentlich auch neurale Invasionen. Hochmaligne Tumoren (20%) sind durch ein solides Wachstumsmuster, Anaplasien, eine hohen Mitoserate sowie Nekrosen und Nervinvansionen gekennzeichnet (Abb. 3) [[Ellis and Auclair, 2003](#)].



**Abb. 3** Hochmalignes Mukoepidermoidkarzinom mit Nekrosen [[Huvos and Paulino, 2004](#)].

Die wichtigsten und dabei voneinander unabhängigen Prognosefaktoren sind das Tumorstadium und das Grading, wobei das Stadium einen größeren Einfluss auf den klinischen Verlauf zu haben scheint als das Grading [[Loning and Jakel, 2004](#)]. Des Weiteren korreliert die erhöhte proliferative Aktivität der Tumorzellen (Ki-67-Index von >10%) mit hohem Malignitätsgrad, vergrößerter Rezidivrate, vermehrter Metastasierung und schlechterem Gesamtüberleben [[Skalova et al., 1994a](#); [Rapidis et al., 2007](#)]. Hochmaligne Mukoepidermoidkarzinome führen in 25% der Fälle zu Lokalrezidiven, 35% der betroffenen Patienten entwickeln lokoregionäre Lymphknotenmetastasen, 30% weisen Fernmetastasen auf [[Loning and Jakel, 2004](#)].

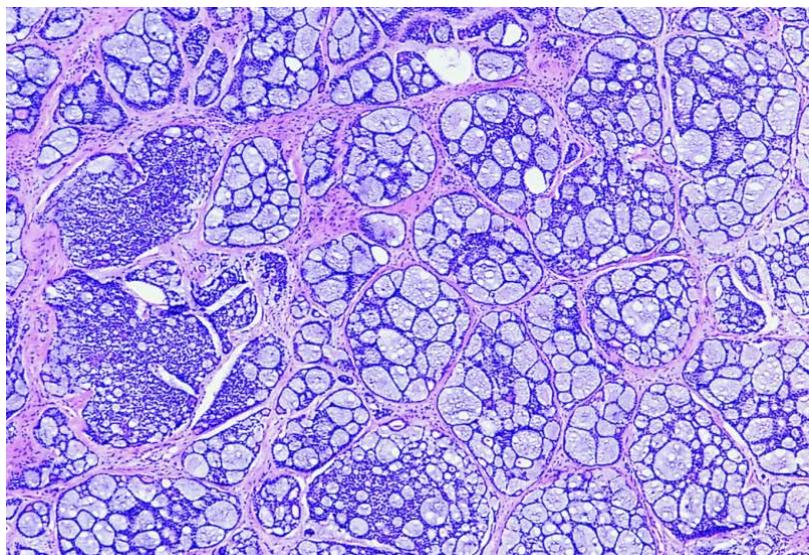
#### **1.1.5.3 Adenoid-zystisches Karzinom (ICD-O code: 8200/3)**

Das adenoid-zystische Karzinom besitzt einen Anteil von ca. 10-25% an allen malignen Speicheldrüsentumoren und betrifft etwa gleich häufig die großen und kleinen Speicheldrüsen. Mit etwa 30% gilt es als die häufigste maligne epitheliale Neoplasie der kleinen Speicheldrüsen mit bevorzugter Lokalisation am Gaumen, der Zunge und der bukkalen Schleimhaut [[Loning and Jakel, 2004](#); [El-Naggar and Huvos, 2005](#)]. Frauen sind

etwas häufiger betroffen als Männer. Die Tumoren treten in allen Altersstufen auf, der Altersgipfel liegt jedoch über 50 Jahren.

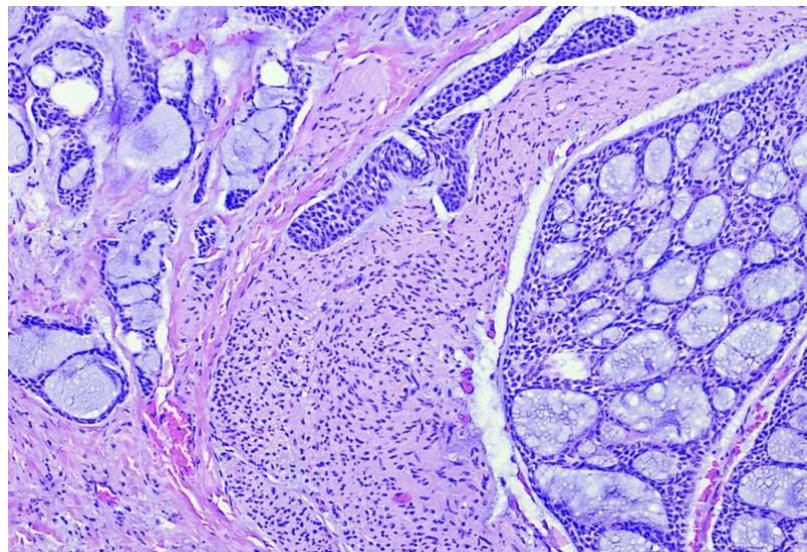
Klinisch imponieren adenoid-zystische Karzinome durch ein langsames Wachstum, häufig begleitet von ziehenden, brennenden Schmerzen aufgrund der Fähigkeit des Tumors zu perineuralem Wachstum (ca.80%). Eine Fazialisparese kann in manchen Fällen das erste klinische Symptom darstellen [[Lang et al., 2005b](#)].

Histopathologisch besteht der Tumor hauptsächlich aus duktalen und myoepithelialen Zellen mit hyperchromatischen Zellkernen und klarem Zytoplasma. Es werden 3 Wachstumsmuster und entsprechend 3 Subtypen unterschieden: Tubulär (20-30%), kribiform (45%) und solide (20%). Grundsätzlich können in allen drei Typen Mischformen auftreten. Beim tubulären Typ findet man gut differenzierte Drüsenschläuche, begrenzt von einreihigen Epithelien und auflagernden Myoepithelialzellen. Der klassische Typ des adenoid-zystischen Karzinoms ist der kribiforme Typ mit seinem typischen „Schweizerkäsemuster“ (Abb. 4).



**Abb. 4** Adenoid-zystisches Karzinom mit klassischen zylindromatösen Wachstumsmustern [[Huivos and Paulino, 2004](#)].

Der solide Subtyp besteht aus in Läppchen auftretenden uniformen basaloiden Zellgruppen ohne Drüsenschläuche oder Mikrozysten [Seifert, 1997]. Perineurales und seltener intraneurales Wachstum finden sich hier gehäuft (Abb. 5).



**Abb. 5** Adenoid-zystisches Karzinom mit perineuraler Invasion [Huvos and Paulino, 2004].

Als wichtige Prognosefaktoren gelten der histologische Subtyp des Tumors und das Stadium. Demnach sollen tubuläre und kribiforme Wachstumsmuster einen weniger aggressiven Verlauf nehmen als die soliden [Szanto et al., 1984]. Angaben zur Lokalrezidivrate schwanken je nach histologischem Subtyp zwischen 16-85%. Lymphknotenmetastasen werden in 5-25% der Fälle berichtet, häufiger (25-50%) finden sich dagegen Fernmetastasen (v.a. Lunge, Knochen, Hirn) [El-Naggar and Huvos, 2005]. Aufgrund der langsamen Tumorprogression treten Rezidive oftmals erst nach mehr als 5 Jahren auf [Lang et al., 2005b].

**1.1.5.4 Speichelgangkarzinom ICD-O-code: 8500/3 - Synonym: Duktales**

**Adenokarzinom**

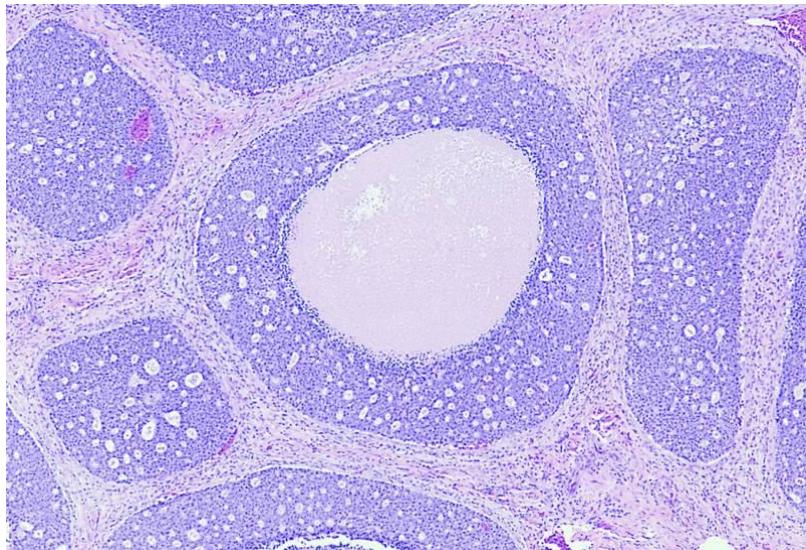
Hierbei handelt es sich um ein aggressives Adenokarzinom, das dem duktalen „high-grade“ Adenokarzinom der Brustdrüse ähnelt.

Es besitzt als primäres oder als ein aus einem pleomorphen Adenom hervorgeganges Malignom einen Anteil von ca. 9% an allen malignen Neoplasien der Speicheldrüsen. Das Geschlechterverhältnis Mann/Frau liegt bei 4:1. Die betroffenen Patienten sind zumeist über 50 Jahre alt. Am häufigsten betroffen ist die Gl. parotis, prinzipiell kann der Tumor aber in allen Speicheldrüsen auftreten [[Lewis et al., 1996; Brandwein-Gensler et al., 2005](#)].

Klinisch imponiert das duktale Adenokarzinom durch ein rasches Wachstum mit oftmaligen Schmerzen und einer Fazialisparese.

Perineurales Wachstum (60%) und intravaskuläre Absiedelungen (31%) sind häufig. Die meisten Patienten befinden sich zum Zeitpunkt der Erstdiagnose bereits im Stadium III oder IV, mit positiven Lymphknoten in 60% der Fälle [[Barnes et al., 1994; Brandwein-Gensler et al., 2005](#)].

Histopathologisch ähnelt das duktale Adenokarzinom sowohl architektonisch wie auch zytologisch dem duktalen Adenokarzinom der Brustdrüse. Die duktalen Neoplasien beinhalten pleomorphe epitheloide Tumorzellen mit kribiformem und papillärem Wachstumsmuster, sog. „römischen Brücken“, und intraduktalen Komedonekrosen (Abb. 6).



**Abb. 6** Speichelgangkarzinom mit kribriformen Wachstumsmuster und zentraler Komedonekrose [Huvos and Paulino, 2004].

Häufig findet man eine hohe Kernpleomorphie, desmoplastische Sklerosierungen und eine hohe proliferative Aktivität mit Ki-67-Indizes zwischen 25-80% [Brandwein-Gensler et al., 2005]. Speichelgangkarzinome zeigen in vielen Fällen ein positives Färbemuster des HER2 (ErbB-2) - Proteins in der Immunhistochemie und eine Genamplifikation in der FISH (Fluoreszenz In Situ Hybridisierung) - Analyse [Skalova et al., 2001; Skalova et al., 2003].

Die Prognose des duktalen Adenokarzinoms ist schlecht. Die Letalität wird mit über 70%, meistens innerhalb der ersten 3 Jahre, angegeben [Di Palma et al., 2006]. 33% der Patienten entwickeln ein Lokalrezidiv, 46% Fernmetastasen [Barnes et al., 1994]. Tumorgröße, Fernmetastasen und HER2-Überexpression scheinen von prognostischem Wert zu sein, während die Expression des P53 - Proteins, die DNA-Aneuploidie sowie die Proliferationsrate nicht mit dem Überleben assoziiert scheinen [Skalova et al., 2003].

#### **1.1.5.5 Karzinom aus pleomorphem Adenom ICD-O-code: 8941/3**

Das Karzinom aus pleomorphem Adenom (Abb. 7) ist definiert als ein pleomorphes Adenom, aus dem ein epithelialer maligner Tumor entsteht [Gnepp et al., 2005].



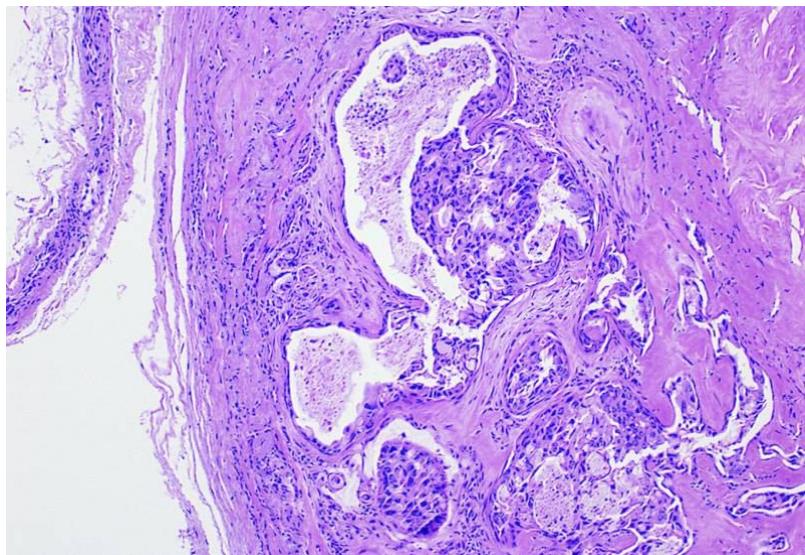
**Abb. 7** Scheinbar gut abgrenzbares Karzinom aus pleomorphen Adenom. Zu erkennen ist jedoch bereits eine sandige und solide Schnittfläche [[Huvos and Paulino, 2004](#)].

Diese Malignome haben etwa einen Anteil von 12% an allen malignen Speicheldrüsenneoplasien. Der Altersgipfel liegt in der 6. und 7. Lebensdekade, etwa 13 Jahre später als der Altersgipfel des pleomorphen Adenoms [[Gnepp et al., 2005](#)]. Ursprungsort ist sehr häufig die Gl. parotis, der Tumor kann aber auch in der Gl. submandibularis sowie den kleinen Speicheldrüsen auftreten.

Anamnestisch handelt es sich oftmals um eine seit vielen Jahren bestehende Raumforderung mit einer raschen Größenprogredienz in den letzten Monaten [[Gnepp et al., 2005](#)]. Zumeist findet man eine schmerzlose Schwellung, jedoch können ziehende Schmerzempfindungen und eine Fazialisparese auftreten.

Histopathologisch handelt es sich bei der malignen Komponente des Tumors zumeist um ein schlecht differenziertes duktales Adenokarzinom oder ein Adenokarzinom NOS. Grundsätzlich kann jedoch das ganze Spektrum an Karzinomformen gefunden werden [[Lewis et al., 2001](#)]. Meist besteht eine hohe Kernpolymorphie mit hoher proliferativer Aktivität, entsprechend eines hohen Malignitätsgrades. Häufig finden sich Nekrosen und Mitosen.

Eine prognostisch wichtige Unterscheidung ist die Einteilung in eine *nicht invasive* (maligne Komponente auf Areal des vorbestehenden Adenoms begrenzt) (Abb. 8), eine *minimal invasive* (maligne Komponente infiltriert  $\leq 1,5\text{mm}$  in extrakapsuläres Gewebe) und ein *invasive* (maligne Komponente infiltriert  $>1,5\text{mm}$  in extrakapsuläres Gewebe) Form [[Gnepp et al., 2005](#)].



**Abb. 8** Nicht invasive Variante eines Karzinoms im pleomorphen Adenom [[Huivos and Paulino, 2004](#)].

Die ersten beiden Formen haben für gewöhnlich eine sehr gute Prognose, die letzte Form eine deutlich schlechtere.

Patienten mit invasiven Formen entwickeln in 23-50% der Fälle ein Rezidiv. Überlebensraten in dieser Gruppe bezogen auf 5, 10, 15 und 20 Jahre reichen jeweils von 25-65%, 24-50%, 10-35% und 0-38% [[Lewis et al., 2001](#); [Gnepp et al., 2005](#)].

Neben Tumorgröße und Differenzierungsgrad besitzt vor allem auch der Malignitätsgrad des histologischen Subtyps Einfluss auf die Prognose. Angegebene 5-Jahresüberlebensraten reichen von 30% für den Subtyp eines undifferenzierten Karzinoms bis zu 96% für den Subtyp eines niedriggradigen terminalen Adenokarzinoms [[Tortoledo et al., 1984](#)].

## 1.1.6 Staging

### 1.1.6.1 TNM-Klassifikation

Das Ausmaß der Therapie und damit verbunden die Radikalität des chirurgischen Vorgehens richtet sich neben der Entität und der Lokalisation des Tumors entscheidend nach dem jeweiligen Stadium der Tumorerkrankung. Aus diesem Grund ist eine präzise Klassifikation der Eigenschaften und der Ausbreitung des Tumors mit Hilfe klinischer und pathohistologischer Prognosefaktoren notwendig. Hierzu dient das sogenannte „Staging“. Grundlage des „Stagings“ ist die TNM-Klassifikation maligner Tumoren der UICC (International Union Against Cancer, 6. Auflage) [[Sobin and Wittekind, 2002](#)].

Es beruht auf der Beschreibung der Größe und Ausdehnung einer Tumorerkrankung in drei Hauptkategorien:

T – Ausbreitung des Primärtumors

N – Fehlen oder Vorhandensein und Ausbreitung von regionären Lymphknotenmetastasen

M – Fehlen oder Vorhandensein von Fernmetastasen

Bei der klinischen TNM-Klassifikation (prätherapeutisch) wird den TNM-Kategorien ein kleines „c“ vorangestellt, bei der pathologischen TNM-Klassifikation (postoperativ, histopathologisch) wird ein kleines „p“ vorangestellt.

Nach der Festlegung von T-, N- und M- und /oder pT-, pN- und pM-Kategorien können diese zu Stadien gruppiert werden (Tab. 3). TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung müssen nach Festlegung in den folgenden medizinischen Unterlagen unverändert bleiben. Das klinische Stadium dient der Wahl und Beurteilung von Therapieverfahren. Das pathologische Stadium dient der Abschätzung der Prognose, der Berechnung der Behandlungsergebnisse und der Beurteilung ob eine adjuvante Radio- und/oder Chemotherapie nach definitiver Chirurgie notwendig ist.

Karzinome der großen Speicheldrüsen werden gemäß der ICD-O C07, C08 klassifiziert (Tab. 2). Die T-Klassifikation der Karzinome der kleinen Speicheldrüsen richtet sich nach dem Ursprungsort und erfolgt analog der Klassifikation für Karzinome der Lippen und der Mundhöhle (ICD-O C00, C02-C06).

**Tab. 2 TNM-Klassifikation nach der UICC von 2002**

<b>T-Kategorien der kleinen Speicheldrüsen (ICD-O C00, C02-C06)</b>	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt auf Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	≤ 2cm
T2	2-4 cm
T3	> 4cm
T4a	<i>Lippe:</i> Tumor infiltriert durch kortikalen Knochen, den N. alveolaris inferior, in Mundhöhlenboden oder in Haut (Kinn oder Nase)
T4a	<i>Mundhöhle:</i> Tumor infiltriert durch kortikalen Knochen in äußere Muskulatur der Zunge (M genioglossus, M hyoglossus, M palatoglossus, M styloglossus), Kieferhöhle oder Gesichtshaut
T4b	<i>Lippe und Mundhöhle:</i> Tumor infiltriert Spatium masticatorium, Processus pterygoideus oder Schädelbasis oder umschließt die A. carotis interna

<b>T-Kategorien der großen Speicheldrüsen (ICD-O C07, C08)</b>	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	≤ 2cm
T2	2-4cm
T3	> 4cm und/oder mit extraparenchymatöser Ausbreitung
T4a	Tumor infiltriert Haut, Unterkiefer, äußeren Gehörgang, N. facialis
T4b	Tumor infiltriert Schädelbasis, Processus pterygoideus oder umschließt A. carotis interna

<b>N-Kategorien der großen Speicheldrüsen</b>	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastase(n) in solitärer ipsilateralem Lymphknoten ≤ 3cm
N2	Metastase(n) in solitärer ipsilateralem Lymphknoten 3-6cm, oder in multiplen ipsilateralen Lymphknoten ≤ 6cm oder in bilateralen oder kontralateralen Lymphknoten ≤ 6cm
N2a	Ipsilateral solitär 3-6cm
N2b	Ipsilateral multipel ≤ 6cm
N2c	Bilateral, kontralateral ≤ 6cm
N3	> 6cm

<b>M-Kategorien der großen Speicheldrüsen</b>	
MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen vorhanden
M1	Fernmetastasen

**Tab. 3 Stadieneinteilung**

Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2	N0	M0
Stadium III	T3 T1, T2, T3	N0 N1	M0 M0
Stadium IVA	T1, T2, T3 T4a	N2 N0, N1, N2	M0 M0
Stadium IVB	T4b Jedes T	Jedes N N3	M0 M0
Stadium IVC	Jedes T	Jedes N	M1

Neben den TNM-Kategorien und der Stadieneinteilung sind das sogenannte histopathologische „Grading“ und die Residualtumor-(R-)Klassifikation für die Prognose von entscheidender Bedeutung.

### 1.1.6.2 Histopathologisches Grading

Die Graduierung eines Tumors beinhaltet die Einstufung des Malignitätsgrades aufgrund histologischer und zytologischer Kriterien. Die wichtigsten Kriterien sind im allgemeinen [Böcker et al., 2004]:

- Kernatypien (Hyperchromasie, Kernpolymorphie, Anisonukleose, etc.)
- Mitosezahl pro 10 definierte Gesichtsfelder (40×Objektiv)
- Differenzierungsgrad (Ähnlichkeit zum Ursprungsgewebe)

GX Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt werden

G1 Gut differenziert

G2 Mäßig differenziert

G3 Schlecht differenziert

G4 Undifferenziert

Grad 3 und 4 können in manchen Fällen zu G3 zusammengefasst werden und besitzen die schlechteste Prognose.

Das Grading von malignen Speicheldrüsentumoren ist differenziert vorzunehmen und auf einzelne Entitäten beschränkt. Die Einteilung des Mukoepidermoidkarzinoms (Grad 1-3) basiert wie unter 1.1.5.2 beschrieben auf der An- oder Abwesenheit charakteristischer Wachstumsmuster und zytomorphologischer Merkmale [[Goode and El-Naggar, 2005](#)]. Ebenfalls nach zytomorphologischen Kennzeichen kann das Adenokarzinom NOS (Grad 1-3) unterteilt werden [[Auclair and Van der Wal, 2005](#)]. Karzinome aus pleomorphen Adenomen (siehe auch 1.1.5.5) werden bisweilen in nicht invasiv (Grad 1), minimal invasiv ( $\leq 1,5\text{mm}$  Penetration der malignen Komponente in extrakapsuläres Gewebe = Grad 2) und invasiv ( $\geq 1,5\text{mm}$  Penetration der malignen Komponente in extrakapsuläres Gewebe = Grad 3) subklassifiziert. Eine andere Klassifikationsmöglichkeit richtet sich nach dem Malignitätsgrad (G1-G3) der malignen Karzinomkomponente [[Gnepp et al., 2005](#)]. Da es sich bei dieser am häufigsten um das histologische Bild eines Speichelgangkarzinoms, eines Adenokarzinoms NOS oder eines undifferenzierten Karzinoms handelt [[Lewis et al., 2001; Loning and Jakel, 2004](#)], wird das Karzinom aus pleomorphem Adenom in einigen Studien auch generell als high-grade-Tumor klassifiziert [[Renehan et al., 1996; Zbaren et al., 2003; Lima et al., 2005](#)]. Für das adenoid-zystische Karzinom ist eine Einteilung nach seiner Architektur in eine tubuläre (=Grad 1), eine kribritorme (=Grad 2) und eine solide (=Grad 3) Form beschrieben (siehe 2.6.3) [[Szanto et al., 1984; El-Naggar and Huvos, 2005](#)]. Manche Autoren klassifizieren sämtliche adenoid-zystischen Karzinome aufgrund ihres perineuralem Wachstums sowie ihrer Tendenz zu Fernmetastasierungen und Spätrezidiven als high-grade-Malignome [[Zbaren et al., 2003; Lima et al., 2005](#)], andere wiederum als intermediate-grade-Malignome [[Renehan et al., 1999; Wahlberg et al., 2002; Godballe et al., 2003](#)].

Das Grading der übrigen Speicheldrüsenkarzinome richtet sich nach dem Malignitätsgrad der jeweiligen Entität. So gelten etwa das Azinuszellkarzinom und das polymorphe low-grade

Adenokarzinom als niedrigmaligne Tumoren, während das Speichelgangkarzinom, das Plattenepithelkarzinom oder das lymphoepitheliale Karzinom als hochmaligne Neoplasien geführt werden [*Barnes et al., 2005; Leivo, 2006*].

### 1.1.6.3 Residualtumor-(R-)Klassifikation

Das Fehlen oder Vorhandensein von Residualtumor nach Therapie wird durch die R-Klassifikation beschrieben. Sie spiegelt die Effekte der Behandlung wider, beeinflusst das weitere therapeutische Vorgehen und liefert die zuverlässigsten Aussagen zur Prognose [*Sobin and Wittekind, 2002*].

RX    Vorhandensein von Residualtumor kann nicht beurteilt werden

R0    Kein Residualtumor

R1    Mikroskopischer Residualtumor

R2    Makroskopischer Residualtumor

### 1.1.7 Therapie

Die Therapie von Speicheldrüsenkarzinomen ist abhängig von der Lokalisation des Tumors, der Entität, des Differenzierungsgrades, einer möglichen Parese des N. facialis und von der lokalen Tumorausdehnung. Die Primärtherapie erfolgt in fast allen Fällen in Form einer chirurgischen Exzision des Tumors, an die sich oftmals die Entfernung der regionalen Lymphknoten (“Neck dissection”) anschließt. In vielen Fällen wird die chirurgische Primärtherapie durch eine adjuvante Strahlentherapie begleitet [*Bell et al., 2005*].

Die chirurgische Exzision maligner Neoplasien erfordert bisweilen großzügige Resektionsgrenzen mit Sicherheitsabstand und beinhaltet oftmals die Resektion von angrenzendem Gewebe wie etwa Gesichtshaut, Weich-, Muskel- und Nervengewebe sowie von mandibulärem, temporalem oder maxillärem Knochen.

### 1.1.7.1 Chirurgie des Primärtumors

Grundsätzlich gibt es für die chirurgische Therapie von Speichelrüsenskarzinomen folgende Operationstechniken:

#### Lokale Tumorexzision (Extrakapsuläre Dissektion)

*Ohne Sicherheitsabstand:* Die lokale Tumorexzision ohne Sicherheitsabstand ist ausnahmslos bestimmten benignen Tumoren vorbehalten.

*Mit Sicherheitsabstand:* Diese Form der Therapie betrifft in erster Linie die Malignome der kleinen Speichelrüsens der Mundhöhle. Analog den Mundhöhlenkarzinomen erfolgt die Resektion des Tumors mit einem dreidimensionalen Sicherheitsabstand von 1-2 cm im Gesunden. Die Radikalität der Operation wird bestimmt durch das mitresezierte umliegende Gewebe. Sämtliche Gewebe im Bereich der Sicherheitszone werden entfernt, egal ob es sich um Weichgewebe (Haut, Muskelgewebe) oder Knochen (z.B. Ober-, Unterkieferanteile) handelt [[Kirschner et al., 1995](#); [Schwenzer and Ehrenfeld, 2002](#)]. In seltenen Fällen werden auch kleinere maligne (T1-T2) Tumoren der Gl. parotis mit niedrigem Malignitätsgrad durch eine lokale Tumorexzision entfernt (Teilparotidektomie, subtotale Parotidektomie).

#### Laterale Parotidektomie

Die Gl. parotis wird durch den N. facialis und seine in einer Ebene aufzweigenden Äste in einen kleineren medialen und einen größeren lateralen Teil aufgeteilt. Wird der gesamte Teil

der Ohrspeicheldrüse lateral der „Nervenebene“ reseziert, spricht man von einer lateralen Parotidektomie [[Schwenzer and Ehrenfeld, 2002](#)]. Der N. facialis bleibt hierbei unberührt. Diese Therapieform kommt bei benignen Tumoren der Gl. parotis (v.a pleomorphes Adenom) oder bei kleineren malignen (T1-T2) Tumoren des lateralen Ohrspeicheldrüsenlappens mit niedrigem Malignitätsgrad und ohne Bezug zum N. facialis zum Einsatz [[Harish, 2004](#)].

### Total konservative Parotidektomie

Karzinome, die aufgrund ihrer Größe (T3-T4) oder ihres hohen Malignitätsgrades nicht mehr durch eine laterale Parotidektomie entfernt werden können, werden im Falle einer klinischen und intraoperativen Unversehrtheit des N. facialis in Form einer konservativen Parotidektomie operiert. Hierunter versteht man die Exzision der kompletten Ohrspeicheldrüse, d.h. der oberflächlichen und der tiefen Anteile unter Schonung des N. facialis. Durch die Freipräparation des Nervens können temporäre Nervenausfälle auftreten.

### Total radikale Parotidektomie

In Fällen sehr ausgedehnter Karzinome der Ohrspeicheldrüse kann neben der Entfernung der Drüse eine Ausweitung der Operation auf angrenzende Strukturen wie den Unterkiefer, den Jochbogen, das Schläfenbein oder das Mastoid notwendig werden. Dies wird als radikale Parotidektomie bezeichnet [[Spiro and Spiro, 2003](#)]. Wird allein die Gl. parotis zusammen mit dem N. facialis oder zumindest einzelnen Ästen davon reseziert, spricht man ebenfalls von einer totalen radikalen Parotidektomie. Gelegentlich wird die Fazialis-Teilresektion auch als semi-konservative Parotidektomie bezeichnet [[Harish, 2004](#)]. Die totale radikale Parotidektomie ist indiziert, wenn der N. facialis prä- oder intraoperativ tumorinfiltriert erscheint. Entfernte Nervenanteile sollten unmittelbar durch ein Nerventransplantat ersetzt werden. Infrage kommen hierfür der N. auricularis magnus und der N. suralis [[Kirschner et al., 1995](#)]. Während noch bis vor einigen Jahren von manchen Autoren bei high-grade-

Karzinomen oder fortgeschrittenen Tumorstadien grundsätzlich eine radikale Parotidektomie mit Fazialisresektion empfohlen wurde, vollzog sich zuletzt ein Wandel hin zum Erhalt des Nervens, sofern er nicht prä- oder intraoperativ vom Tumor infiltriert erscheint [Harish, 2004; Bell et al., 2005; Lang et al., 2005a].

### Submandibulektomie

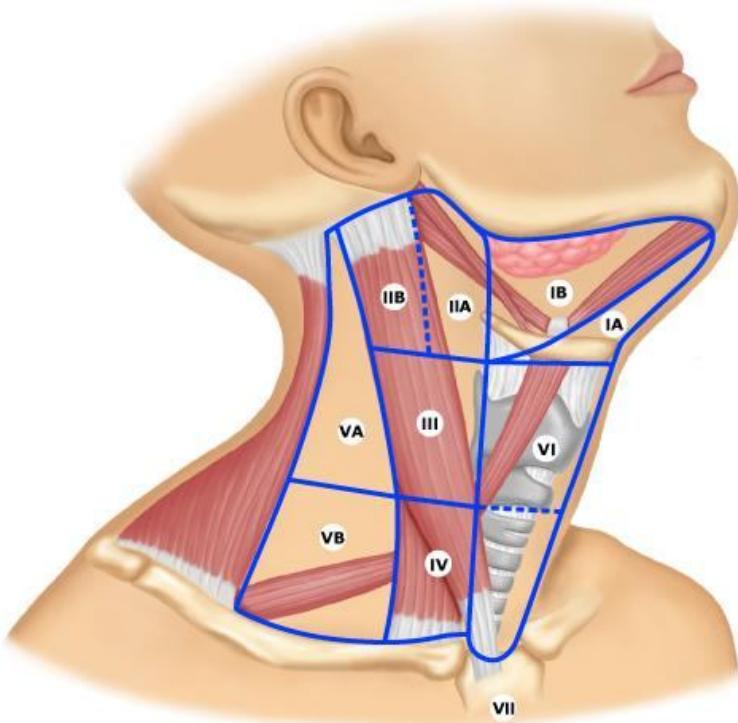
Bei der Submandibulektomie wird der Tumor mitsamt der Drüse entfernt. Die Radikalität des Eingriffs ergibt sich aus dem Stadium und dem Malignitätsgrad des Karzinoms. Grundsätzlich empfiehlt sich die zusätzliche Ausräumung der Region I des Lymphabflussgebietes. Größere Tumoren sowie Tumoren mit höherem Malignitätsgrad verlangen ein aggressiveres Therapiemanagement. Je nach Invasion in umgebendes Gewebe können Resektionen angrenzender Muskeln, Nerven (N. lingualis, N. hypoglossus, R. marginalis mandibulae n. facialis) wie auch Unterkieferteilresektionen notwendig werden. Außerdem sollte in diesen Fällen eine supraomohyoidale (Level I-III) „Neck dissection“ durchgeführt werden [Spiro and Spiro, 2003].

#### **1.1.7.2 Chirurgie der Lymphknoten („Neck dissection“)**

Metastasen der Halslymphknoten treten häufig bei Karzinomen im Kopf-, Halsbereich auf. Die meisten der betroffenen Patienten versterben an den damit verbundenen Komplikationen des Halses. Der Ausdruck „Neck dissection“ bezieht sich hierbei auf die chirurgische Entfernung des fibrösen Fettgewebes mitsamt den enthaltenen Lymphknoten [Samant and Robbins, 2003].

Die heute international akzeptierte Terminologie und Klassifizierung der Halslymphknoten und der Neck dissection-Verfahren der American Academy of Otolaryngology – Head and Neck Surgery [Robbins et al., 2008] beruhen auf der Unterteilung der Halslymphknoten in

sieben Gruppen (Level I-VII) und weiteren sechs Sublevel in den Gruppen I, II und V (Abb. 9).



**Abb. 9** Lymphknotenregionen des Halses.

Level I: Submental (IA) und submandibular (IB); Level II: Kraniojugular, medial (IIA) und lateral (IIB) des N. accessorius; Level III: Mediojugular; Level IV: Kaudojugular; Level V: Posteriores Halsdreieck, oberhalb des Ringknorpels (Va), unterhalb des Ringknorpels (Vb); Level VI: kranioviszeral vom Zungenbein bis Sternum; Level VII: Kraniomediastinal. [Robbins et al., 2008].

Die Bedeutung von metastasierten Halslymphknoten als ein unabhängiger prognostischer Faktor bei Karzinomen der Kopf-, Halsregionen ist schon lange bekannt. Die Grundlage unserer derzeitigen Techniken zur Lymphknotenentfernung bildet die von CRILE bereits 1906 beschriebene *radikale Neck dissection* [Crile, 1906]. Sie beinhaltet die chirurgische Entfernung aller Halslymphknoten der Regionen I-V einer Seite zwischen Clavicula, Vorderrand des M. trapezius, dem unteren Parotispol, dem Unterkiefer sowie der infrahyoidalen Muskulatur nach medial hin. Die Scalenus- und prävertebrale Muskulatur begrenzen die *radikale Neck dissection* in die Tiefe und das Platysma zur Haut hin. An anatomischen Strukturen werden dabei der M. sternocleidomastoideus, der N. accessorius, die

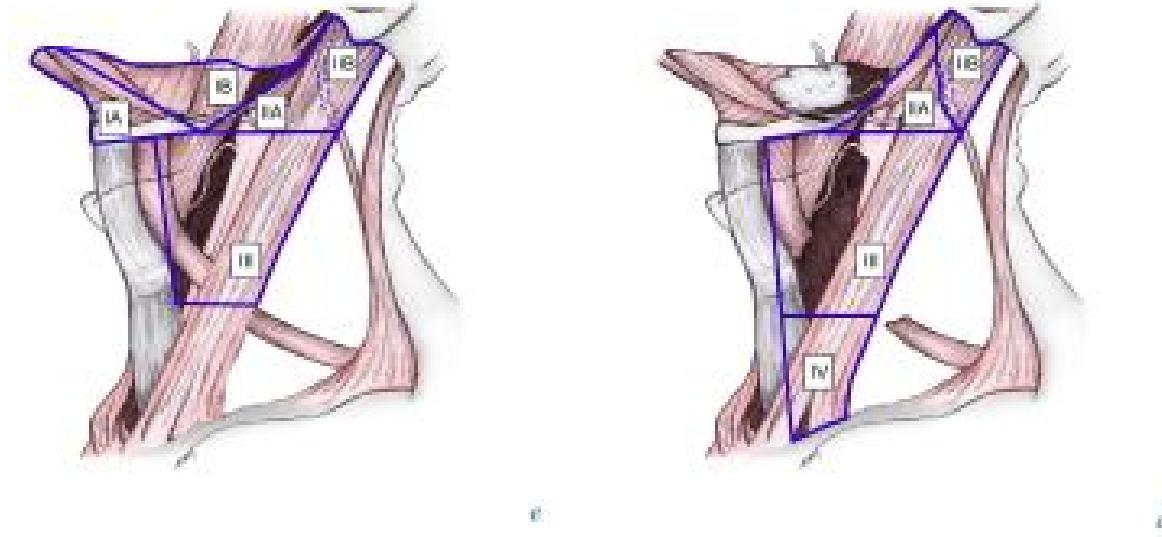
A. facialis, die Gl. submandibularis, die V. jugularis interna und externa, der Plexus cervicalis mit seinen sensiblen Endästen, die Ansa cervicalis und der M. omohyoideus entfernt.

Die erstmalig 1962 beschriebene *modifizierte radikale Neck dissection* beinhaltete ebenfalls die Entfernung der Lymphknoten der Level I-V, jedoch unter Erhalt der V. jugularis interna, des M. sternocleidomastoideus und des N. accessorius. Diese auch als *funktionelle Neck dissection* benannte Form der Lymphknotenentfernung etablierte sich in den folgenden Jahren als Standardverfahren. Sie senkte deutlich die Morbidität gegenüber der radikalen Neck dissection bei gleicher Kontrolle der regionalen Lymphknoten [Ferlito et al., 2008].

Zum Ende des 20. Jahrhunderts entwickelte sich das Konzept der *selektiven Neck dissection* (SND), bei der nur bestimmte Lymphknotenregionen abhängig von der Lokalisation des Primärtumors ausgeräumt werden (Tab. 4, Abb. 10, 11). V. jugularis interna, M. sternocleidomastoideus und N. accessorius bleiben auch hier erhalten [Ferlito et al., 2008].

**Tab. 4** Typen der selektiven Neck dissection

SND	Entfernte Lymphknotenregion
Supraomohyoidal	I-III
Anterolateral	I-IV
Lateral	II-IV
Posterolateral	II-V



**Abb. 10** Selektive Neck dissection der Level I-III. **Abb. 11** Selektive Neck dissektion der Level II-IV.

#### Neck dissection bei malignen Speicheldrüsentumoren

Die Durchführung einer Lymphknotenexstirpation (Neck dissection) richtet sich nach dem klinischen oder durch Bildgebung (Sono, CT, MRT) begründeten Verdacht auf vergrößerte oder metastasenverdächtige Lymphknoten. Ferner spielen Entität, Differenzierungsgrad und Tumorgröße eine Rolle [Medina, 1998]. Bei allen Patienten mit klinisch oder radiologisch verdächtigen Lymphknoten erfolgt eine therapeutische Neck dissection. Für Patienten mit klinisch unauffälligen Lymphknoten fehlen hingegen eindeutige Richtlinien bezüglich einer elektiven Neck dissection. Ein ausgedehnter Tumor und eine high-grade-Histologie sind die zuverlässigsten Hinweise auf einen klinisch okkulten Lymphknotenbefall. In einer retrospektiven Studie an 474 Patienten mit lokal begrenzten Karzinomen der großen Speicheldrüsen hatten Patienten mit einem high-grade-Tumor ein signifikant höheres Risiko für Lymphknotenmetastasen (49%) als diejenigen mit einem low-grade-Tumor (7%). Das gleiche gilt für größere Neoplasien ( $>4\text{cm}$ : 20%) gegenüber kleineren ( $<4\text{cm}$ : 4%) [Armstrong et al., 1992]. In diesen Fällen erscheint eine elektive supraomohyoidale (Level I-III) Neck dissection sinnvoll [Medina, 1998; Lang et al., 2005a].

### 1.1.7.3 Adjuvante Strahlentherapie

Patienten mit niedrigmalignen T1- und T2-Tumoren sind durch die alleinige chirurgische Exzision des Tumors adäquat behandelt. Eine postoperative Strahlentherapie wird für größere und aggressiv wachsende Karzinome (zumeist T3, T4) und für Speicheldrüsenneoplasien in folgenden Umständen empfohlen [*Garden et al., 1997; Storey et al., 2001; Terhaard et al., 2005*]:

- Tumoren des tiefen Parotislappens
- Makro- oder mikroskopischer Residualtumor
- Knappe Resektionsgrenzen
- Undifferenzierte oder high-grade-Histologien
- Rezidivtumoren
- Infiltration von angrenzendem Gewebe
- Regionale Halslymphknotenmetastasen
- Perineuralinfiltration
- Intraoperative Tumorstreuung
- Adenoid-zystische Karzinome

Zahlreiche retrospektive Untersuchungen weisen auf eine verbesserte lokale Tumorkontrolle durch eine adjuvante Strahlentherapie hin [*Armstrong et al., 1990; Garden et al., 1997*]. Jedoch ist bis heute kein eindeutiger Benefit für das Gesamtüberleben bewiesen, was paradox erscheint, da der Verlust der lokalen Tumorkontrolle in vielen Studien als wichtigster Vorhersagefaktor für eine schlechte Prognose gilt [*Bell et al., 2005*].

#### 1.1.7.4 Chemotherapie

Die Rolle der Chemotherapie bei Patienten mit Tumoren der Speicheldrüsen ist noch nicht geklärt. Derzeit beschränkt sich die Anwendung einer Chemotherapie auf die palliative Behandlung fortgeschrittener Tumoren, für die adjuvante Anwendung konnte bisher noch kein eindeutiger Nutzen nachgewiesen werden. Ein teilweises Ansprechen ist auf Einzeltherapien mit Cyclophosphamid, Doxirubicin, 5-Fluoruracil und Cisplatin beschrieben, ohne klare Hinweise auf eine Verlängerung des Gesamtüberlebens [[Licitra et al., 2003](#)]. Grundsätzlich scheint eine Kombinationstherapie erfolgsversprechender als eine Einzeltherapie [[Venook et al., 1987](#)]. Die Chemotherapie bleibt also weiterhin auf die palliative Anwendung für Patienten mit fortgeschrittenen, nicht resezierbaren und metastasierten Tumoren beschränkt.

#### 1.1.7.5 Antikörpertherapie

Die gezielte Antikörpertherapie zur Behandlung maligner Speicheldrüsentumoren beschränkt sich derzeit ebenfalls, wie auch die Chemotherapie, auf die palliative Behandlung fortgeschrittener Tumoren.

##### Imatinib

Die Mehrheit an adenoid-zystischen Karzinomen scheint den Tyrosinkinaserezeptor C-KIT zu exprimieren. In einer Fallstudie an zwei Patienten wurde über ein Ansprechen des Tumors auf Imatinib (Gleevec), einen Tyrosinkinase-Inhibitor, berichtet [[Alcedo et al., 2004](#)]. In zwei folgenden Phase II-Studien an insgesamt 27 Patienten mit adenoid-zystischen Karzinomen konnte hingegen kein signifikanter Effekt von Imatinib (400mg 2x tgl.) dokumentiert werden [[Hotte et al., 2005; Laurie and Licitra, 2006](#)].

### Gefitinib

Eine Überexprimierung von EGFR (epidermal growth factor receptor) wurde unter anderem bei adenoid-zystischen Karzinomen und Mukoepidermoidkarzinomen festgestellt [[Gibbons et al., 2001; Vered et al., 2002](#)]. In einer Phase II-Studie an insgesamt 29 Patienten mit fortgeschrittenen Speicheldrüsenkarzinomen (19 adenoid-zystische Karzinome, 2 Mukoepidermoidkarzinome) konnte jedoch kein signifikantes Ansprechen auf Gefitinib, einem EGFR Tyrosinkinase-Inhibitor dokumentiert werden [[Laurie and Licitra, 2006](#)].

### Trastuzumab

Eine Überexprimierung des Protoonkogens HER2 wurde unter anderem für das adenoid-zystische Karzinom, das Mukoepidermoidkarzinom und das Speichelgangkarzinom beschrieben [[Glisson et al., 2004; Jaehne et al., 2005](#)].

In einer Phase-II-Studie zeigte einer von drei Patienten mit Mukoepidermoidkarzinom und positivem HER2 - Rezeptorstatus ein Teilansprechen (über zwei Jahre) auf Trastuzumab, einem monoklonalen Antikörper gegen HER2. Bei zwei Patienten mit einem progressiven Speichelgangkarzinom konnte eine Krankheitsstabilisierung über 26 bzw. 40 Wochen beobachtet werden [[Haddad et al., 2003](#)].

### **1.1.8 Prognostische Faktoren**

Die Festlegung prognostischer Faktoren für Karzinome der Speicheldrüsen gestaltet sich aufgrund ihrer geringen Häufigkeit, ihrer morphologischen Vielfalt sowie unterschiedlichster klinischer Verläufe schwierig [[Cheuk and Chan, 2007](#)]. So können einzelne Entitäten wie das Azinuszellkarzinom als niedrimalignes Karzinom oder das Speichelgangkarzinom als

hochmalignes Karzinom spezifischen prognostischen Gruppen zugeteilt werden. Für andere Entitäten wiederum gibt es spezielle Graduierungssysteme (siehe 1.1.6.2).

Als klassische, häufig genannte prognostische Faktoren, unabhängig des histologischen Subtyps gelten der Malignitätsgrad, das Alter, das TNM-Stadium, der Resektionsstatus und die therapeutische Strategie [Therkildsen et al., 1998; Renahan et al., 1999; Bhattacharyya and Fried, 2005].

### 1.1.8.1 Genetik und Molekularbiologie

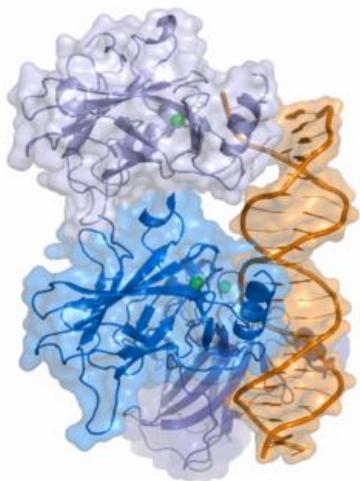
Ziel molekularbiologischer Studien von Speicheldrüsentumoren ist einerseits, die Pathogenese der Tumoren zu verstehen, andererseits, objektive Marker zu evaluieren, welche eine Prognoseabschätzung sowie eine therapeutische Stratifizierung der betroffenen Patienten ermöglichen. Einige der genetischen Veränderungen, die für das Plattenepithelkarzinom des Kopf-Hals-Bereiches berichtet sind, treffen auch für Tumoren der Speicheldrüsen zu. So wird eine Überexpression von P53, eine mutationsbedingte Inaktivierung des Tumorsuppressorgens P16INK4A, eine Überexpression von HER2 und H-ras auch mit der Entwicklung und Progression von Speicheldrüsentumoren in Verbindung gebracht [Press et al., 1994; Gallo et al., 1995; Cerilli et al., 1999; Yoo and Robinson, 2000; Nishimine et al., 2003; Skalova et al., 2003].

Hingegen scheint die durchflusszytometrische Bestimmung der DNA-Aneuploidie, deren Präsenz bei oralen Plattenepithelkarzinomen gegenüber diploiden Fällen mit einem dramatisch höheren Auftreten von lokalen und regionalen Rezidiven einhergeht [Hemmer et al., 1999], bei Speicheldrüsenkarzinomen von geringerer prognostischer Bedeutung zu sein [Driemel et al., 2007]. Insgesamt liegt der Anteil aneuploider Tumoren bei Malignomen der Speicheldrüsen bei etwa 25% [Driemel et al., 2007] und somit deutlich unter den Aneuploidieraten anderer solider Malignome [Merkel and McGuire, 1990].

In verschiedenen zytogenetischen Studien an adenoid-zystischen Karzinomen wurden Chromosomenaberrationen wie 6q-, 12q, 13q- oder 19q-Deletionen beschrieben [[Eveson et al., 2005](#)]. Kürzlich konnte in der bisher größten Untersuchung dieser Tumoren mittels comparativer Genomhybridisierung erstmals eine Deletion auf Chromosom 1p in 44% der Fälle festgestellt werden, welche mit einem signifikant geringeren Überleben der betroffenen Patienten assoziiert war [[Rao et al., 2008](#)].

Immunhistochemische Untersuchungen sind weit verbreitet und relativ kostengünstig. In vielen Fällen unterstützen sie die Subtypisierung von Speichelrüsentumoren [[Meer and Altini, 2007](#)], jedoch bleibt ihre prognostische Aussagekraft oftmals unklar. Derzeit werden die Expression des mutierten Tumorsuppressorgens P53 sowie die Bestimmung der prolierativen Aktivität mittels Ki-67 (MIB-1) zur Prognoseabschätzung herangezogen [[Skalova et al., 1994a; Gallo et al., 1995; da Cruz Perez et al., 2006; Luukkaa et al., 2006](#)]. Im Folgenden sollen die in dieser Arbeit immunhistochemisch untersuchten molekularbiologischen Marker P53, Ki-67, HER2, EGFR, C-KIT und Maspin näher beschrieben werden.

### 1.1.8.1.1 P53

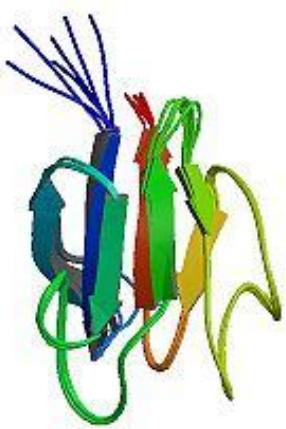


**Abb. 12** Bänder-/Oberflächenmodell von p53 an DNA nach ([www.wikipedia.de](http://www.wikipedia.de)).

Bei P53 (Abb. 12) handelt es sich um das am häufigsten identifizierte mutierte Gen in menschlichen Malignomen. Das Gen findet sich auf dem kurzen Arm von Chromosom 17 lokalisiert. Das exprimierte Protein reguliert als Transkriptionsfaktor die Zelldifferenzierung, die Proliferation und die Apoptosis [Eveson et al., 2005]. Nach DNA-Schädigung akkumuliert das P53-Protein und stoppt mit Hilfe des Proteins P21 die Replikation in der G1-Phase des Zellzyklus. Zellen mit inaktiviertem, mutiertem P53 führen zur einer Selektion neoplastischer Zellklone [Karja et al., 1997].

Die Rolle des Gens bei Speicheldrüsenkarzinomen wird kontrovers diskutiert. Während in Untersuchungen von GALLO et al. [Gallo et al., 1995] und DA CRUZ PEREZ et al. [da Cruz Perez et al., 2006] die Expression des mutierten P53-Gens mit schlechterem Langzeitüberleben einherging, konnten andere Studien [Lewis et al., 2001; Luukkaa et al., 2006] keinen signifikanten Einfluss von P53 auf das Überleben von Patienten mit Speicheldrüsenkarzinomen feststellen.

### 1.1.8.1.2 Ki-67 - Synonym: MIB-1



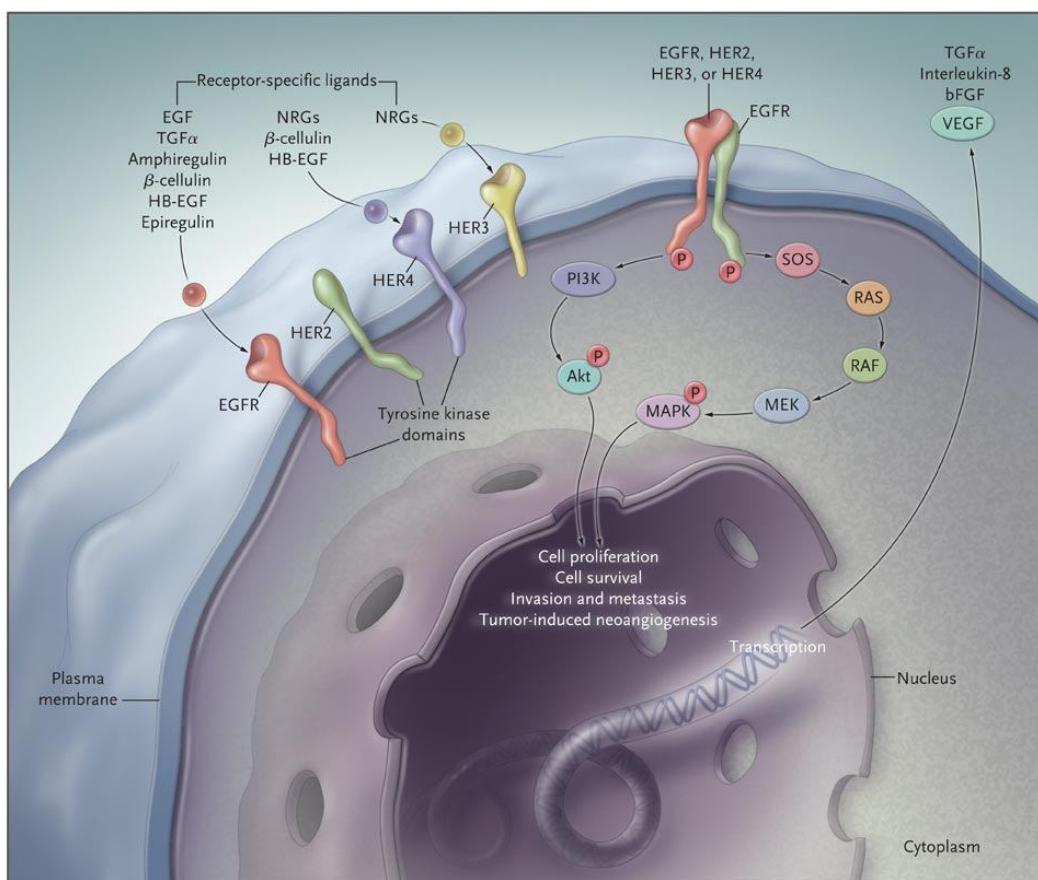
**Abb. 13** Durch monoklonalen Ki-67-Antikörper identifiziertes Antigen ([www.wikipedia.de](http://www.wikipedia.de)).

Das Protein Ki-67 (Abb. 13) stellt einen zellulären Marker der Proliferation dar. Während das Gen in der Interphase ausschließlich im Zellkern detektiert werden kann, zeigt sich das Protein in der G1-, S- und G2-Phase sowie in der Mitose größtenteils an der Oberfläche der Chromosomen lokalisiert. Mit Hilfe immunhistochemischer Antikörper (Ki-67, MIB-1) lässt sich die Wachstumsfraktion einer bestimmten Zellpopulation dann in diesen Phasen des Zellzyklus anfärben [[Pich et al., 2004](#)]. Somit gibt die Färbung mittelbar Aufschluss über die Wachstumsgeschwindigkeit von Tumorzellen.

Bezogen auf Karzinome der Speicheldrüsen zeigte sich die immunhistochemisch bestimmte Erhöhung der Zellproliferation unter anderem beim Azinuszellkarzinom [[Hellquist et al., 1997](#)], dem Mukoepidermoidkarzinom [[Skalova et al., 1994a](#)] aber auch bei anderen Entitäten [[Luukkaa et al., 2006](#)] wiederholt mit schlechterem Langzeitüberleben assoziiert.

### 1.1.8.1.3 Epidermale Wachstumsfaktoren der EGFR-Familie

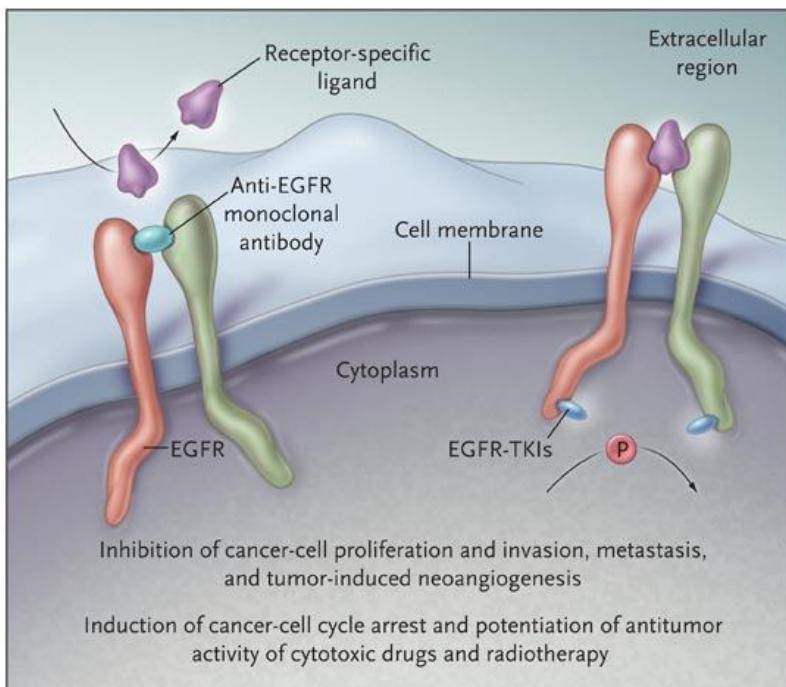
Krebszellen besitzen die Fähigkeit zur autonomen und dysregulierten Proliferation. Dies geschieht durch die unkontrollierte Produktion spezifischer Moleküle, welche das Zellwachstum stimulieren (Wachstumsfaktoren) oder durch die verstärkte Expression spezifischer Rezeptoren auf der Zellmembran, an welche Wachstumsfaktoren selektiv binden können [Ciardiello and Tortora, 2008]. Beide Mechanismen führen über eine Aktivierung transmembraner Proteine zu einer Abfolge intrazellulärer Signale, welche letztendlich die Proliferation von Krebszellen, die Induktion der Angiogenese sowie die Metastasierung bedingen (Abb. 14).



**Abb. 14** Signaltransduktionsweg kontrolliert durch die Aktivierung von EGFR [Ciardiello and Tortora, 2008].

Die meisten humanen Karzinome sind durch eine funktionelle Aktivität von Wachstumsfaktoren und Rezeptoren der sogenannten „Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)“ – Familie gekennzeichnet. Diese auch ErbB-Familie genannte Gruppe von Tyrosinkinasen umfasst die spezifischen Rezeptoren ErbB-1 (EGFR/HER1), ErbB-2 (HER2), ErbB-3 (HER3) und ErbB-4 (HER4) [Normanno *et al.*, 2006]. Alle Proteine dieser Familie besitzen eine extrazelluläre Liganden-Bindungs-Domäne, eine hydrophobe transmembrane Domäne und eine zytoplasmatische Domäne mit einer Tyrosinkinase. Zehn verschiedene Liganden können selektiv an jeden EGFR-Rezeptor binden. Die Bindung eines Liganden führt zur Dimerisierung des Rezeptors, wodurch es über eine Aktivität der Tyrosinkinasen zur Autophosphorylierung des Rezeptors kommt (Abb. 14). Diese Autophosphorylierung triggert wiederum eine Reihe intrazellulärer Signalwege, was eine Proliferation von Tumorzellen, eine Verhinderung der Apoptose, invasives Wachstum, eine Metastasierung sowie eine Stimulation der Tumor-induzierten Neovaskularisation zur Folge haben kann [*Ciardielo and Tortora, 2008*].

Durch die Erkenntnis der beschriebenen Mechanismen wurde EGFR als erster Wachstumsfaktorrezeptor zum Ziel einer Antikörpertherapie. Bisher gibt es zwei Klassen von EGFR-Antagonisten: Monoklonale EGFR-Antikörper (z.B. Cetuximab) und kleinmolekulare EGFR-Tyrosinkinase-Inhibitoren - TKI's - (z.B. Gefitinib). Die monoklonalen Anti-EGFR-Antikörper binden an die extrazelluläre Domäne von EGFR und blockieren die Ligandenbindung und Rezeptoraktivierung, während die TKI's als kompetitive Agonisten zu ATP an der Bindestelle der intrazellulären Tyrosinkinase fungieren und so die EGFR-Autophosphorylierung blockieren (Abb. 15).



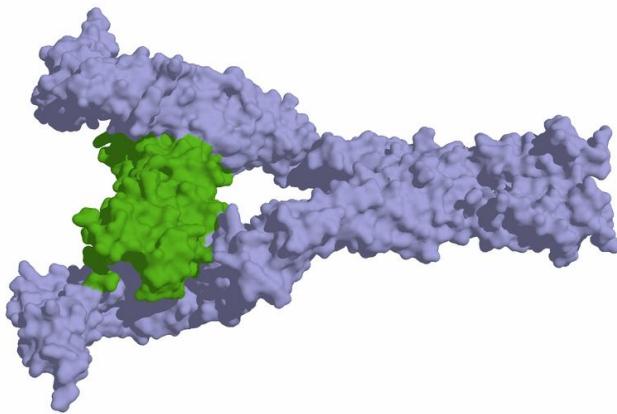
**Abb. 15** Wirkmechanismen von Anti-EGFR-Medikamenten in Tumorzellen [[Ciardiello and Tortora, 2008](#)].

Die gezielte Therapie mit EGFR-Antikörper findet bisher vor allem beim kleinzelligen Bronchialkarzinom und dem kolorektalen Karzinom seine Anwendung [[Roskoski, 2004](#)]. Entsprechend ErbB-1 gibt es auch einen monoklonalen Antikörper gegen die extrazelluläre Domäne des ErbB-2-Rezeptor (Trastuzumab), welcher derzeit vor allem zur Behandlung des Mammakarzinoms eingesetzt wird.

Die prognostische Bedeutung von EGFR und HER2 wurde in zahlreichen Studien untersucht. Obwohl eine Expression der beiden Proteine oftmals mit einer schlechteren Prognose in Verbindung gebracht wurde, scheint die Aussagekraft dieser exprimierten Rezeptoren für das Überleben des individuellen Patienten limitiert [[Normanno et al., 2006](#)]. Wenig Zweifel bestehen jedoch, dass die Amplifikation des HER2-Gens und/oder die Überexpression des Proteins bei Brustkrebspatientinnen mit positiven Lymphknoten als negative prognostische Indikatoren, unabhängig von weiteren Prognosefaktoren, zu werten sind [[Ravdin and Chamness, 1995; Normanno et al., 2006](#)]. Bei Karzinomen der Speicheldrüsen scheint die

vermehrte Expression von HER2 einen negativen prognostischen Einfluss auf bestimmte Subtypen wie das Mukoepidermoidkarzinom [Press et al., 1994] oder das Speichelgangkarzinom [Jaeche et al., 2005] zu haben, während der Einfluss einer EGFR-Überexpression auf das Überleben unklar ist [Sorensen et al., 2006].

#### 1.1.8.1.4 C-KIT – Synonym: CD117



**Abb. 16** SD-Oberflächenmodell eines Mast-/Stammzell-Wachstumsfaktor (SCF, Grün) gebunden an den Dimerkomplex seines Rezeptors (blau) ([www.wikipedia.de](http://www.wikipedia.de)).

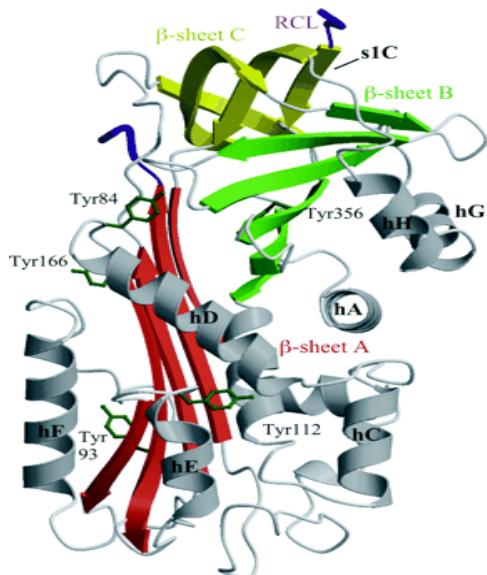
Das Protoonkogen C-KIT kodiert ebenfalls einen transmembranen Tyrosinkinaserezeptor. Es ist charakterisiert durch fünf extrazelluläre immunglobulinähnliche Domänen und der zytoplasmatischen Kinase. Nach Bindung des Liganden, eines Stammzellfaktors (SCF, Abb. 16), erfolgt die Aktivierung in Form einer Dimerisierung zweier benachbarter Rezeptoren, was die Phosphorylierung verschiedener Substrate der intrazellulären Signaltransduktion zur Folge hat [Hong et al., 2007].

C-KIT ist entscheidend an der Proliferation und Differenzierung von Stammzellen beteiligt. Es ist von großer Bedeutung für die Hämatopoiese und Angiogenese und spielt eine wichtige Rolle bei der Pigmentierung der Haut, der Darmfunktion und der Spermatogenese. Mutationen von C-KIT wie Insertionen, Deletionen und Punktmutationen treten bei

verschiedenen Krebsformen, insbesondere bei gastrointestinalen Stromatumoren, Keimzelltumoren, Melanomen und Leukämien auf [Ali and Ali, 2007]. Die klinische Wirksamkeit des bei diesen Erkrankungen angewendeten Therapeutikums Imatinib wird zum Teil auf seine C-KIT-Tyrosinkinase-hemmende Wirkung zurückgeführt.

Bei Speicheldrüsenkarzinomen scheint die C-KIT-Expression mit adenoid-zystischen Karzinomen assoziiert [Jeng et al., 2000; Mino et al., 2003; Freier et al., 2005], jedoch gibt es wenig Informationen über seine prognostische Bedeutung [Sorensen et al., 2006]. Therapieversuche mit dem Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib bei adenoid-zystischen Karzinomen zeigten in Einzelfällen ein Ansprechen der Tumoren, ohne jedoch dauerhafte Remissionen zu erreichen [Faivre et al., 2005; Hotte et al., 2005].

### 1.1.8.1.5 Maspin



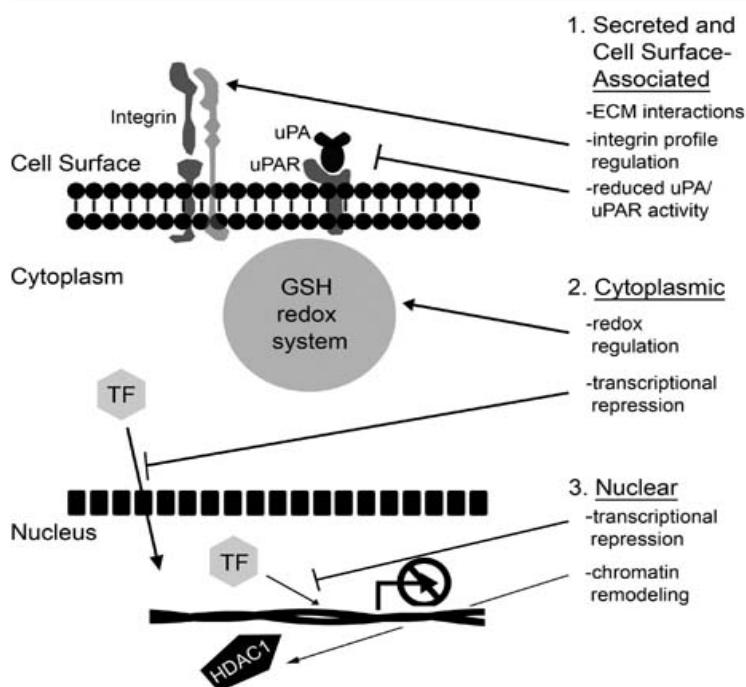
**Abb. 17** Röntgenkristallstruktur von Maspin [Law et al., 2005].

Bei Maspin (*M*AMmary *S*erine *P*rotease *I*nhibitor) handelt es sich um ein 42 kDa-Protein (Abb. 17) aus der Familie der Serpine (*SER*ine *P*rotease *I*nhibitor), welches erstmalig 1994 beschrieben wurde [Zou et al., 1994]. Dabei zeigte es sich in normalen Mammapithelzellen

exprimiert, während es in Mammakarzinomzellen fehlte oder reduziert war. Weitere Untersuchungen charakterisierten Maspin als Klasse II-Tumor-Suppressor, welcher die Tumor-induzierte Angiogenese, die Tumorzellmotilität, die Invasivität sowie die Metastasierung unterdrückt [Lockett et al., 2006; Sheng, 2006]. Maspin kann durch prä-apoptotisches P53 hochreguliert werden [Zou et al., 2000] und scheint seinerseits wiederum Tumorzellen durch eine Hochregulation von Bax für die Apoptose zu sensibilisieren [Liu et al., 2004]. Das Maspinprotein findet sich im Zytoplasma, im Zellkern und auf der Zelloberfläche mit unterschiedlichen Funktionen [Lockett et al., 2006]. Nukleäres Maspin reguliert die Gentranskription als Antwort auf zellulären Stress, hervorgerufen durch Entzündungen, Gewebsverletzungen, und Remodelling (Abb. 18). Zytoplasmatisches Maspin reguliert das Glutathion (GSH) - Redoxsystem der Zelle und spielt somit eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der zellulären Homöostase und Stressregulierung. An der Zelloberfläche gewährleistet Maspin die interzelluläre Integrität [Bailey et al., 2006].

### Model Depicting Maspin Function Based on Localization

---



**Abb. 18** Modell möglicher Maspinfunktionen je nach Lokalisation [Bailey et al., 2006].

Der Verlust der Maspinexpression scheint bei verschiedenen malignen Tumoren wie dem Mammakarzinom, dem oralen Plattenepithelkarzinom, dem nicht-kleinzeligen Bronchialkarzinom oder dem Ovarialkarzinom mit einer schlechteren Prognose assoziiert [Zou *et al.*, 1994; Yasumatsu *et al.*, 2001; Katakura *et al.*, 2006; Solomon *et al.*, 2006]. Bezuglich Karzinomen der Speicheldrüse wurde eine Niederregulation von Maspin beim Karzinom aus pleomorphem Adenom und beim soliden Typ des adenoid-zystischen Karzinoms beschrieben [Navarro Rde *et al.*, 2004; Martins *et al.*, 2005; Nakashima *et al.*, 2006]. Jedoch fehlen Berichte über die prognostische Relevanz des Maspinverlustes im Langzeitverlauf.

## 2 Fragestellung

*Folgende Aufgaben sollten im Rahmen der vorliegenden klinisch-pathologischen Arbeit durchgeführt werden:*

- Retrospektive Auswertung der klinischen Langzeit-Daten von Patienten mit primären Karzinomen der Speicheldrüsen, welche von 1990-2006 in den Kliniken für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie sowie für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Universität Regensburg behandelt wurden.
- Herstellung neuer, standardisierter HE-Färbungen sämtlicher Gewebeproben der betroffenen Patienten sowie Nachuntersuchung und gegebenenfalls Neuklassifikation der Diagnosen entsprechend der aktuellen (2005) WHO.
- Durchführung der immunhistochemischen Färbungen Ki-67, P53, EGFR, HER2, C-KIT und Maspin.

*Daraus ergeben sich folgende Fragestellungen:*

- Welche prognostische Bedeutung bei Speicheldrüsenkarzinomen besitzen klinische Parameter sowie der histopathologische Subtyp und der Malignitätsgrad?
- Welches immunhistochemische Expressionsmuster zeigen die verschiedenen Entitäten?
- Welche prognostische Bedeutung kann den immunhistochemischen Markern Ki-67, P53, EGFR, HER2, C-KIT und Maspin bei Speicheldrüsenkarzinomen im Allgemeinen und speziell im Vergleich zu den oben genannten klinisch-pathologischen Parametern zugeschrieben werden?

### 3 Patienten und Methoden

#### 3.1 Patienten

Ausgewertet wurden retrospektiv die Daten von 101 Patienten, die in der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer und Gesichtschirurgie im Zeitraum 1990-2006 sowie in der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde im Zeitraum 1992-2006 aufgrund eines erstmalig aufgetretenen Karzinoms der großen oder kleinen Speicheldrüsen behandelt wurden. Von 101 aufgenommenen Patienten mit einem Malignom wurden 98 Patienten primär operiert und gegebenenfalls adjuvant strahlentherapiert. Zwei Patienten wurden wegen ihres fortgeschrittenen Stadiums nur strahlen- und chemotherapiert. Eine Patientin verweigerte außer der diagnostizierenden Probebiopsie jegliche Form der Therapie.

#### 3.2 Datenerhebung

Die anamnestischen, diagnostischen und therapeutischen Daten wurden retrospektiv aus den

Krankenakten der Patienten entnommen. Fehlende Informationen wurden durch Kontakt mit den Hausärzten oder den betroffenen Patienten selbst sowie deren Angehörigen gewonnen.

Auf folgende Daten wurde bei der Auswertung der Krankenakten besonderer Wert gelegt: Geschlecht, Alter, Tumorlokalisation, Tumogröße, Lymphknotenbefall, Fernmetastasierung, Fazialisparese, Therapie einschließlich Radiatio- oder/und Chemotherapie, Resektionsstatus, Auftreten eines Rezidivs und tumorspezifisches Überleben.

Das Tumorstadium der Patienten wurde gemäß der TNM-Klassifikation der *International Union Against Cancer (UICC)* von 2002 (siehe 2.7.1) ermittelt [[Sobin and Wittekind, 2002](#)].

Die Klassifikation erfolgte nach Abschluss der chirurgischen Therapie und histopathologischer Begutachtung der Karzinome. Ausschlaggebend war das diagnostizierte pathologische pTNM-Stadium. In Fällen fehlender histopathologischer Untersuchung wurde das klinische cTNM-Stadium übernommen. Inoperable Fernmetastasen und Primärtumoren wurden als makroskopischer Residualtumor R2 betrachtet.

Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit lag bei 4,7 Jahren (Minimum 50 Tage, Maximum 16 Jahre).

### **3.3 Histopathologische Untersuchungen**

Von sämtlichen Patienten wurden aus dem Archiv des Instituts für Pathologie die in Paraffin eingebetteten Gewebeproben herausgesucht und neue standardisierte Hämatoxylin-Eosin-Schnitte angefertigt. Diese wurden von zwei Fachärzten für Pathologie (Dr. med. Stephan Schwarz, Prof. Dr. Arndt Hartmann; beide vormals Universität Regensburg, nun Universität Erlangen) begutachtet und entsprechend der aktuellen WHO-Klassifikation [[Barnes et al., 2005](#)] neu diagnostiziert und klassifiziert (Tab. 5). Das adenoid-zystische Karzinom wurde nach seiner Architektur in eine tubuläre (=Grad 1), eine kribiforme (=Grad 2) und eine solide (=Grad 3) Form subklassifiziert. Die Einteilung des Mukoepidermoidkarzinoms (Grad 1-3) basierte auf der An- oder Abwesenheit charakteristischer Wachstumsmuster und zytomorphologischer Merkmale, ebenso die Klassifikation des Adenokarzinoms NOS (Grad 1-3). Karzinome aus pleomorphen Adenomen wurden basierend auf ihrer malignen Komponente des Tumors (Grad 1-3) eingeteilt. Den restlichen Entitäten wurde der für sie in der Literatur [[Barnes et al., 2005; Leivo, 2006](#)] beschriebene Malignitätsgrad zugeteilt.

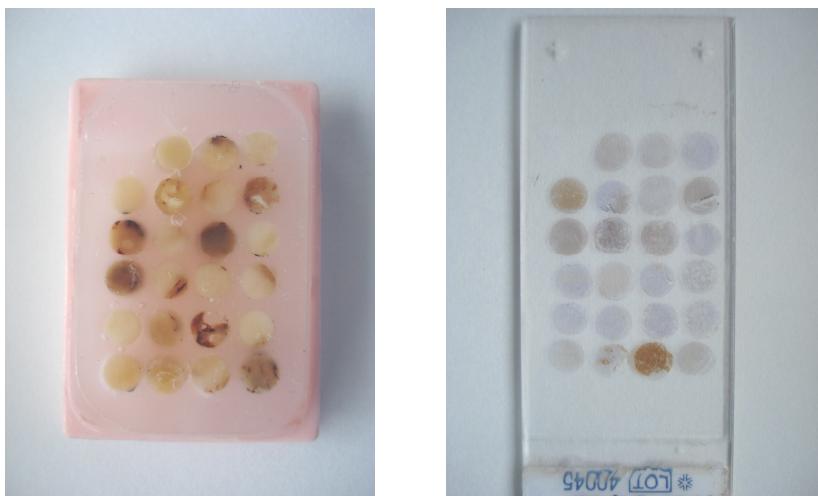
**Tab. 5 Entität und Malignitätsgrad**

Entität	Malignitätsgrad			Gesamt
	Niedrig (G1)	Mittel (G2)	Hoch (G3)	
Adenoid-zystisches Karzinom	5	11	9	25
Mukoepidermoidkarzinom	4	10	1	15
Karzinom aus pleomorphen Adenom	2	1	10	13
Speichelgangkarzinom			12	12
Azinuszellkarzinom	11			11
Plattenepithelkarzinom			5	5
Myoepitheliales Karzinom		4		4
Basalzelladenokarzinom	3			3
Adenokarzinom NOS			3	3
Lymphoepitheliales Karzinom			3	3
Onkozystisches Karzinom			3	3
Polymorphes low-grade Adenokarzinom	1			1
Zystadenokarzinom	1			1
Undifferenziertes Karzinom			1	1
Adenosquamöses Karzinom			1	1
<b>Gesamt</b>	<b>25</b>	<b>31</b>	<b>45</b>	<b>101</b>

### 3.3 Multiblock

Die Untersuchung jedes Gewebeblocks separat hätte bei der großen Anzahl an Gewebeproben einen enormen finanziellen und arbeitsintensiven Aufwand dargestellt. Daher sollten jeweils mehrere tumorrepresentative Gewebeproben in einen Paraffinblock („Tissue Microarray“ – TMA) zur weiteren Untersuchung integriert werden [Milanes-Yearsley et al., 2002]. Dazu wurde von jedem Tumorpräparat ein aktueller HE-Schnitt angefertigt. Die tumorrepresentative Region wurde mit einem Fineliner unter dem Lichtmikroskop auf dem Objektträger markiert und die Markierung auf den entsprechenden Paraffinblock übertragen. Dann wurden aus den markierten Gewebeblöcken die relevanten Gewebebezirke herausgestanzt. Zuvor wurden Paraffinblöcke ohne Gewebe angefertigt und aus diesen die für die Tumorproben gewünschte Anzahl an Paraffinzyllindern ausgestanzt. In die so entstandenen zylindrischen Hohlformen wurde dann jede ausgestanzte Tumorgewebeprobe

unmittelbar übertragen. Gleichzeitig wurde die Anordnung der Stanzen im Multiblock schriftlich und graphisch dokumentiert. Bei der Stanze handelte es sich um eine Handstanze mit einer geschliffenen Hohlnadel mit einem Innendurchmesser von 4mm, in der ein Stempel steckt. Nach Abschluss des Stanzens wurden die Multiblöcke in Paraffin neu eingebettet (Abb. 19).



**Abb. 19** In Paraffin eingebetteter Multiblock mit immunhistochemischen Schnitt.

Diejenigen Tumoren, von denen nur sehr wenig Gewebsmaterial vorhanden und eingebettet war, wurden wegen der Gefahr des Gewebsverlustes nicht in Multiblöcke übertragen. In diesen Fällen wurden die Schnitte von den Original-Paraffinpräparaten einzeln angefertigt. Von den fertigen Multiblöcken wurden zunächst 4µm dicke Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbte Schnitte hergestellt. Diese wurden vom Pathologen auf vorhandenes Tumorgewebe in jeder einzelnen Stanze hin überprüft. Anschließend konnten 4µm dicke Schnitte von den Multiblöcken sowie von den Originalblöcken für die immunhistologischen Färbungen vorbereitet werden.

### 3.5 Immunhistochemie

Die Immunhistochemie nutzt die Spezifität und Affinität immunologischer Reaktionen zur präzisen Lokalisation von Epitopen gesuchter Antigene, also die Eigenschaft, dass Antikörper spezifisch und mit hoher Affinität an ihr passendes Antigen binden. Man kann die nicht bindende Seite der Antikörper wiederum als Bindungsstelle für einen weiteren Antikörper nutzen, der mit Substanzen konjugiert ist, die man zur Detektion verwenden kann. Es gibt eine Reihe von Verfahren, die sich hinsichtlich der Detektionsreagentien oder der Anzahl der Detektionsschritte (direkte oder indirekte Methode) unterscheiden [[Boenisch, 2006](#)].

In dieser Arbeit kam aus der Gruppe der Immunperoxidasefärbungen die Streptavidin-Biotin-Methode (engl.: Streptavidin-Biotin-Complex, SABC) an in Paraffin eingebettetem Material zum Einsatz. Die Färbungen mit den Antikörpern gegen P53, Ki-67 (MIB-1), HER2 (ErbB-2), C-KIT (CD 117) und Maspin wurden mit Hilfe des NexES-Autostainer-Systems der Firma Ventana (Ventana Medical Systems, Illkirch, Frankreich) durchgeführt. Die Färbung mit dem Anti-EGFR-Antikörper wurde per Hand angefertigt. Im Einzelnen wurden folgende Antikörper verwendet:

- P53 (Klon sc-263, Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland, Verdünnung 1:1000, pH 7,3).
- Ki-67 (Klon MIB-1, DAKO Cytomation, Glostrup, Dänemark, Verdünnung 1:50, pH 7,3)
- HER2 (polyklonaler Kaninchenantikörper, DAKO Cytomation, Glostrup, Dänemark, Verdünnung 1:400, pH 7,3)
- EGFR (EGFR PharmDx<sup>TM</sup>, DAKO Cytomation, Glostrup, Dänemark, Ausführung entsprechend Herstellerangaben)

- C-KIT (polyklonaler Kaninchenantikörper, DAKO Cytomation, Glostrup, Dänemark, Verdünnung 1:200, pH 7,3)
- Maspin (Klon G167-70, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland, Verdünnung 1:1000, pH 7,3)

### 3.5.1 Entparaffinierung

Zuerst mußten die Gewebsproben entparaffiniert werden, um die Antigene durch geeignete Verfahren freizulegen. Dazu wurden die Schnitte in ein warmes Wasserbad gegeben, auf beschriftete Objektträger aufgezogen und mindestens 30 Minuten bei 72°C im Brutschrank inkubiert. Durch das Verweilen im Brutschrank sollte ein späteres Abschwimmen der Gewebeproben verhindert werden. Die Schnitte für die Färbung von EGFR wurden nicht im Brutschrank inkubiert, sondern bei Raumtemperatur über Nacht aufbewahrt.

Zur vollständigen Entparaffinierung und Dehydrierung wurden die Präparate, ausgehend vom Xylol durch eine absteigende Alkoholreihe geführt.

Xylol	10min
Xylol	10min
Propanol 100%	1min
Propanol 100%	1min
Ethanol 96%	1min
Ethanol 96%	1min
Ethanol 70%	1min

Nach Durchlaufen der Alkoholreihe wurden die Schnitte mehrmals in Aqua dest. gewaschen und bis zur Weiterbehandlung in diesem belassen.

### 3.5.2 Vorbehandlung

#### Mikrowellen-Vorbehandlung

Die Schnitte für die Färbungen HER2, C-KIT, Maspin, Ki-67 und P53 wurden mit Hilfe der Mikrowelle vorbehandelt. Hierzu wurden sie in eine Plastikküvette gestellt, welche mit Citratpuffer (pH-Wert =7,1) aufgefüllt wurde. Darin wurden die Schnitte bei maximaler Leistung bis zum Kochen erhitzt und für 10min inkubiert. Nach dem Kochen wurden die Präparate langsam auf Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurden die Gewebeschnitte in Aqua dest. gewaschen und für das immunhistochemische Nachweisverfahren bereitgestellt.

#### Vorbehandlung mit Protease

Die Schnitte für die Färbung von EGFR wurden zur proteolytischen Verdauung mit 100 $\mu$ l Proteinase K (<0,1% Proteinase K in Tris-HCl-Puffer gelöst) vorbehandelt und für 5min inkubiert. Anschließend wurden sie mit Waschpuffer für 5min abgespült.

### 3.5.3 Immunfärbung und Detektion

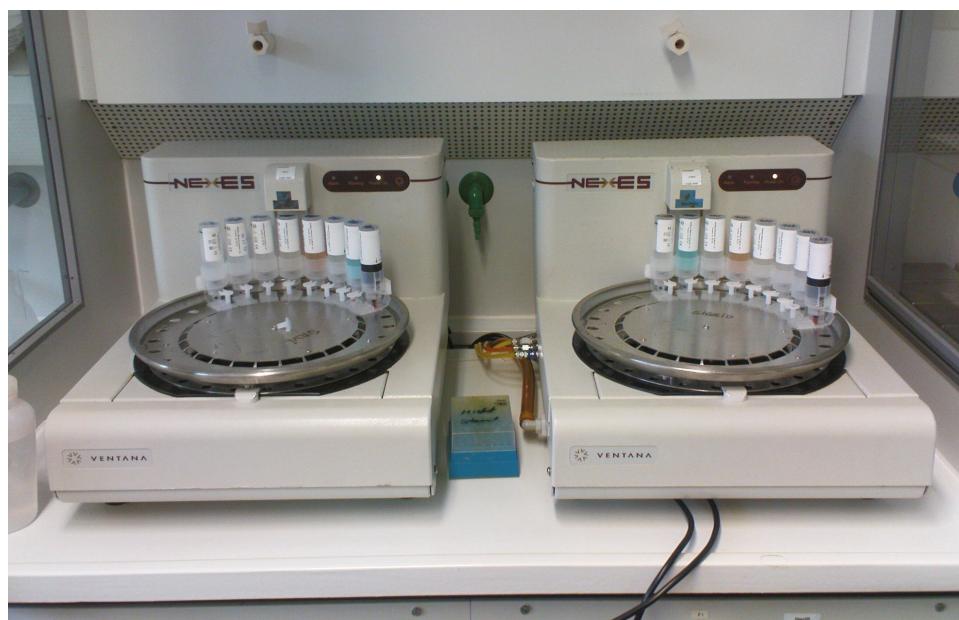
Die Streptavidin-Biotin-Methode (SABC) basiert auf der Fähigkeit des Eiweißglykoproteins Streptavidin, vier Moleküle des Vitamins Biotin physikalisch zu binden.

Prinzipiell werden dazu drei Reagenzien benötigt: Zunächst wird der Primärantikörper, der spezifisch gegen das zu bestimmende Antigen gerichtet ist, auf den Gewebeschnitt pipetiert. Der nun folgende Sekundärantikörper, der sich an den ersten binden kann, ist mit Biotin verknüpft. Als drittes Reagenz wird ein Peroxidase-konjugierter Streptavidin-Biotin-Komplex appliziert, wobei freie Stellen des Streptavidinmoleküls die Bindung an das Biotin des Sekundärantikörpers ermöglichen [Boenisch, 2006].

Im Falle der manuellen Färbung des Antigens EGFR wurde als Weiterentwicklung ein Sekundärantikörper-Peroxidase-Polymerkonjugat (EnVision<sup>TM</sup>) verwendet und somit die zweite und dritte Reagenz zusammengefasst. Um das gesuchte Antigen endgültig zu detektieren, wird das Enzym Peroxidase mit einem geeigneten Chromogen sichtbar gemacht. Als Färbereagenz wird Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB) eingesetzt, welches ein braunes Färbeergebnis liefert. Nach Abschluss der Reaktion färbt man die Präparate kurz gegen (hier mit Hämalaun), damit nicht nur die Antikörperkomplexe, sondern auch die histologischen Strukturen erkennbar werden.

### Färbung am Färbeautomaten

Die Färbungen von HER2, C-KIT, Maspin, Ki-67 und P53 wurden mit Hilfe eines Färbeautomaten angefertigt. Dabei handelte es sich um das Ventana NexES-System, ein computer- und bordgesteuertes Gerät zur immunhistochemischen Färbung von Gewebeschnitten (Abb. 20). Der NexES wurde als Multikomponentensystem entwickelt, d.h. seine Funktionen werden durch mehrere „Module“ ausgeführt.



**Abb. 20** Ventana-NexEs-Autostainer.

Die Färbeplattform, auf der die Objektträgerfärbung stattfindet, besteht aus einem Färbe- und einem Flüssigkeitsbehälter, sowie einem Abfallkanister. Aus Computer, Monitor und Drucker ist die PC-Plattform aufgebaut, mit deren Hilfe der Benutzer Protokolle erstellen und immunhistochemische Färbungen starten kann. Die für die Färbungen benötigten Reagenzien werden vollautomatisch auf das Gewebe aufgetragen. Das Gerät erkennt dabei anhand der auf den Objektträger angebrachten Barcodes, welches Programm durchgeführt werden muss, wobei jedem Färbeprotokoll ein bestimmter Zahlencode zugeteilt ist.

Das Gerät bietet den Vorteil, dass die Reaktionskinetik durch die automatische Steuerung der Dosier-, Wasch-, Misch- und Erwärmungsvorgänge optimiert wird und dabei eine Zeitersparnis erzielt werden kann.

Die Präparate müssen nach dem Einlegen in den Färbeautomaten mit PBS beschichtet werden. Nach dem Aufsetzen des Reagenzienkarusells, welches mit den benötigten Spendern bestückt ist, kann der Färbeablauf gestartet werden.

Das Färbeprotokoll war bis auf den eingesetzten Primärantikörper und dessen Inkubationszeit für alle durchgeführten Färbungen identisch.

### Färbeprotokoll:

1. Waschpuffer auf 41,0°C erwärmen
2. Objektträger waschen
3. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen (Anm.: Coverslip ist ein reaktionsfähiges, leichtes Beschichtungsöl, das ein Austrocknen der Gewebeschnitte verhindern soll)
4. Objektträgerkammer auf 37°C aufwärmen
5. Objektträger waschen
6. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
7. Objektträger waschen
8. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
9. 1 Tropfen INHIBITOR zufügen und für 4 min inkubieren
10. Objektträger waschen
11. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
12. Manueller Auftrag von Primärantikörper (HER2, C-KIT, Maspin, Ki-67, P53) und inkubieren (HER2: 24min, C-KIT: 32min, Maspin: 32min, Ki-67: 32min, P53: 32min)
13. Objektträger waschen
14. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
15. 1 Tropfen BIOTIN-Ig auftragen und für 8min inkubieren

16. Objektträger waschen
17. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
18. 1 Tropfen SA-HRP auftragen und für 8min inkubieren
19. Objektträger waschen
20. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
21. Anwendung auslassen und für 2min inkubieren
22. 1 Tropfen DAB und 1 Tropfen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> auftragen und für 8min inkubieren
23. Objektträger waschen
24. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
25. 1 Tropfen COPPER auftragen und für 4min inkubieren
26. Objektträger waschen
27. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
28. 1 Tropfen HEMATOXYLIN (Gegenfärbung) auftragen und für 4min inkubieren
29. Objektträger waschen

Zum Abschluss wurden die Schnitte durch eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol geführt, um dann mittels Entellan und Deckgläsern eingedeckelt zu werden.

#### Manuelle Färbung

Die Färbung von EGFR erfolgte per Hand nach der Polymerkonjugat-Färbemethode (EnVision<sup>TM</sup>). Diese Technologie basiert auf dem Einsatz eines sowohl Peroxidase- als auch sekundärantikörpermarkierten Polymerkonjugats, dessen „Rückgrat“ aus einem inerten Dextranmolekül (Polysaccharid) besteht. Neben durchschnittlich 70 Enzymmolekülen können daran 10 Antikörpermoleküle gebunden werden. Neben seiner schnellen und einfachen Anwendung und hohen Sensitivität besteht ein weiterer Vorteil dieses Systems darin, dass es nicht auf der Wechselwirkung zwischen Streptavidin und Biotin basiert, so dass unspezifische Färbungen als Folge endogenen Biotins ausgeschlossen sind [Boenisch, 2006].

Zur Kontrolle und Überprüfung der Validität der Färbungen wurde ein von der Firma Dako mitgelieferter Kontrollschnitt mitgefärbt. Dieser enthielt zwei in Formalin fixierte und in Paraffin eingebettete humane Zelllinien mit den Intensitätswerten 2+ und 0. Als Negativkontrolle wurde eine unspezifische negative Kontrollreagenz an Stelle des Primärantikörpers zur Färbung des Positiv-Kontroll-Gewebes appliziert.

Nach Entparaffinierung, der Vorbehandlung mit Proteinase K und dem Abspülen mit Waschpuffer unterlag die Färbung von EGFR folgendem Ablauf:

Färbeprotokoll:

1. 3 Tropfen (100µl) Peroxidase-Block auftragen und für 5min inkubieren
2. Abspülen mit Waschpuffer für 5min
3. 3 Tropfen (100µl) Primärantikörper oder Negativkontrollreagenz auftragen und für 30min inkubieren
4. Abspülen mit Waschpuffer für 5min
5. 3 Tropfen (100µl) Sekundärantikörper (Sekundärantikörper-Peroxidase-Dextran-Polymer-Konjugat) auftragen und für 30min inkubieren
6. Abspülen mit Waschpuffer für 5min
7. 3 Tropfen (100µl) DAB + Substrat-Chromogen-Lösung (Verdünnung 1:50) auftragen und für 10min inkubieren
8. Abspülen mit Aqua dest. für 2-5min
9. Gegenfärbung mit Hämalaun für 1min
10. Abspülen mit Leitungswasser für 1min

Zum Abschluss wurden die Schnitte durch eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol geführt, um dann mittels Entellan und Deckgläsern eingedeckelt zu werden.

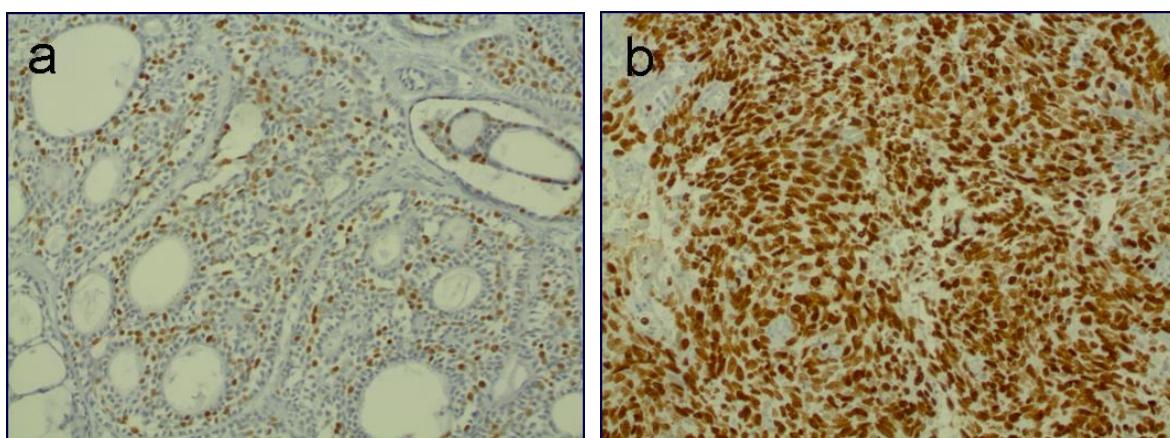
### 3.6 Verwendete Materialien und Reagenzien

APK-Waschlösung	Ventana Medical Systems, Frankfurt a.M.
Basic DAB Detection Kit 250-001	Ventana Medical Systems, Frankfurt a.M.
Brutschrank B6060	Heraeus Sepatech, Osterode
Citratpuffer: Lösung 1: 29,41g Natriumcitrat in 1l Aqua dest. gelöst	
Lösung 2: 21,01g Zitronensäure in 1l Aqua dest. gelöst	
Puffermischung (pH=7,3): 1ml Lösung 1 mit 49ml Lösung 2 in 450ml Aqua dest.	
Deckgläser	Engelbrecht GmbH, Edermünde
Entellan	Merck, Darmstadt
Gewebeeinbettautomat	Shandon GmbH, Frankfurt a. M.
Glasküvette	DakoCytomation Dänemark
Hämalaun: Hämatoxylin 2g	Merck, Darmstadt
Aqua dest. 2l	Merck, Darmstadt
Natriumjodat	Merck, Darmstadt
Aluminiumkaliumsulfat 100g	Merck, Darmstadt
Chloralhydrat	Merck, Darmstadt

Zitronensäure-Monohydrat	Merck, Darmstadt
Heizplatte	Ika Labortechnik, Staufen i. Br.
Liquid Coverslip	Ventana Medical Systems, Frankfurt a.M.
Metallständer	Wagner & Munz, München
Mikrowelle	Phillips, Schweden
Objektträger 25x75x1,0mm Super Frost® Plus	Mezel-Gläser, Braunschweig
PBS-Lösung: NaCl 8,00g	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 1,44g	
KCl 0,20g	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,24g	
Millipore-Wasser ad 1,00 l	
Plastikküvette	Glaswerk, Wertheim
Schlittenmikrotom	Mikrom, Heidelberg
Schnellkochtopf	Beka, Deutschland
Sterilbank Lamin Air HSB 2472 S	Heraeus Sepatech, Osterode
Wasserbad Lo-boy	Lab-Line Instruments, Illinois, USA
Zentrifuge Megafuge 1.0	Heraeus Sepatech, Osterode

### 3.7 Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Für Ki-67 wurde der prozentuale Anteil positiver Zellen ausgezählt. Zur Unterscheidung zwischen erhöhter und nicht erhöhter Proliferation wurden drei verschiedene Schwellenwerte von 10%, 20% und 30% festgelegt (Abb. 21).

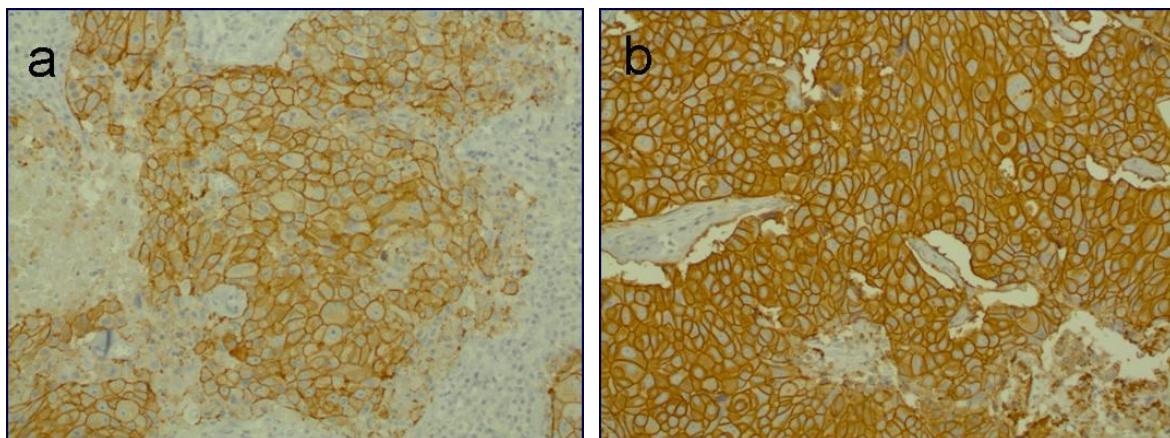


**Abb. 21** a) Ki-67 (x200) bei adenoid-zystischem Karzinom - Positivität in ca. 15% der Zellen. b) Ki-67 (x200) bei lymphoepithelialem Karzinom - Positivität in ca. 95% der Zellen.

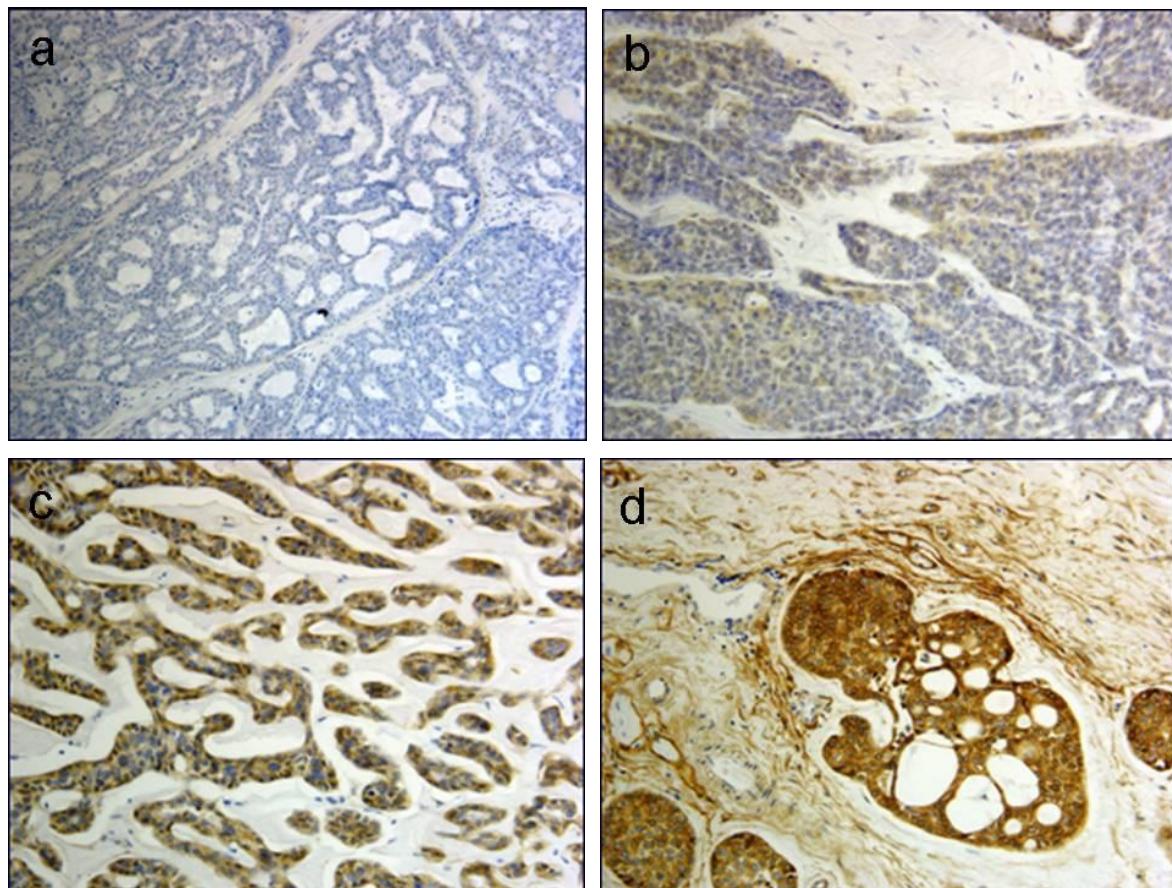
Bei P53 handelt es sich um eine Kernfärbung. P53 wurde als positiv gewertet, falls mehr als 10% der Zellen angefärbt waren.

HER2, EGFR und C-KIT wurden nach Färbeintensität kategorisiert: 0 = negativ; 1+ schwach positiv; 2+ mittel positiv; 3+ stark positiv.

Die semiquantitative Auswertung von HER2 (Abb. 22) und EGFR (Abb. 23) erfolgte nach den DAKO Herceptest<sup>TM</sup>-Kriterien, welche die Membranfärbung beurteilen. Im Falle von HER2 wurden Tumoren mit einer Färbeintensität von 2+ und 3+ als positiv gewertet, bei EGFR hingegen lediglich Tumoren mit der Intensität 3+.

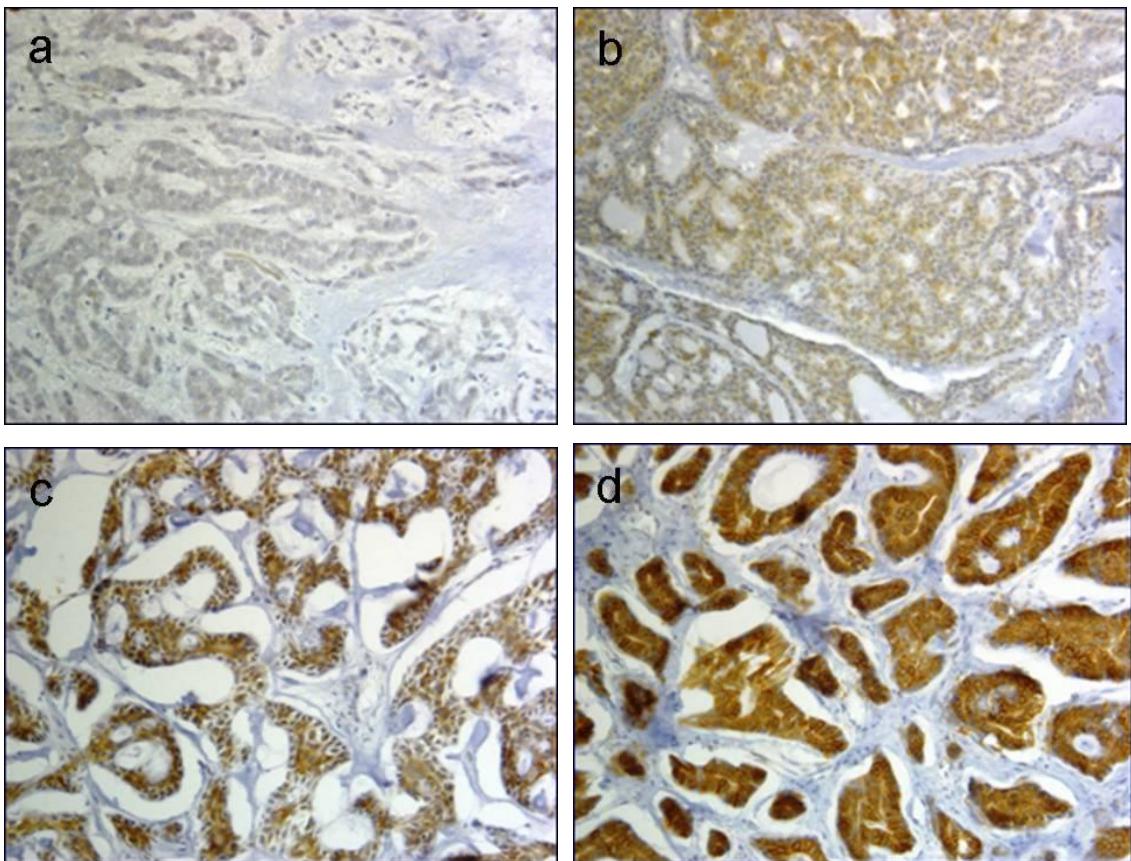


**Abb. 22** a) HER-2 (x200) bei Speichelgangkarzinomen - Färbeintensität 2+. b) HER-2 (x200) bei Speichelgangkarzinom - Färbeintensität 3+.



**Abb. 23** EGFR (x200) bei adenoid-zystischen Karzinomen. Färbeintensitäten a) 0, b) 1+, c) 2+, d) 3+.

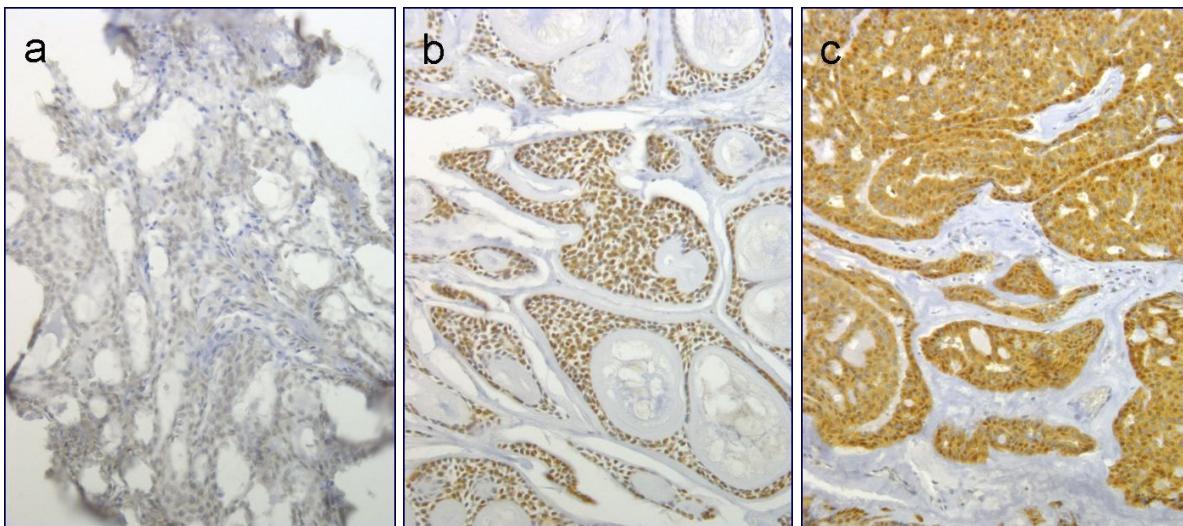
Für C-KIT (Abb. 24) wurde sowohl die Membran- als auch die Zytosplasmafärbung evaluiert, wobei die höhere Färbeintensität den Wert festsetzte. Mangelnde Expression von C-KIT entsprach dem Wert 0 und wurde als negativ definiert.



**Abb. 24** C-KIT (x200) bei adenoid-zystischen Karzinomen. Färbeintensitäten a) 0, b) 1+, c) 2+, d) 3+.

Für EGFR (0, 1+ gegen 2+, 3+; 0 gegen 1+, 2+, 3+) und C-KIT (0, 1+ gegen 2+, 3+; 0, 1+, 2+ gegen 3+) wurden alternative Schwellenwerte evaluiert, welche jedoch ohne prognostische Signifikanz blieben (Daten werden nicht gezeigt).

Für Maspin (Abb. 25) wurden Kern- und Zytoplasmafärbung separat und in Kombination betrachtet und als positiv gewertet bei mehr als 10% angefärbter Tumorzellen. Die Färbeintensität wurde semiquantitativ unterteilt (0 negativ, 1+ schwach, 2+ mittel, 3+ stark). Tumoren mit fehlender oder schwacher Färbung wurden als negativ gewertet, Tumoren mit der Färbeintensität 2+ und 3+ als positiv. Bei der kombinierten Evaluation galt die Färbung als positiv, wenn entweder die nukleäre oder die zytoplasmatische oder beide Färbeintensitäten mindestens 2+ waren.



**Abb. 25** Maspin (x200) bei adenoid-zystischen Karzinomen. a) 0 nukleär, 0 zytoplasmatisch; b) 2 nukleär, 0 zytoplasmatisch; c) 2 nukleär, 2 zytoplasmatisch.

### 3.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS, Version 12.0 (SPSS, Erkrath, Deutschland). Assoziative Beziehungen wurden mittels Fisher Exakt-Tests (Signifikanzniveau  $p \leq 0,05$ ) sowie des nichtparametrischen Kruskal-Wallis-Tests (Signifikanzniveau  $p \leq 0,05$ ) berechnet. Die univariate Überlebensanalyse wurde mit der Kaplan-Meier-Methode (Log-rank-Test, Signifikanzniveau  $p \leq 0,05$ ) durchgeführt, die multivariate Analyse erfolgte mit Hilfe der Cox-Regression (rückwärts, schrittweise; Ausschluss des am wenigsten signifikanten Faktors mit  $p > 0,10$ ; Signifikanzniveau  $p < 0,05$ ). Um die Unabhängigkeit zu berechnen wurden mögliche Korrelationen der prognostischen Faktoren untereinander mittels einer Rangkorrelation nach Spearman ( $r > 0,3$ ) ermittelt. Das tumorspezifische Überleben (TSÜ) umspannte den Zeitraum des Diagnosedatums bis zum Datum des durch die Krankheit verursachten Todes oder bis zum Ende der Nachbeobachtungszeit.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Deskriptive Analyse – Klinisch-pathologische Parameter

#### 4.1.1 Tumorentitäten

Der häufigste maligne Tumor in der vorliegenden Untersuchung war das adenoid-zystische Karzinom (n=25), gefolgt vom Mukoepidermoidkarzinom (n=15), dem Karzinom aus pleomorphem Adenom (n=13), dem duktalen Adenokarzinom (n=12) sowie dem Azinuszellkarzinom (n=11).

Die einzelnen Tumorentitäten verteilten sich wie folgt auf das Gesamtkollektiv (Tab. 6)

**Tab. 6** Verteilung der Tumorhistologien im Gesamtkollektiv

Tumor	Abk.	Häufigkeit	Prozent
1. Adenoid-zystisches Karzinom	ACC	25	24,7
2. Mukoepidermoidkarzinom	MEC	15	14,8
3. Karzinom im pleomorphen Adenom	CXPA	13	12,9
4. Speichelgangkarzinom	SDC	12	11,9
5. Azinuszellkarzinom	ACCC	11	10,9
6. Plattenepithelkarzinom	PEC	5	4,9
7. Myoepitheliales Karzinom	MYEC	4	4,0
8. Adenokarzinom NOS	ADC	3	3,0
9. Basalzelladenokarzinom	BCAC	3	3,0
10. Lymphoepitheliales Karzinom	LEC	3	3,0
11. Onkozytäres Karzinom	OCC	3	3,0
12. Zystadenokarzinom	CAC	1	1,0
13. Undifferenziertes Karzinom	UDC	1	1,0
14. Polymorphes low-grade Adenokarzinom	PLGAC	1	0,9
15. Adenosquamöses Karzinom	ASC	1	0,9
Gesamt		101	100,0

Tabelle 7 gibt einen Überblick über die Verteilung klinisch-histologischer Parameter auf die häufigsten Entitäten.

**Tab. 7 Häufigste Entitäten und klinisch-histologische Parameter**

	<b>ACC</b>	<b>MEC</b>	<b>CXPA</b>	<b>SDC</b>	<b>ACCC</b>	<b>PEC</b>	<b>MYEC</b>	<b>Andere</b>	<b>Gesamt</b>
Gesamt	25	15	13	12	11	5	4	16	101
<b>Geschlecht</b>									
Männlich	8	6	9	9	3	3	4	8	50
Weiblich	17	9	4	3	8	2	—	8	51
<b>Alter</b>									
≤70 Jahre	20	12	10	5	8	1	3	10	69
>70 Jahre	5	3	3	7	3	4	1	6	32
<b>Lokalisation</b>									
Parotis	14	3	9	11	10	4	4	13	68
Submandibularis	9	1	3	1	1	1	—	1	17
Kleine Speicheldrüsen	2	11	1	—	—	—	—	2	16
<b>T-Status</b>									
T1	5	5	3	3	4	—	—	4	24
T2	9	7	4	4	3	3	3	8	41
T3	7	3	6	1	3	—	—	2	22
T4	4	0	0	4	1	2	1	2	14
<b>N-Status</b>									
N0	19	11	10	3	10	3	3	8	67
N1	3	1	1	6	0	1	—	2	14
N2	2	2	2	3	1	1	—	6	17
N3	1	1	0	0	0	—	1	—	3
<b>Gesamtstadium (UICC)</b>									
I	4	5	2	—	4	—	—	2	17
II	7	5	3	2	2	3	3	6	31
III	7	2	6	4	3	—	—	—	22
IV	7	3	2	6	2	2	1	8	31
<b>Therapie</b>									
Alleinige Operation	2	9	6	3	8	3	3	6	40
Operation + Radiatio	22	6	7	8	3	2	—	10	58
Keine Operation	1	—	—	1	—	—	1	—	3
<b>Residualtumor</b>									
Keiner (R0)	17	15	9	9	11	3	3	11	78
Mikroskopisch (R1)	6	—	3	2	—	1	—	2	14
Makroskopisch (R2)	2	—	1	1	—	1	1	3	9
<b>Rezidiv#</b>									
Nein	19	12	10	8	9	3	3	10	74
Ja	4	3	2	3	2	1	0	3	18

ACC=Adenoid-zystisches Karzinom, MEC=Mukoepidermoidkarzinom, CXPA=Karzinom aus pleomorphem SDC=Speichelgangkarzinom, ACCC=Azinuszellkarzinom, PEC=Plattenepithelkarzinom, MYEC=Myoepitheliales Karzinom. Adenom,  
# nur operativ behandelte Fälle mit tumorfreiem Resektionsrand oder mikroskopischem Residualtumor mit Radiatio

#### 4.1.2 Geschlechts- und Altersverteilung

Bezogen auf das Gesamtkollektiv ergab sich ein ausgewogenes Verhältnis zwischen weiblichem und männlichem Geschlecht (Tab. 7).

Es zeigte sich ein erhöhter Anteil (68,0%) des weiblichen Geschlechts an den adenoid-zystischen Karzinomen und den Azinuszellkarzinomen (72,7%), während die Speichelgangkarzinome (75,0%) und die Karzinome aus pleomorphen Adenomen (69,2%) mehrheitlich dem männlichen Geschlecht zugeordnet werden konnten.

Bezüglich der Altersverteilung zum Zeitpunkt der Diagnose (Tab. 8) ergab sich für das Mukoepidermoidkarzinom mit durchschnittlich 48,9 Jahren ein signifikant geringeres ( $p=0,027$ ) Alter zum Zeitpunkt der Diagnose, während Patienten mit einem Speichelgangkarzinom mit durchschnittlich 72,9 Jahren ein höheres ( $p=0,002$ ) Alter aufwiesen. Daneben zeigte sich hohes Alter (>70a) mit high-grade Tumoren assoziiert (0,005).

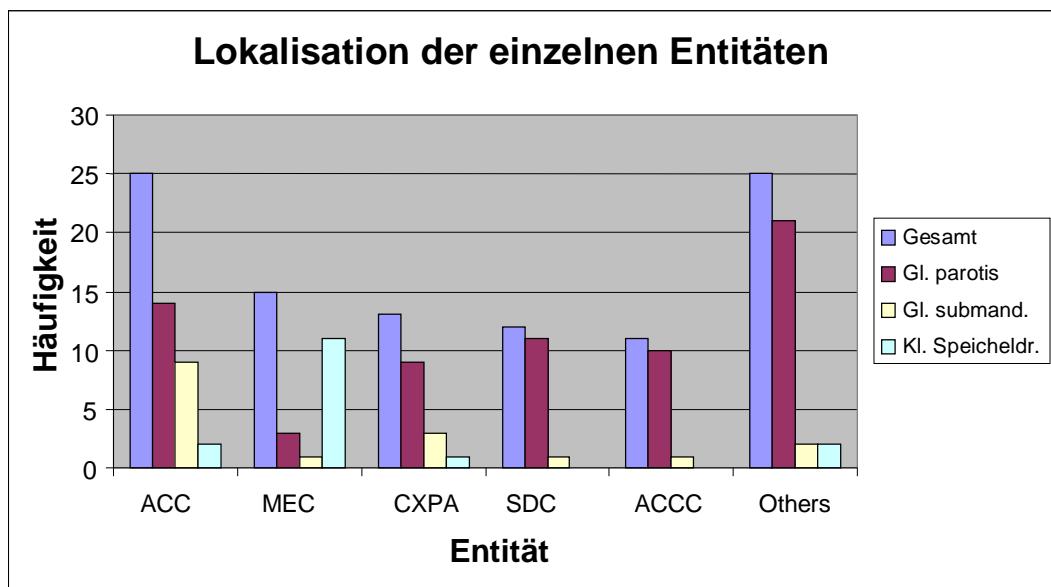
**Tab. 8 Altersverteilung**

Entität	N	Minimum (a)	Maximum (a)	Mittelwert (a)	Standardabweichung
ACC	25	31	76	56,2	12,7
MEC	15	24	83	48,9	19,8
CXPA	13	36	88	59,9	14,3
SDC	12	59	88	72,9	8,8
ACCC	11	31	81	50,3	18,1
Andere	25	39	86	63,9	15,2
Gesamt	101	24	88	58,9	16,4

ACC=Adenoid-zystisches Karzinom, MEC=Mukoepidermoidkarzinom, CXPA=Karzinom aus pleomorphen Adenom,  
SDC=Speichelgangkarzinom, ACCC=Azinuszellkarzinom

#### 4.1.3 Lokalisation

68 Tumoren entsprangen der Gl. parotis, 17 Tumoren traten in der Gl. submandibularis und 16 Tumoren in den kleinen Speicheldrüsen auf (Abb. 26). Dabei fand sich ein signifikant ( $p<0,001$ ) vermehrtes Auftreten von Mukoepidermoidkarzinomen in den kleinen Speicheldrüsen und von adenoid-zystischen Karzinomen in der Gl. submandibularis ( $p<0,01$ ).



**Abb. 26** Lokalisation der häufigsten Entitäten.

Bei den Tumoren der kleinen Speicheldrüsen fanden sich der Gaumen und der Mundboden als häufigste Lokalisation (Tab. 9).

**Tab. 9** Tumorverteilung der kleinen Speicheldrüsen

Tumorlokalisation kl. Speicheldrüsen	Häufigkeit	Prozent
Gaumen	5	31,2
Mundboden/Zungengrund	5	31,2
Uk-Alveolarfortsatz	3	18,8
Wange/Lippe/Nasennebenhöhle	3	18,8
Gesamt	16	100,0

#### **4.1.4 Klinische Symptomatik - Schmerzen und Fazialisparese**

Bei 40 von 100 Patienten (40%) konnten anamnestisch zum Zeitpunkt der Diagnose Schmerzempfindungen eruiert werden. Dabei handelte es sich in erster Linie um intermittierende ziehende, stechende Schmerzen sowie Druckdolenz. Am häufigsten traten diese beim adenoid-zystischen Karzinom (48%) und beim Mukoepidermoidkarzinom (57%) auf, am seltensten beim Karzinom aus pleomorphem Adenom (15%).

Zur Beurteilung einer Fazialisparese wurden nur Malignome der Gl. parotis berücksichtigt. Von insgesamt 68 betroffenen Patienten war bei 8 Patienten (11,8%) eine präoperative partielle oder totale Parese des N. facialis durch eine Tumorinfiltration diagnostizierbar. Dabei handelte es sich in zwei Fällen um ein adenoid-zystisches Karzinom (8,7%), in 3 Fällen um ein duktales Adenokarzinom (25,0%) sowie jeweils um ein Plattenepithelkarzinom, ein myoepitheliales Karzinom und ein undifferenziertes Karzinom. Das Auftreten einer Fazialisparese zeigte sich mit fortgeschrittenem T-Stadium ( $p=0,002$ ), Lymphknotenmetastasen ( $p=0,004$ ) und Gesamtstadium ( $p=0,006$ ) assoziiert.

#### **4.1.5 TNM-Klassifikation**

Die Stadieneinteilung erfolgte entsprechend der TNM-Klassifikation für Speicheldrüsenkarzinome der UICC (2002) nach Abschluss der chirurgischen Therapie und nach histopathologischer Begutachtung der Karzinome. Maßgebend war dabei das histopathologische Stadium (siehe 3.2).

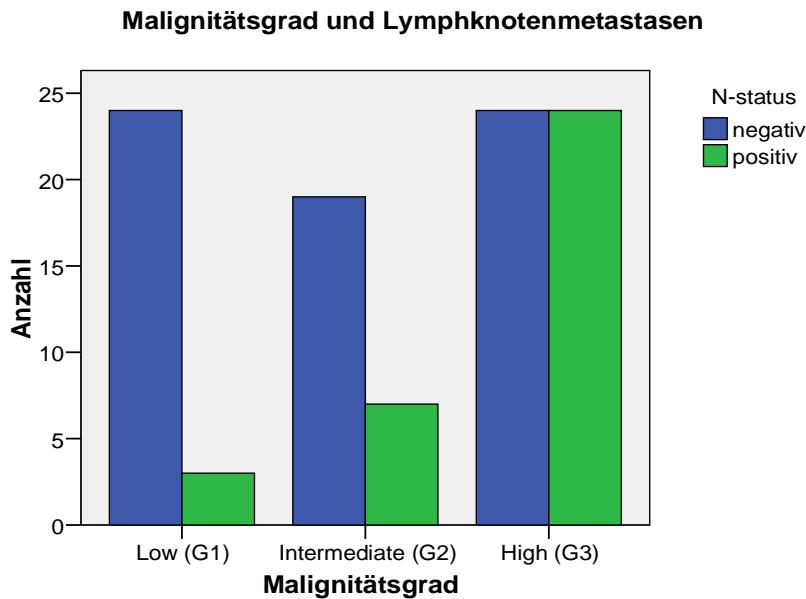
### Tumorgröße (T-Stadium)

64,4% der Patienten konnten einem niedrigen (T1-T2) T-Stadium zugeordnet werden, während bei 35,6% der Patienten das Karzinom eine fortgeschrittene (T3-T4) Größe aufwies (Tab. 7).

### Lymphknotenbefall (N-Status)

Insgesamt fanden sich bei 33,7% der Patienten tumorpositive Lymphknoten. Auffällig war hier vor allem das Speichelgangkarzinom mit positiven Lymphknoten in 75,0% ( $p<0,01$ ) der Fälle. Das adenoid-zystische Karzinom (24,0%), das Mukoepidermoidkarzinom (26,7%) und das Karzinom aus pleomorphem Adenom (23,1%) verhielten sich bezüglich des Lymphknotenbefalls ähnlich. Das Azinuszellkarzinom zeigte nur in einem Fall (9,1%) eine Lymphknotenmetastasierung.

Vergleicht man den Nodalstatus mit dem Malignitätsgrad der Tumoren, so steigt die Präsenz von Lymphknotenmetastasen mit dem Malignitätsgrad (Abb. 27). Während Grad 1-Tumoren zu 11,1% eine Lymphknotenmetastasierungen aufwiesen, fanden sich bei den Grad 3-Tumoren in 50,0% ( $p=0,001$ ) der Fälle positive Lymphknoten.



**Abb. 26** Die Präsenz von Lymphknotenmetastasen steigt mit zunehmenden Malignitätsgrad.

Des Weiteren zeigten sich Lymphknotenmetastasen (N-Status) mit der Tumorgröße (T-Status) assoziiert ( $p=0,032$ ). 26,2% der Patienten mit Tumoren der Größe T1 oder T2 hatten zum Zeitpunkt der Diagnose Lymphknotenmetastasen. Bei Patienten mit Tumorgröße T3 oder T4 waren es 47,2% (Tab. 10).

**Tab. 10** T-Status gegen N-Status

T-Status	N-Status		Gesamt
	Negativ	Positiv	
T1-T2	48	17	65
T3-T4	19	17	36
Gesamt	67	34	101

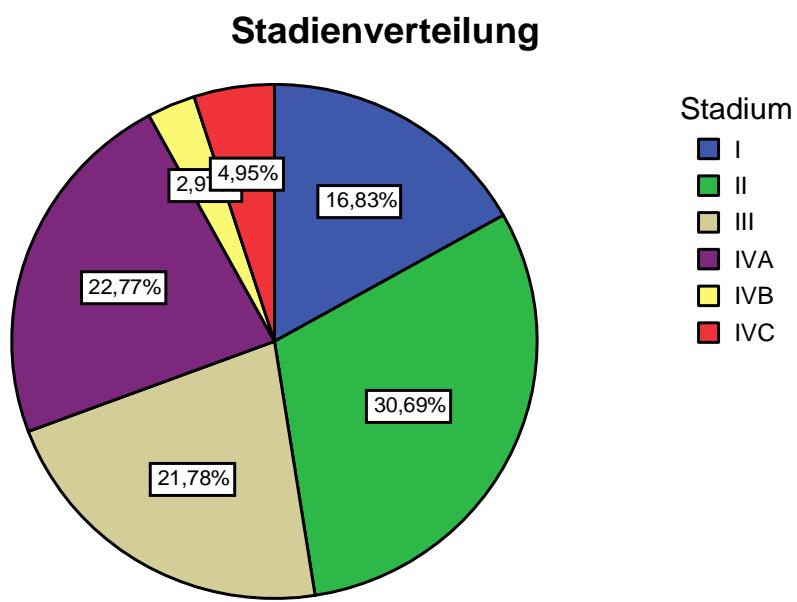
#### Fermetastasierung (M-Status)

Eine Fermetastasierung bei Diagnosestellung fand sich bei fünf Patienten. Dabei handelte es sich um zwei adenoid-zystische Karzinome (Leber-, Lungenmetastasen, ossäre

Metastasierung) und jeweils ein Plattenepithelkarzinom (ossär), ein Adenokarzinom NOS (ossär) und ein lymphoepitheliales (ossär) Karzinom.

### Gesamtstadium UICC

17 Patienten (16,8%) befanden sich im Stadium I, 31 Patienten (30,7%) im Stadium II, 22 Patienten (21,8%) im Stadium III und 31 Patienten (30,7%) im Stadium IV (Abb. 27).

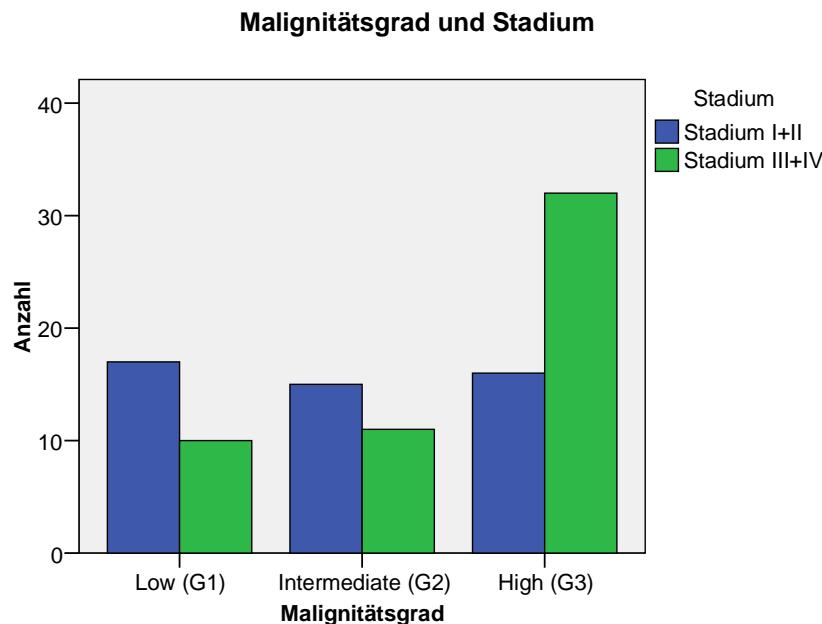


**Abb. 27** Graphische Darstellung der Tumorstadien.

Betrachtet man die Stadien in Abhängigkeit der häufigsten Entitäten (Tab. 7), so fällt auf, dass von den Mukoepidermoidkarzinomen 66,7% in einem niedrigen Stadium (I, II) diagnostiziert wurden, während bei den Speichelgangkarzinomen 83,3% ( $P=0,023$ ) der Patienten einem fortgeschrittenen Stadium (III, IV) zuzuordnen waren.

Vergleicht man das Stadium mit dem Grading, so lässt sich eine hoch signifikante Abhängigkeit der Stadieneinteilung vom histologischen Malignitätsgrad der Tumoren erkennen. Während low-grade- und intermediate-grade-Tumoren noch zu 63,0% bzw. 57,7%

einem niedrigem Stadium (I+II) zuzuordnen waren, fanden sich high-grade-Tumoren in 66,7% der Fälle ( $p=0,009$ ) mit einem fortgeschrittenen Stadium (III+IV) assoziiert (Abb. 28).



**Abb. 28** Das Tumorstadium steigt mit dem Malignitätsgrad.

### 4.1.6 Therapie

Von 101 aufgenommenen Patienten mit einem Malignom wurden 98 Patienten chirurgisch therapiert, davon 92 mit kurativem Ansatz (R0 oder R1), 6 mit palliativer Intention. Bei 78 Patienten wurde der Tumor ohne mikroskopischen Residualbefund „in sano“ reseziert (R=0). Bei 14 Patienten fand sich postoperativ ein mikroskopisch nachweisbarer Resttumor (R=1). Sämtliche Patienten mit mikroskopischem Residualbefund wurden strahlentherapiert. 2 Patienten wurden aufgrund des ausgedehnten Tumorbefalls nur strahlen- und chemotherapiert. Eine Patientin verweigerte jegliche Form der Therapie. Somit ergaben sich 9 Patienten mit makroskopischem Residualtumor (R=2).

70 Patienten erhielten eine chirurgische Entfernung von Halslymphknoten (Neck dissection), wovon 63 konservativ und 7 radikal durchgeführt wurden. Insgesamt wurden 58 Patienten mit durchschnittlich 58,8 Gy adjuvant strahlentherapiert und 6 Patienten primär chemotherapiert.

### Chirurgische Primärtherapie

Tabelle 11 zeigt die durchgeführten Operationsformen. Bei den 20 Patienten, welche in Form einer lokalen Tumorexzision therapiert wurden, handelte es sich in 16 Fällen um Tumoren der kleinen Speicheldrüse und in 4 Fällen um eine Neoplasie der Ohrspeicheldrüse. Bei den Tumoren der Gl. parotis wurde in 84% der Fälle eine totale Parotidektomie durchgeführt.

**Tab. 11** Durchgeführte Operationsformen

Operation	N Patienten
Keine	3
Lokale Tumorexzision	20
Laterale Parotidektomie	4
Totaler Parotidektomie	57
Submandibulektomie	17
Gesamt	101

Insgesamt handelte es sich in 50% der Fälle um radikale Operationsformen, bei denen neben der lokalen Tumorresektion Knochen-, Nerven- und extraparenchymatoses Organgewebe reseziert wurde (Tab. 12). 27 (47%) totalen Parotidektomien wurden radikal mit Resektion des N. facialis durchgeführt, 58% der betroffenen Patienten befanden sich in einem fortgeschrittenen Tumorstadium.

**Tab. 12** Begleitstrukturen radikaler Tumorraktionen

Maßnahme	N Patienten
Nerven(teil)resektion	33
Zusätzliche Knochenentfernung	11
Zungenteilresektion,	2
Mundbodenteilresektion,	1
Submandibulektomie	2

### Lymphknotenentfernung

Insgesamt wurde bei 70 Patienten eine chirurgische Entfernung der Lymphknoten (Neck dissection) durchgeführt. Diese war in 63 Fällen konservativer Natur. Im Stadium I und II erhielten 56,2% der Patienten eine Neck dissection, im Stadium III und IV waren dies 86,0%. Bei Tumoren mit niedrigem oder mittlerem Malignitätsgrad wurde in 58% eine chirurgische Lymphknotenentfernung durchgeführt, bei hochmalignen Tumoren lag der Anteil bei 85%. Alle 7 radikalen Neck dissections wurden bei Patienten mit einem hohen Tumorstadium durchgeführt.

### Resektionsstatus

Bei 78 Patienten wurde der Tumor ohne mikroskopischen Residualbefund „in sano“ reseziert (R0). Dabei konnten Tumoren mit niedrigen Stadien in 95,8% der Fälle im Gesunden (R0) reseziert werden, während Tumoren mit Stadium III oder IV nur in 60,4% der Fälle komplett reseziert werden konnten ( $p<0,001$ ). In 22,6% der Fälle wurde hier der Tumor R1 reseziert, in 17,0 % der Fälle bestand nach Therapie ein Residualtumor R2 (Tab. 13).

**Tab. 13 Residualtumor in Abhängigkeit des Stadiums**

Residualtumor	Stadium (UICC)		Gesamt
	I-II	III-IV	
Nein	46	32	78
Mikroskopisch R1	2	12	14
Makroskopisch R2	0	9	9
Gesamt	48	53	101

### Strahlentherapie

58 Patienten erhielten eine adjuvante Strahlentherapie. Die Strahlendosis lag im Mittel bei 58,4Gy (Minimum 30, Maximum 72, Standardabweichung 7,3). Während Patienten mit niedrigem Stadium in 60,4% der Fälle keine Radiatio erhielten, wurden Patienten mit hohem Tumorstadium in 73,6% der Fälle strahlentherapiert. Ebenso wurden 93% der Patienten mit postoperativem mikroskopischen Residualtumor und 88% der Patienten mit einem adenoid-zystischen Karzinom einer Radiatio zugeführt.

### Chemotherapie

5 Patienten, die eine primäre Chemotherapie erhielten, befanden sich in Stadium IV, ein Patient befand sich in Stadium III.

### **4.1.7 Rezidivaufreten**

Insgesamt trat bei 18 Patienten (19,6%) ein Rezidiv auf mit einem durchschnittlichen rezidivfreien Intervall von 18,5 (2-54) Monaten. Dabei handelte es sich um 8 Lokalrezidive, 7 sekundäre Halslymphknotenmetastasen und 11 Fernmetastasen. Bei den Fernmetastasen handelte es sich um 9 Lungenmetastasen, 3 ossäre Metastasen, 2 Hautmetastasen und eine Absiedlung ins Ovar.

Es zeigte sich keine statistisch signifikante Assoziation des Auftretens eines Rezidivs mit den unterschiedlichen Entitäten (Tab. 7), dem Malignitätsgrad, dem Alter, dem T- oder N-Stadium. Von den 18 Patienten mit einem Rezidiv befanden sich 12 (66,7%) Patienten in einem fortgeschrittenen (III oder IV) Tumorstadium ( $p=0,11$ ), bei 10 (55,6%) Patienten wurde ein high-grade-Tumor diagnostiziert.

### **4.2 Deskriptive Analyse - Immunhistochemische Parameter**

Immunhistochemische Färbungen gegen Ki-67, P53, HER2, EGFR und C-KIT wurden für alle 101 Karzinome durchgeführt, während sich die Maspinfärbungen auf die häufigsten Entitäten (Adenoid-zystisches Karzinom, Mukoepidermoidkarzinom, Karzinom aus pleomorphem Adenom, Speichelgangkarzinom und Azinuszellkarzinom) beschränkten.

#### **4.2.1 Ki-67 (MIB-1)**

Für Ki-67 wurden die Karzinome auf die Schwellenwerte 10%, 20% und 30% hin untersucht. Insgesamt kamen 97 Fälle zur Auswertung. Tabelle 14 zeigt die Verteilung von Ki-67 auf die histologischen Subtypen.

**Tab. 14** Expression von Ki-67 in den verschiedenen Entitäten

Entität ø	Ki-67					
	≤10%	>10%	≤20%	>20%	≤30%	>30%
Gesamt (n=97)	50	47	68	29	81	16
ACC (n=25)	14	11	21	4	23	2
MEC (n=14)	<b>13***</b>	<b>1</b>	<b>14**</b>	<b>0</b>	14	0
CXPA (n=13)	4	9	8	5	11	2
SDC (n=12)	3	9	7	5	9	3
ACCC (n=11)	8	3	9	2	10	1
PEC (n=5)	<b>0</b>	<b>5*</b>	<b>0</b>	<b>5**</b>	<b>1</b>	<b>4**</b>
MYEC (n=4)	1	3	1	3	3	1
ADC (n=3)	0	3	1	2	3	0
BCAC (n=2)	2	0	2	0	2	0
LEC (n=3)	0	3	0	3	0	3
OCC (n=1)	1	0	1	0	1	0
CAC (n=1)	1	0	1	0	1	0
UDC (n=1)	1	0	1	0	1	0
PLGAC (n=1)	1	0	1	0	1	0
ASC (n=1)	1	0	1	0	1	0

ACC=Adenoid-zystisches Karzinom, MEC=Mukoepidermoidkarzinom, CXPA=Karzinom aus pleomorphem Adenom, SDC=Speichelgangkarzinom, ADC=Adenokarzinom NOS, ACCC=Azinuszellkarzinom, PEC=Plattenepithelkarzinom, MYEC=Myoepitheliales Karzinom, BCAC=Basalzelladenokarzinom, LEC=Lymphoepitheliales Karzinom, OCC=Onkozytäres Karzinom, CAC=Zystadenokarzinom, UDC=Undifferenziertes Karzinom, PLGAC=Polymorphes low-grade Adenokarzinom, ASC=Adenosquamöses Karzinom

\* Signifikante Assoziationen (Fisher Exakt-Test). \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ , \*\*\*  $p \leq 0,001$

ø Kreuztabelle vergleicht eine Entität gegenüber Restkollektiv.

Auffallend war die niedrige proliferative Aktivität des Mukoepidermoidkarzinoms mit einem statistisch signifikant geringen Anteil an Zellen mit einem Proliferationsindex >10% ( $p=0,001$ ) und >20% ( $p=0,009$ ) im Vergleich zum Restkollektiv. Dagegen imponierte das Plattenepithelkarzinom durch eine hohe (10%:  $p=0,024$ ; 20%:  $p=0,002$ ; 30%:  $p=0,002$ ) proliferative Aktivität, ebenso das lymphoepitheliale Karzinom. Ebenfalls hohe, jedoch statistisch nicht signifikante Proliferationsraten zeigten sich für das Speichelgangkarzinom, bei dem 88,9% der Fälle einen Proliferationsindex >10% ( $p=0,066$ ) aufwiesen.

In Tabelle 15 sind Assoziationen von Ki-67 mit klinischen und histologischen Parametern dargestellt.

**Tab. 15** Klinisch-pathologische Parameter und Expression von Ki-67

Variable	Ki-67					
	≤10%	>10%	≤20%	>20%	≤30%	>30%
Gesamt (n=97)	50	47	68	29	81	16
<b>Malignitätsgrad</b>						
G1+G2	<b>34</b>	<b>17</b>	<b>42</b>	<b>9</b>	<b>47</b>	<b>4</b>
G3	<b>16</b>	<b>30**</b>	<b>26</b>	<b>20**</b>	<b>34</b>	<b>12*</b>
<b>Alter (a)</b>						
<70	36	29	47	18	57	8
≥70	14	18	21	11	24	8
<b>T-Stadium</b>						
T1-T2	34	28	45	17	54	8
T3-T4	16	19	23	12	27	8
<b>N-Stadium</b>						
N0	37	28	49	16	56	9
N1-N3	13	19	19	13	25	7
<b>Gesamtstadium</b>						
I-II	29	18	36	11	41	6
III-IV	21	29	32	18	40	10
<b>Residualtumor</b>						
R0	<b>44</b>	<b>30</b>	<b>57</b>	<b>17</b>	<b>66</b>	<b>8</b>
R1+R2	<b>6</b>	<b>17**</b>	<b>11</b>	<b>12*</b>	<b>15</b>	<b>8*</b>
<b>Rezidiv (n=92) #</b>						
Nein	42	29	57	14	66	5
Ja	6	11	8	9*	11	6**

\* Signifikante Assoziationen (Fisher Exakt-Test). \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ , \*\*\*  $p \leq 0,001$

# nur operativ behandelte Fälle mit tumorfreiem Resektionsrand oder mikroskopischem Residualtumor mit Radiatio

Der erhöhte Proliferationsindex zeigte sich bei allen Schwellenwerten mit dem histologischen Malignitätsgrad assoziiert (10%:  $p=0,002$ ; 20%:  $p=0,008$ ; 30%:  $p=0,026$ ). Weitere statistisch signifikante Assoziationen ergaben sich zwischen erhöhtem Ki-67-Proliferationsindex und dem Vorhandensein von Residualtumor (10%:  $p=0,008$ ; 20%:  $p=0,017$ ; 30%:  $p=0,020$ ), dem Auftreten eines Rezidivs (20%:  $p=0,011$ ; 30%:  $p=0,006$ ), der erhöhten Expression von P53 (10%:  $p<0,001$ ) sowie der Abwesenheit von C-KIT (10%:  $p=0,024$ ; 20%:  $p=0,021$ ; 30%:  $p=0,001$ ).

Bezüglich des Tumorstadiums wiesen Patienten in einem niedrigen Stadium (I oder II) in 37,8% der Fälle einen Proliferationsindex >10% auf, während dieser Anteil bei Patienten mit einem hohen Stadium (III oder IV) bei 61,7% lag, ohne jedoch statistische Signifikanz zu erreichen ( $p=0,068$ ).

Ferner konnte keine statistisch signifikante Korrelation des erhöhten Proliferationsindexes Ki-67 mit dem Alter, dem T-Stadium, dem N-Stadium, HER2 und EGFR festgestellt werden.

#### 4.2.2 P53, HER2, EGFR und C-KIT

Tabelle 16 zeigt die Verteilung der immunhistochemischen Marker auf die Entitäten.

**Tab. 16** Immunhistochemie und Entität

Entität ø	P53		C-KIT		HER2		EGFR	
	≤10%	>10%	0	1+,2+,3+	0,1+	2+,3+	0,1+,2+	3+
Gesamt	83	12	41	55	67	31	62	35
ACC	24	1	<b>2</b>	<b>23***</b>	16	9	16	9
MEC	15	0	9	6	13	2	7	8
CXPA	<b>7</b>	<b>5**</b>	7	5	9	4	7	6
SDC	7	3	<b>11</b>	<b>0***</b>	<b>2</b>	<b>10***</b>	10	1
ACCC	10	1	2	8	8	3	10	1
PEC	4	1	4	1	3	2	1	4
MYEC	4	0	3	1	4	0	3	0
ADC	3	0	1	2	2	1	2	1
BCAC	2	0	0	3	3	0	2	1
LEC	2	1	2	1	3	0	1	2
OCC	1	0	0	1	1	0	0	1
CAC	1	0	0	1	1	0	1	0
UDC	1	0	0	1	—	—	1	0
PLGAC	1	0	0	1	1	0	1	0
ASC	1	0	0	1	1	0	0	1
Andere	20	2	10	13	19	3	12	10

ACC=Adenoïd-zystisches Karzinom, MEC=Mukoepidermoidkarzinom, CXPA=Karzinom aus pleomorphem Adenom, SDC=Speichelgangkarzinom, ACCC=Azinuszellkarzinom, PEC=Plattenepithelkarzinom, MYEC=Myoepitheliales Karzinom, ADC=Adenokarzinom NOS, BCAC=Basalzelladenokarzinom, LEC=Lymphoepitheliales Karzinom, OCC=Onkozytäres Karzinom, CAC=Zystadenokarzinom, UDC=Undifferenziertes Karzinom, PLGAC=Polymorphes low-grade Adenokarzinom, ASC=Adenosquamöses Karzinom

\* Signifikante Assoziationen (Fisher Exakt-Test). \*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ , \*\*\*  $p \leq 0,001$

ø Kreuztabelle vergleicht eine Entität gegenüber Restkollektiv.

Eine Expression von P53 wurde in insgesamt 12 (12,6%) Fällen gefunden und wies eine statistische Assoziation mit Karzinomen aus pleomorphen Adenomen ( $p=0,007$ ) auf.

## Ergebnisse

Eine Immunpositivität für C-KIT wurde in insgesamt 55 (57%) Fällen gefunden und zeigte sich stark ( $p=0,001$ ) mit den adenoid-zystischen Karzinomen (92%) assoziiert, wohingegen sich sämtliche Speichelgangkarzinome als C-KIT-negativ erwiesen ( $p=0,001$ ). Mangel an C-KIT trat ebenfalls gehäuft in Mukoepidermoidkarzinomen (60%), Karzinomen aus pleomorphen Adenomen (58%), Plattenepithelkarzinomen (80%) und myoepithelialen Karzinomen (75%) auf.

HER2 war in insgesamt 31 (32%) Fällen exprimiert, zu 83% in Speichelgangkarzinomen ( $p<0,001$ ). Keine HER2-Expression fand sich beim myoepithelialen Karzinom, dem Basalzelladenokarzinom, dem lymphoepithelialen Karzinom oder dem onkozytären Karzinom (Tab. 16).

EGFR zeigte sich in insgesamt 35 (36%) Fällen überexprimiert, mit vermehrtem Auftreten beim Plattenepithelkarzinom (80%) und dem Mukoepidermoidkarzinom (53%). Hingegen waren die meisten Azinuszellkarzinome (91%) negativ für EGFR.

In Tabelle 17 sind die Assoziation der immunhistochemischen Marker P53, C-KIT, HER2 und EGFR mit klinischen und histologischen Parametern dargestellt.

**Tab. 17** Klinisch-pathologische Parameter und immunhistochemische Marker

Variable	P53		C-KIT		HER2		EGFR	
	≤10%	>10%	0	1+,2+,3+	0,1+	2+,3+	0,1+,2+	3+
Gesamt	83	12	41	55	67	31	62	35
<b>Malignitätsgrad</b>								
G1+G2	51	4	<b>16</b>	<b>38</b>	42	17	38	17
G3	32	8	<b>25</b>	<b>17**</b>	25	17	24	18
<b>Alter (a)</b>								
<70	59	5	<b>22</b>	<b>44</b>	<b>50</b>	<b>16</b>	42	23
≥70	24	7	<b>20</b>	<b>11**</b>	<b>17</b>	<b>15*</b>	20	12
<b>T-Stadium</b>								
T1-T2	53	7	25	37	43	20	44	18
T3-T4	30	5	17	18	24	11	18	17
<b>N-Stadium</b>								
N0	58	8	<b>21</b>	<b>45</b>	49	18	44	23
N1-N3	25	4	<b>21</b>	<b>10***</b>	18	13	18	12
<b>Gesamtstadium</b>								
I+II	42	5	16	32	35	13	34	14
III+IV	41	7	25	23	32	18	28	21
<b>Residualtumor</b>								
R0	<b>67</b>	<b>6</b>	30	45	54	21	51	25
R1+R2	<b>16</b>	<b>6*</b>	11	10	13	10	11	10
<b>Rezidiv (n=92) #</b>								
Nein	62	7	26	45	50	22	51	21
Ja	15	2	9	7	11	6	8	9

\* Signifikante Assoziationen (Fisher Exakt-Test). \* p≤0,05, \*\* p≤0,01, \*\*\* p≤0,001

# nur operativ behandelte Fälle mit tumorfreiem Resektionsrand oder mikroskopischem Residualtumor mit Radiatio

Dabei korrelierte P53 mit der Präsenz eines Residualtumors ( $p=0,029$ ). Mangel an C-KIT zeigte sich mit hohem ( $\geq 70$  Jahren) Alter ( $p=0,004$ ), hohem Malignitätsgrad ( $p=0,002$ ), tumorpositiven Lymphknoten ( $p=0,002$ ), hoher (>30%) Ki-67-Zellproliferation ( $p=0,001$ ) und Expression von HER2 ( $p=0,045$ ) assoziiert. Die Expression von HER2 korrelierte neben dem Mangel an C-KIT mit hohem ( $\geq 70$  Jahren) Alter ( $p=0,036$ ). Für die EGFR-Überexpression konnten keine statistisch signifikanten Assoziationen mit klinischen oder histologischen Faktoren festgestellt werden. Bei Patienten mit Stadium I oder II zeigte sich in 29,8 % der Fälle eine Überexpression von EGFR, während Patienten mit Stadium III oder IV in 44,7 % der Fälle eine Überexpression von EGFR aufwiesen.

#### 4.2.3 Maspin

Die Maspinexpression wurde an den fünf häufigsten Karzinomen (Adenoid-zystisches Karzinom, Mukoepidermoidkarzinom, Karzinom aus pleomorphem Adenom, Speichelgangkarzinom und Azinuszellkarzinom) untersucht.

Wie aus Tabelle 18 entnommen werden kann wurde eine positive Maspinfärbung in 44 (60%) Proben gefunden. Die positive Kernfärbung (51%) war häufiger als die positive Zytoplasmfärbung (34%). Beim adenoid-zystischen Karzinom fand sich eine positive Kernfärbung in 18 (72%) Fällen, eine positive Zytoplasmfärbung in lediglich 6 (24%) Fällen. Beim Mukoepidermoidkarzinom und beim Karzinom aus pleomorphem Adenom fanden sich hohe Anteile sowohl Maspin-positiver Kern- (73% und 67%) als auch Zytoplasmfärbungen (60% und 67%). Das Speichelgangkarzinom zeigte eine zytoplasmatische Maspinexpression in lediglich 2 Fällen, während das Azinuszellkarzinom in allen Fällen Maspin-negativ war.

**Tab. 18** Maspinexpression in histologischen Subtypen

Entität	Maspin n+c		Maspin n		Maspin c		Gesamt
	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	
ACC	6	19	7	18	19	6	25
MEC	2	13	4	11	6	9	15
CXPA	2	10	4	8	4	8	12
SDC	8	2	10	0	8	2	10
ACCC	11	0	11	0	11	0	11
Gesamt	29	44	36	37	48	25	73

ACC=Adenoid-zystisches Karzinom, MEC=Mukoepidermoidkarzinom, CXPA=Karzinom aus pleomorphem Adenom, SDC=Speichelgangkarzinom, ACCC=Azinuszellkarzinom

n=nukleäre Färbung; c=zytoplasmatische Färbung; n+c=nukleäre und zytoplasmatische Färbung

Für die weitere assoziative Auswertung von Maspin wurden das adenoid-zystische Karzinom, das Mukoepidermoidkarzinom und das Karzinom aus pleomorphem Adenom zusammengefasst (Tab. 19).

**Tab. 19** Klinisch-pathologische Parameter und Maspinexpression (*n+c*) für ACC, MEC und CXPA (*n=52*)

Variable	Maspin negativ	Maspin positiv	P-Wert
<b>Malignitätsgrad</b>			
G1+G2	5	28	NS
G3	5	14	
<b>Alter (a)</b>			
<70	8	33	NS
≥70	2	9	
<b>T-Stadium</b>			
T1-T2	5	27	NS
T3-T4	5	15	
<b>N-Stadium</b>			
N0	3	37	<b>0,001</b>
N1-N3	7	5	
<b>Gesamtstadium</b>			
I-II	2	24	NS
III-IV	8	18	
<b>Residualtumor</b>			
R0	4	36	<b>0,006</b>
R1+R2	6	6	
<b>Rezidiv</b>			
Nein	7	35	NS
Ja	3	7	
<b>P53</b>			
Negativ	9	37	NS
Positiv	1	5	
<b>Gesamt</b>	10	42	

NS Nicht signifikant

In dieser Gruppe war der Verlust von Maspin (nuklear und zytoplasmatisch) mit Lymphknotenmetastasen ( $p=0,001$ ) und dem Vorhandensein von Residualtumor ( $p=0,006$ ) assoziiert. Keine signifikanten Korrelationen konnten mit dem Malignitätsgrad, dem Alter, dem T-Stadium, dem Gesamtstadium, dem Auftreten eines Rezidivs und der Expression von P53 festgestellt werden.

Bei Betrachtung des adenoid-zystischen Karzinoms separat, zeigte sich die negative Maspinfärbung mit positiven Lymphknoten ( $p=0,001$ ), erhöhtem Tumorstadium ( $p=0,009$ ) und vorhandenem Residualtumor ( $p=0,006$ ) assoziiert. Auch hier bestand keine signifikante Korrelation zum Malignitätsgrad der Tumoren.

### 4.3 Überleben und Prognose - Klinisch-pathologische Parameter

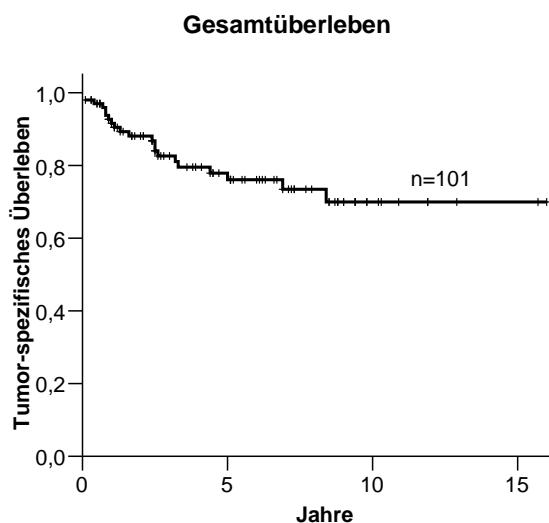
Der durchschnittliche Beobachtungszeitraum lag bei 4,7 Jahren (Minimum 50 Tage, Maximum 16,0 Jahre, Standardabweichung 3,7 Jahre) und ist für die häufigsten Tumorentitäten in Tabelle 20 dargestellt.

**Tab. 20** Durchschnittlicher Beobachtungszeitraum

Entität	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
ACC	25	0,3	10,3	4,4	3,5
MEC	15	0,3	16,0	7,0	4,4
CXPA	13	0,8	10,9	5,3	3,5
SDC	12	0,6	8,7	3,1	2,8
ACCC	11	0,1	11,9	5,4	3,7
Andere	25	0,1	12,9	3,8	3,6
Insgesamt	101	0,1	16,0	4,7	3,7

ACC=Adenoid-zystisches Karzinom, MEC=Mukoepidermoidkarzinom, CXPA=Karzinom aus pleomorphen Adenom, SDC=Speichelgangkarzinom, ACCC=Azinuszellkarzinom

Insgesamt sind 21 Patienten an ihrem Karzinom verstorben. Die 5- und 10-Jahresüberlebensrate aller Karzinome lag bei 76% bzw. 70% (Abb. 29).



**Abb. 29** Gesamtüberleben aller untersuchten Karzinome.

## Ergebnisse

---

Tabelle 21 zeigt die Ergebnisse der univariaten Überlebensanalyse (5- und 10-Jahresüberleben; statistische Signifikanzen fett gedruckt) für die häufigsten Entitäten sowie klinische und histologische Faktoren in dichotomisierter Unterteilung.

**Tab. 21** Univariate Überlebensanalyse klinischer und histologischer Variablen

Variable n	N	TSÜ %		P-Wert (log rank)
		5 Jahre	10 Jahre	
<b>Gesamt</b>	101	76	70	
<b>Entität (76)</b>				
ACC	25	77	77	0,80
MEC	15	91	76	
CXPA	13	76	76	
SDC	12	61	—	
ACCC	11	89	89	
<b>Geschlecht (101)</b>				
Männlich	50	76	76	0,87
Weiblich	51	77	67	
<b>Alter (101)</b>				
<70	69	85	76	<b>0,008</b>
≥70	32	51	51	
<b>Lokalisation (101)</b>				
Kleine Spd+ Submandibularis	33	92	84	<b>0,027</b>
Parotis	68	68	63	
<b>Malignitätsgrad (101)</b>				
G1 + G2	56	84	80	<b>0,012</b>
G3	45	65	56	
<b>T-Stadium (101)</b>				
T1-T2	65	85	80	<b>0,003</b>
T3-T4	36	60	50	
<b>N-Stadium (101)</b>				
N0	67	84	84	<b>0,000</b>
N1-N3	34	60	—	
<b>Gesamtstadium UICC (101)</b>				
I-II	48	88	88	<b>0,001</b>
III-IV	53	64	48	
<b>Residualtumor (101)</b>				
R0	78	88	80	<b>0,000</b>
R1+R2	23	26	—	

ACC=Adenoid-zystisches Karzinom, MEC=Mukoepidermoidkarzinom, CXPA=Karzinom aus pleomorphen Adenom,

SDC=Speichelgangkarzinom, ACCC=Azinuszellkarzinom

TSÜ=Tumorspezifisches Überleben

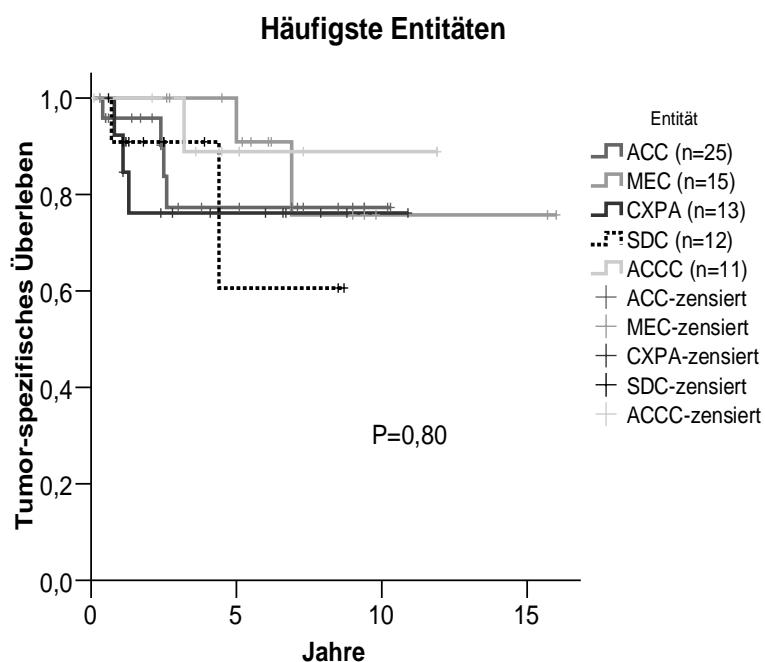
Spd=Speicheldrüse

Unter den häufigsten Entitäten (Abb. 30) erwies sich das Speichelgangkarzinom (5-Jahres-TSÜ 61%) als Tumor mit der schlechtesten Prognose, das Azinuszellkarzinom (5-Jahres-TSÜ

## Ergebnisse

---

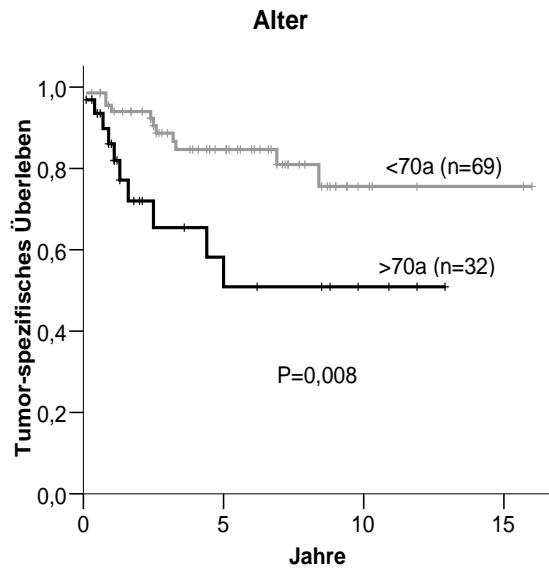
89%) als derjenige mit der besten. Das adenoid-zystische Karzinom, das Mukoepidermoidkarzinom und das Karzinom aus pleomorphem Adenom zeigten ähnliche Langzeitüberlebensraten (10-Jahres TSÜ 75-77%). Statistisch signifikante Unterschiede konnten zwischen den Entitäten jedoch nicht festgestellt werden ( $p=0,80$ ).



**Abb. 30** Überleben der häufigsten Entitäten.

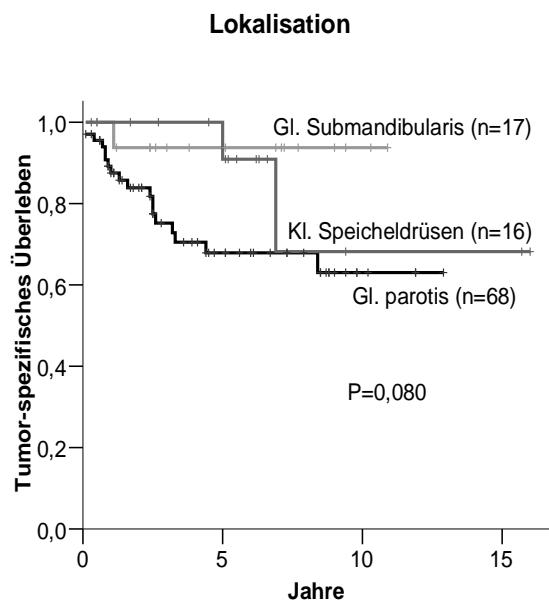
Für das Geschlecht zeigten sich hinsichtlich des Überlebens keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Bezüglich des Alters (Abb. 31) hingegen hatten alte Patienten ( $>70$ a) mit einer 5-Jahres-TSÜ von 51% eine schlechtere Überlebensrate als jüngere Patienten ( $<70$ a) mit einer 5-Jahres-TSÜ von 85% ( $p=0,008$ ).

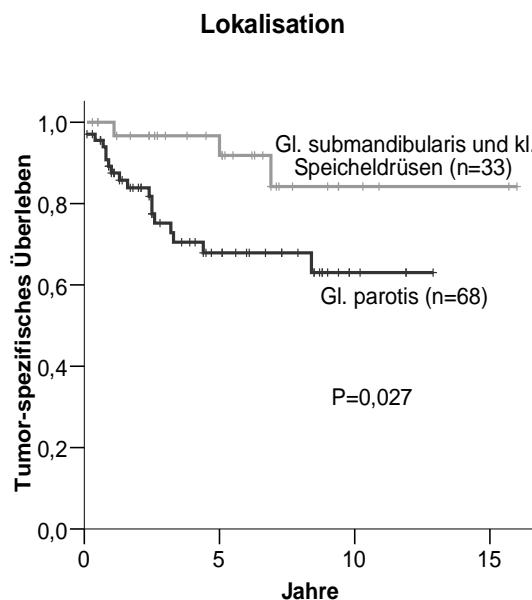


**Abb. 31** Alter

Hinsichtlich der Lokalisation zeigten die Tumoren der Gl. submandibularis mit einer 5-Jahres-TSÜ von 94% die beste Prognose (Abb. 32). Karzinome der Gl. parotis waren mit einem signifikant schlechteren Gesamtüberleben assoziiert ( $p=0,027$ ) als die Tumoren der Gl. submandibularis und die der kleinen Speicheldrüsen (Abb. 33).



**Abb. 32** Lokalisation

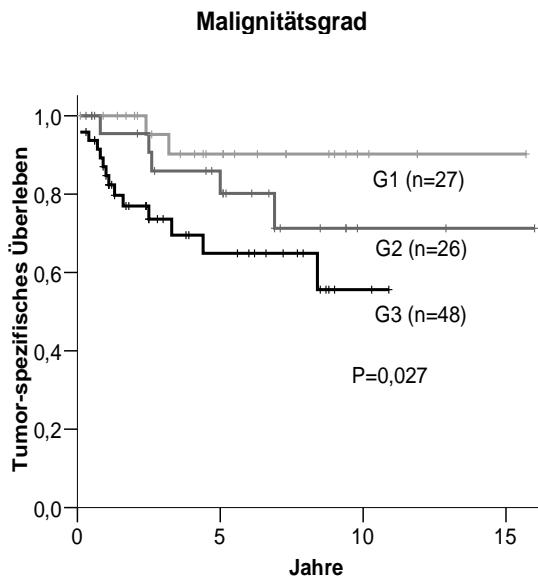


**Abb. 33** Lokalisation

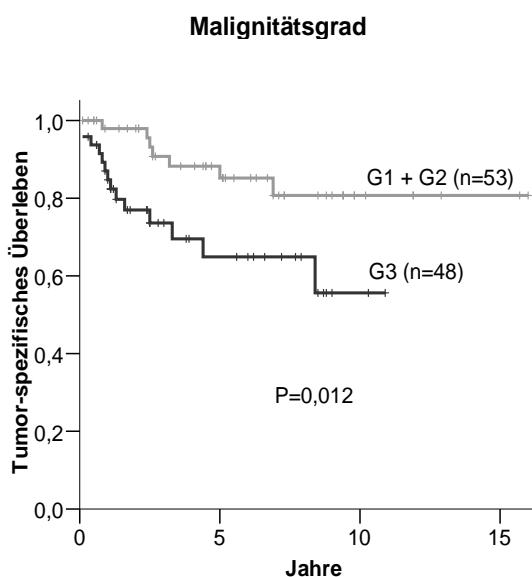
## Ergebnisse

---

Karzinome mit hohem Malignitätsgrad waren mit schlechteren Überlebensraten assoziiert ( $p=0,012$ ) als Karzinome mit niedrigem und intermediärem Malignitätsgrad (Abb. 35). Auch die Einteilung der Karzinome in drei Malignitätsgrade (Abb. 34) zeigte signifikante ( $p=0,027$ ) prognostische Unterschiede. Hingegen konnte innerhalb der häufigsten Entitäten keine Korrelation des Gradings mit dem Überleben festgestellt werden ( $p>0,05$ ).



**Abb. 34** Malignitätsgrad

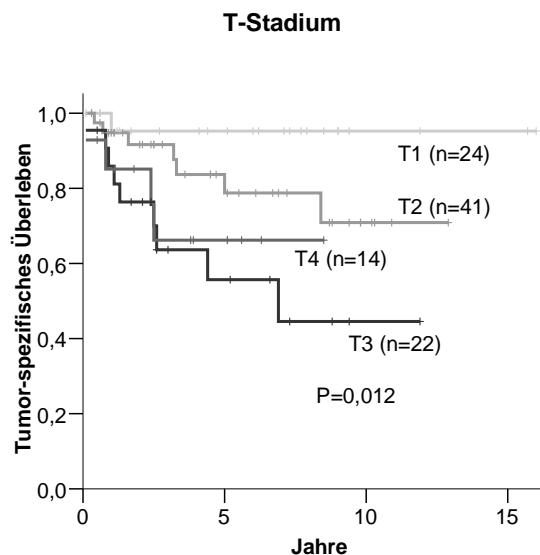


**Abb. 35** Malignitätsgrad

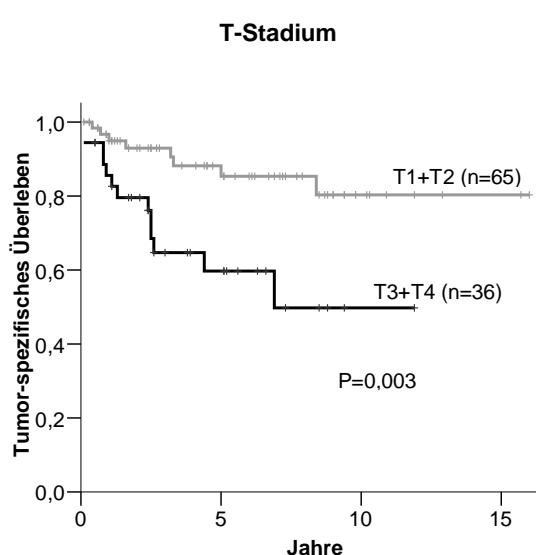
Bezüglich des TMN-Stadiums (Abb. 36-41) erwiesen sich alle Kategorien von prognostischer Bedeutung. Insgesamt korrelierten Fernmetastasen ( $p=0,000$ ), positive Lymphknoten ( $p=0,000$ ) und das fortgeschrittene (III+IV) Tumorgesamtstadium ( $p=0,001$ ) am stärksten mit niedrigeren Überlebensraten, gefolgt von größeren (T3, T4) T-Stadien ( $p=0,003$ ) (Abb. 37, 39, 41). Das T4-Stadium (Abb. 36) zeigte dabei ein besseres Überleben (5-Jahres-TSÜ 66%) als das T3-Stadium (5-Jahres-TSÜ 56%). Beim Nodalstatus zeigte der N2-Befall ein deutlich schlechteres 5-Jahres-TSÜ von 44% (Abb. 38) im Gegensatz zum N1-Befall (5-Jahres-TSÜ 89%). Beim Gesamtstadium war vor allem Stadium IV (Abb. 40) mit einer schlechteren Überlebensrate (5-Jahres-TSÜ 54%) assoziiert.

## Ergebnisse

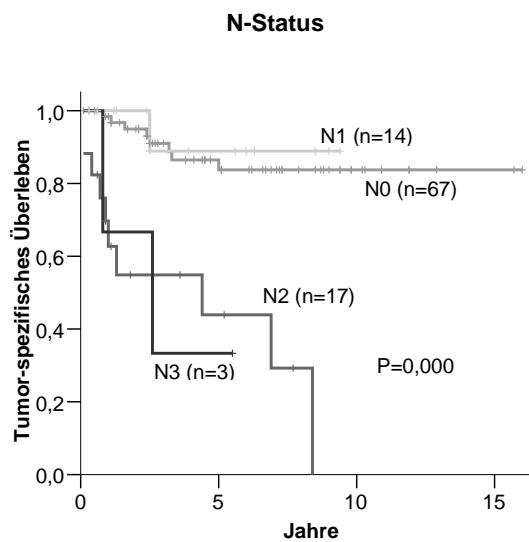
---



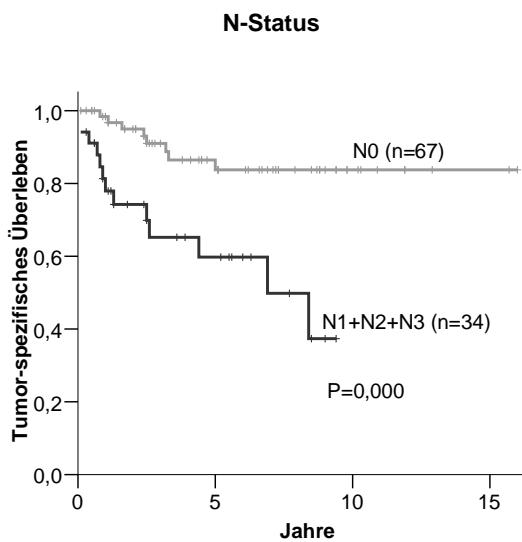
**Abb. 36** T-Stadium



**Abb. 37** T-Stadium



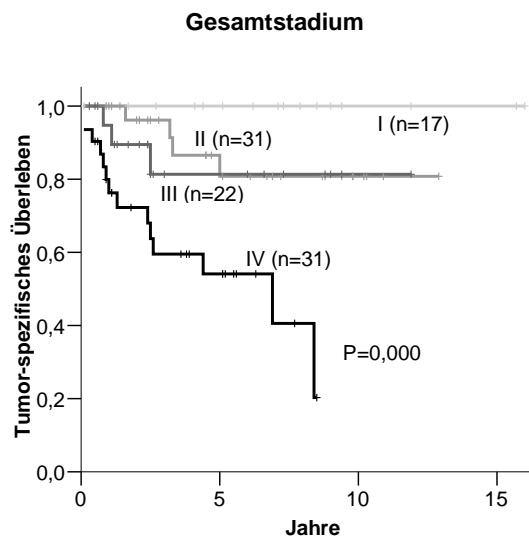
**Abb. 38** N-Status



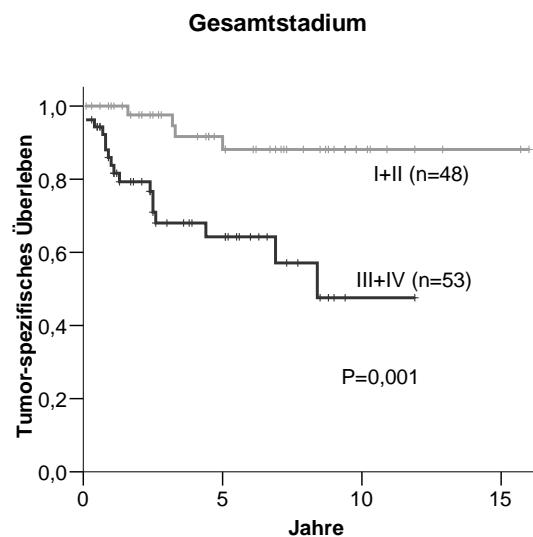
**Abb. 39** N-Status

## Ergebnisse

---

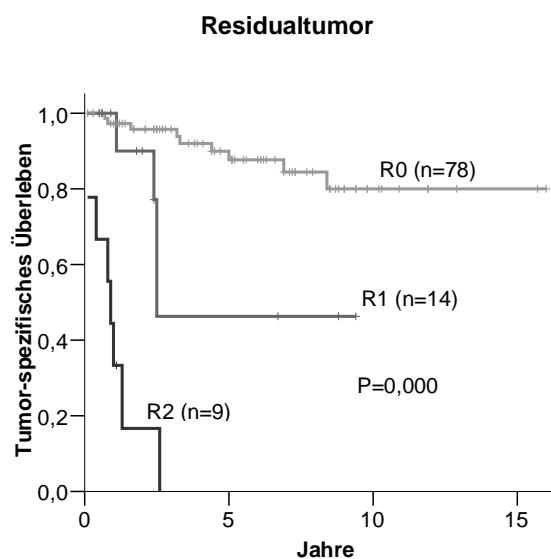


**Abb. 40** Gesamtstadium

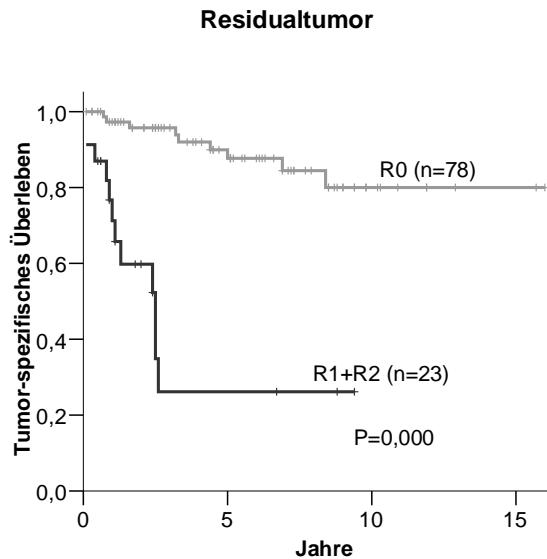


**Abb. 41** Gesamtstadium

Als sehr starker negativer Prediktor ( $p=0,000$ ) erwies sich die Präsenz von Residualtumor (R1+R2) nach chirurgischer Therapie (Abb. 43). Dabei zeigte auch der mikroskopische Residualtumor (R1) eine deutlich schlechtere Überlebensrate (5-Jahres-TSÜ 46%) (Abb. 42) als die Resektion „in sano“ (R0) (5-Jahres-TSÜ 88%).



**Abb. 42** Residualtumor



**Abb. 43** Residualtumor

## 4.4 Überleben und Prognose - Immunhistochemische Parameter

### 4.4.1 Ki-67, P53, HER2, EGFR und C-KIT

Tabelle 22 zeigt die Ergebnisse der univariaten Überlebensanalyse für die immunhistochemischen Variablen Ki-67, P53, HER2, EGFR und C-KIT.

**Tab. 22 Univariate Überlebensanalyse immunhistochemischer Variablen**

Variable n	n	TSÜ%		P-Wert (log rank)
		5 Jahre	10 Jahre	
<b>Ki-67 (97)</b>				
≤ 10%	50	86	81	<b>0,011</b>
> 10%	47	64	64	
<b>Ki-67 (97)</b>				
≤ 20%	68	83	79	<b>0,004</b>
> 20%	29	58	58	
<b>Ki-67 (97)</b>				
≤ 30%	81	83	80	<b>0,000</b>
> 30%	16	32	—	
<b>P53 (95)</b>				
P53 ≤ 10%	83	75	72	0,69
P53 > 10%	12	74	74	
<b>Her2/neu (98)</b>				
0, 1+	67	80	76	0,36
2+, 3+	31	60	60	
<b>EGFR (97)</b>				
0, 1+, 2+	62	85	85	<b>0,011</b>
3+	35	62	56	
<b>C-KIT (96)</b>				
0	41	63	54	<b>0,014</b>
1+, 2+, 3+	55	84	84	

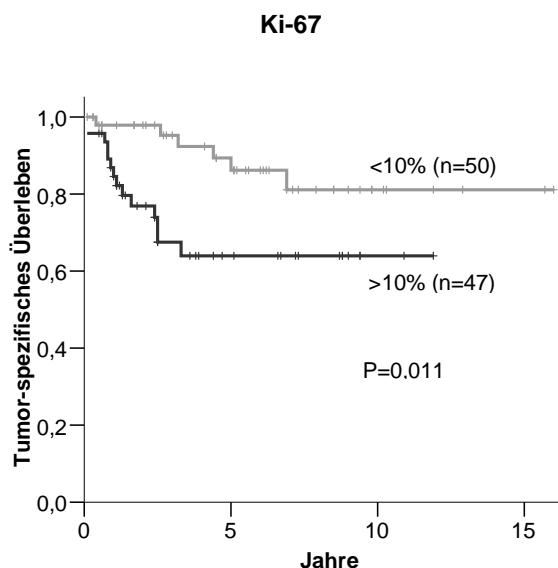
TSÜ=Tumorspezifisches Überleben

Für Ki-67 (Abb. 44-46) erwies sich die proliferative Aktivität in mehr als 30% der Zellen mit einer 5-Jahres-TSÜ von 32% als stärkster negativer prognostischer Faktor ( $p=0,000$ ). Jedoch waren auch Tumoren mit Ki-67>10% ( $p=0,011$ ) und Ki-67>20% ( $p=0,004$ ) mit statistisch signifikant schlechterem Gesamtüberleben assoziiert. Bei separater Untersuchung der

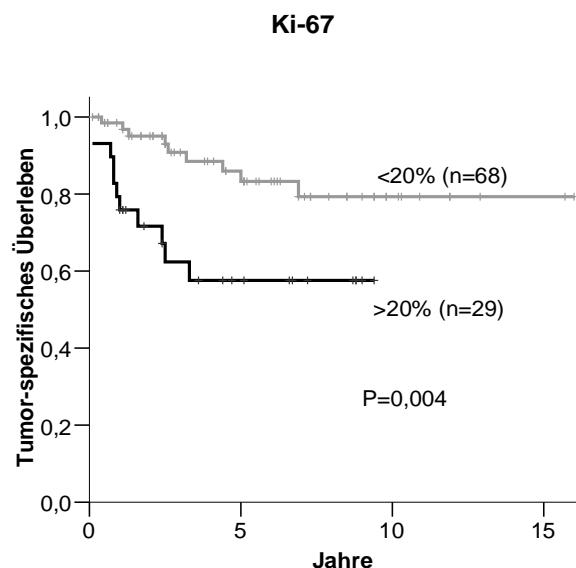
## Ergebnisse

häufigsten Entitäten (ACC, MEC, CXPA, SDC, ACCC) ergaben sich für erhöhte Ki-67-Werte keine statistisch signifikanten Korrelationen mit dem Überleben.

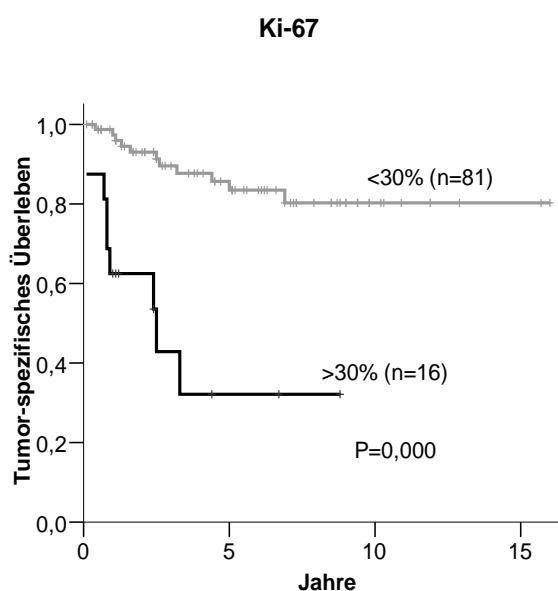
Für P53 (Abb. 47) konnte kein statistisch signifikanter Einfluss auf das Überleben festgestellt werden.



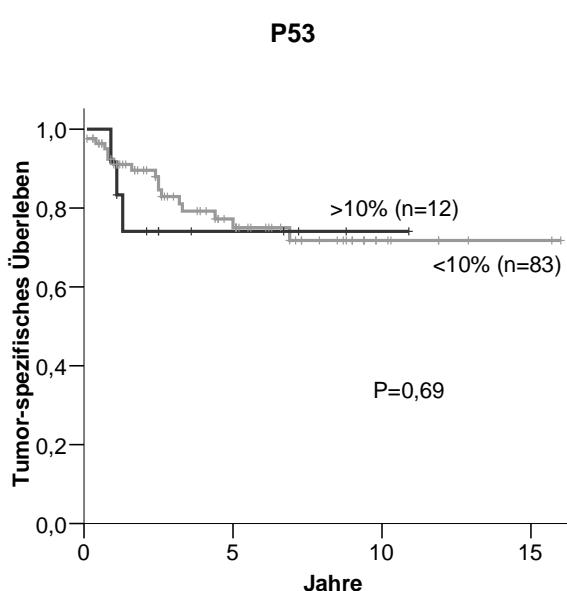
**Abb. 44** Ki-67; Schwellenwert 10%



**Abb. 45** Ki-67; Schwellenwert 20%



**Abb. 46** Ki-67; Schwellenwert 30%



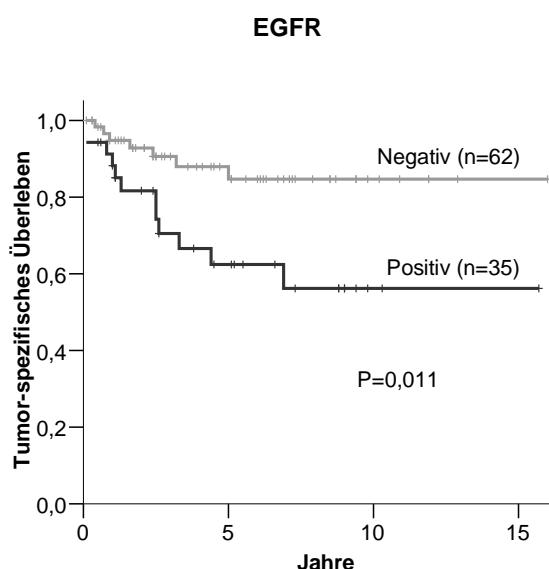
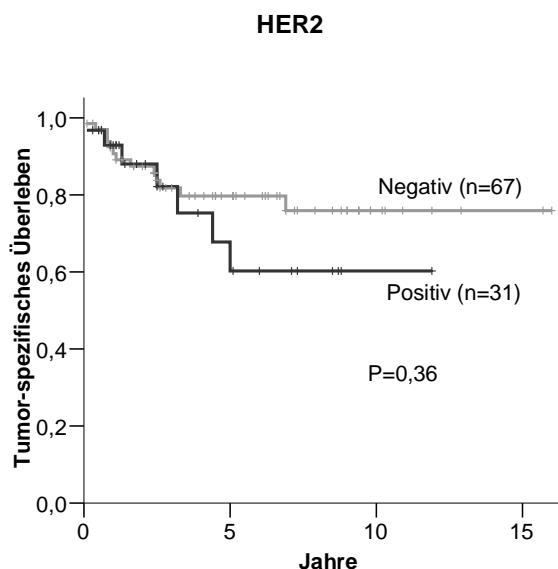
**Abb. 47** P53

## Ergebnisse

---

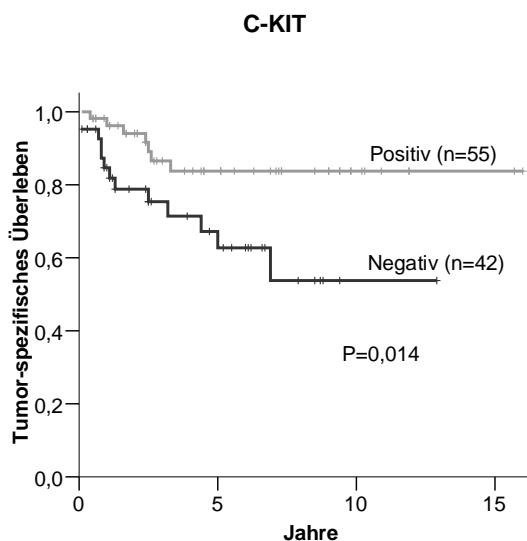
Für die Überexpression von HER2 (Abb. 48) konnten zwar niedrigere 5-Jahres Überlebensraten (60%) im Gegensatz zur fehlenden Expression (5-Jahres-TSÜ 80%) beobachtet werden, jedoch blieb die Diskrimination ohne statistische Signifikanz ( $p=0,36$ ).

Anders verhielt es sich bei EGFR und C-KIT (Abb. 49, 50). Bei EGFR zeigte sich die Überexpression (3+) mit signifikant schlechterem ( $p=0,011$ ) Gesamtüberleben assoziiert, während bei C-KIT der Mangel an C-KIT-Expression schlechtere ( $p=0,014$ ) Überlebensraten aufwies.



**Abb. 48** HER2

**Abb. 49** EGFR



**Abb. 50** C-KIT

Zusätzlich zum Gesamtkollektiv wurden die häufigsten Entitäten auch separat untersucht. Wenn auch in den meisten Fällen auf Grund der geringen Fallzahl ohne statistische Signifikanz, so konnten doch die zuvor erwähnten prognostischen Einflüsse der Überexpression von EGFR, des Mangels an C-KIT und der erhöhten proliferativen Aktivität bei einzelnen Histologien identifiziert werden. Beim Mukoepidermoidkarzinom zeigten sich Mangel an C-KIT ( $p=0,13$ ) und Positivität für HER2 ( $p=0,002$ ) mit schlechterem Überleben assoziiert. Zusätzlich war hier der Mangel an C-KIT mit fortgeschrittenem Tumorstadium assoziiert ( $p=0,021$ ). Beim Karzinom aus pleomorphen Adenom zeigte sich ein prognostischer Einfluss von C-KIT ( $p=0,13$ ), EGFR ( $p=0,03$ ) und KI-67 ( $p=0,22$ ). Beim Azinuszellkarzinom korrelierte die Negativität für C-KIT ( $p=0,008$ ) ebenfalls mit schlechteren Überlebensraten. Im Gegensatz dazu konnte beim adenoid-zystischen Karzinom sowie dem Speichelgangkarzinom kein prognostischer Einfluss der Rezeptortyrosinkinasen demonstriert werden.

In der multivariaten Analyse (Cox Regression) klinischer, histologischer und immunhistochemischer Variablen (Tab. 23) erwiesen sich die hohe (>30%) Expression von

## Ergebnisse

---

Ki-67 ( $p=0,002$ ), die Präsenz von Residualtumor ( $p=0,006$ ), die Überexpression von EGFR ( $p=0,026$ ) sowie das fortgeschrittene Tumorstadium ( $p=0,041$ ) als stärkste prognostische Faktoren für das tumor-spezifische Überleben. Innerhalb dieser vier Variablen korrelierte das fortgeschrittene Tumorstadium mit der Präsenz von Residualtumor ( $r=0,42$ ) in der Rangkorrelation nach Spearman. Die Expression von Ki-67 und EGFR hingegen zeigten sich als unabhängige prognostische Parameter.

**Tab. 23** Multivariate Analyse (Cox regression – schrittweise rückwärts): P-Werte

Variable (n)	Kodierung	Multivariaten (n=96)				
		Schritt 1	Schritt 2	Schritt 3	Schritt 4	HR (95% CI)
Alter (101)	<70y / ≥ 70y	0.613	0.626	0.453		1.53 (0.50-4.68)
Malignitätsgrad (101)	G1+G2 / G3	0.765	0.784			1.21 (0.31-4.71)
Gesamtstadium (101)	I+II / III+IV	0.080	0.081	0.058	<b>0.041</b>	3.81 (1.05-13.80)
Residualtumor (101)	R0 / R1+R2	0.008	0.007	0.006	<b>0.006</b>	5.30 (1.63-17.25)
Ki-67 (97)	≤30% / >30%	0.031	0.026	0.017	<b>0.002</b>	5.50 (1.83-16.52)
EGFR (97)	0,1+,2+ / 3+	0.046	0.046	0.039	<b>0.026</b>	3.04 (1.14-8.10)
HER2 (98)	0,1+ / 2+,3+	0.152	0.155	0.144	0.066	2.65 (0.94-7.46)
C-KIT (96)	1+,2+,3+ / 0	0.893				0.91 (0.30-3.99)

n=Patientenanzahl; HR=Hazard Ratio; CI=Konfidenzintervall,

### 5.4.1 Maspin

Bezüglich Maspin wurden Überlebensanalysen für das adenoid-zystische Karzinom als häufigste Entität separat und in Kombination mit dem Mukoepidermoidkarzinom und dem Karzinom aus pleomorphem Adenom durchgeführt, da diese drei Histologien eine ähnliche (mittlere) Prognose besitzen.

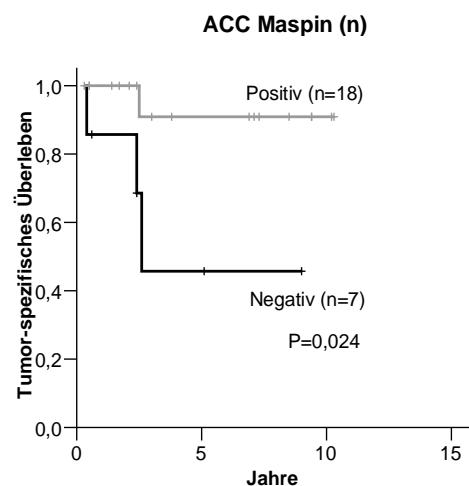
#### Adenoid-zystisches Karzinom

Beim adenoid-zystischen Karzinom (ACC) zeigte sich der Verlust nukleären Maspins (Abb. 51) in der univariaten Analyse mit schlechterem Überleben assoziiert ( $p=0,037$ ) während der

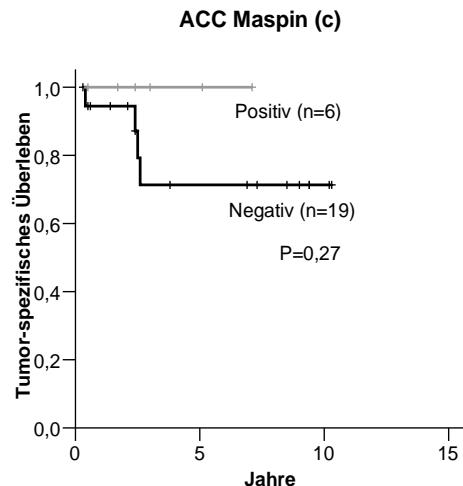
## Ergebnisse

---

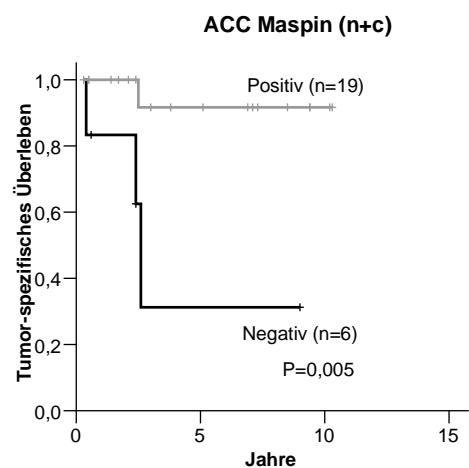
Verlust zytoplasmatischen Maspins (Abb. 52) ohne statistisch signifikanten Einflus ( $p=0,27$ ) blieb. Den stärksten prognostischen Einfluss ( $p=0,005$ ) beim adenoid-zystischen Karzinom zeigte der kombinierte Verlust sowohl des nukleären als auch zytoplasmatischen Maspins (Abb. 53) mit einem 5-Jahres-Überleben von 31,3%.



**Abb. 51** Maspin (nuklear) bei ACC



**Abb. 52** Maspin (zytoplasmatisch) bei ACC



**Abb. 53** Maspin (nuklear und zytoplasmatisch) bei ACC

Adenoid-zystisches Karzinom, Mukoepidermoidkarzinom und Karzinom aus pleomorphem

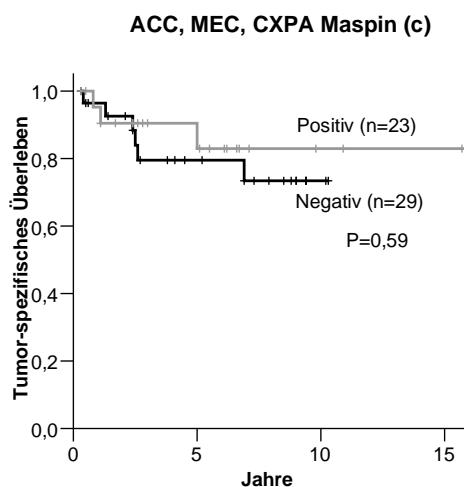
Adenom

In dieser Gruppe zeigte die negative nukleäre Maspinexpression (Tab. 24, Abb. 54-56) ebenfalls signifikant geringere Überlebensraten als die positive Färbung ( $p=0,037$ ), im Gegensatz zu den Ergebnissen des zytoplasmatischen Maspinverlusts ( $p=0,59$ ). Der Verlust sowohl nukleären als auch zytoplasmatischen Maspins erwies sich auch in diesem Kollektiv am stärksten mit geringerem Überleben assoziiert ( $p=0,002$ ).

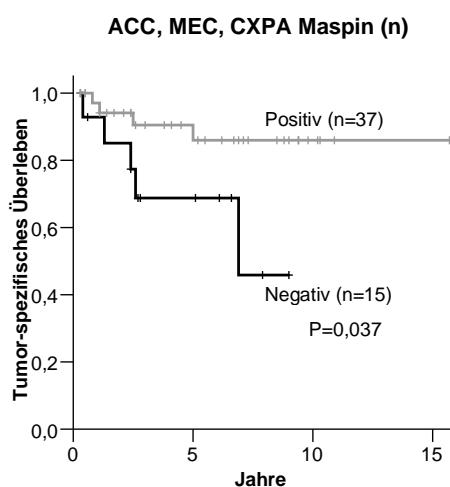
**Tab. 24** Univariate Analyse von Maspin beim ACC, MEC und CXPA

Variable n	n	TSÜ%		P-Wert (log rank)
		5 Jahre	10 Jahre	
<b>Maspin c (n=52)</b>				
Negativ	29	80	73	0,59
Positiv	23	83	83	
<b>Maspin n (n=52)</b>				
Negativ	15	69		<b>0,037</b>
Positiv	37	86	86	
<b>Maspin n+c (n=52)</b>				
Negativ	10	54,0		<b>0,002</b>
Positiv	42	87,6	87,6	

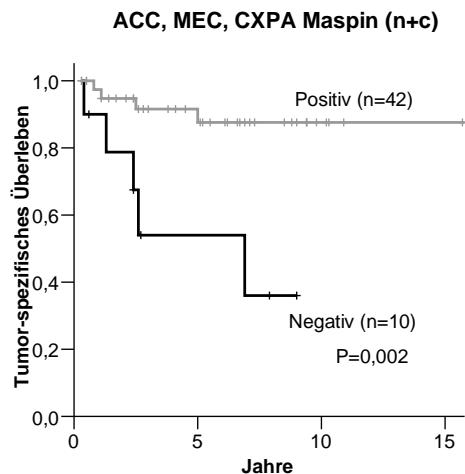
TSÜ=Tumorspezifisches Überleben



**Abb. 54** Maspin (zytoplasmatisch)



**Abb. 55** Maspin (nuklear)



**Abb. 56** Maspin (nuklear und zytoplasmatisch)

In der multivariaten Überlebensanalyse (Tab. 25) dieser Gruppe, unter Hinzunahme der klinischen Parameter Alter, T-Stadium, N-Stadium, R-Status, zeigte sich das Alter ( $p=0,005$ ) als stärkster prognostischer Faktor, gefolgt von Verlust sowohl nukleären als auch zytoplasmatischen Maspins ( $p=0,036$ ). In der Spearman Rangkorrelationsbestimmung korrelierte der Verlust von Maspin mit tumorpositiven Lymphknoten ( $r=0,54$ ) und dem Vorhandensein von Residualtumor ( $r=0,43$ ), wohingegen sich das Alter  $\geq 70$  Jahre als unabhängiger prognostischer Parameter in diesem Tumorkollektiv erwies.

**Tab. 25** Uni- und multivariate Analyse klinisch-pathologischer Variablen und Verlust von Maspin mittels Cox Regressionsanalyse

Variable	Negativer Prediktor	Univariate Analyse		Multivariate Analyse	
		Hazard Ratio (95% CI)	P-Wert	Hazard Ratio (95% CI)	P-Wert
Alter	$\geq 70$ a	5.20 (1.38 – 19.54)	<b>0.015</b>	15.22 (2.23 – 103.72)	<b>0.005</b>
T-Stadium	T3-T4	8.12 (1.65 – 39.98)	<b>0.010</b>	8.27 (0.63 – 108.95)	0.11
N-Stadium	N+	3.09 (0.83 – 11.55)	0.093	0.27 (0.03 – 2.30)	0.23
R-Status	R+	10.91 (2.69 – 44.29)	<b>0.001</b>	3.98 (0.49 – 32.27)	0.20
Maspin	Verlust	6.39 (1.71 – 23.93)	<b>0.006</b>	9.88 (1.16 – 84.25)	<b>0.036</b>

CI Konfidenzintervall

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Methodik

Karzinome der Speicheldrüsen unterscheiden sich von anderen soliden Tumoren vor allem durch die sehr große Anzahl an histologischen Subtypen (24 nach WHO 2005) [Barnes *et al.*, 2005]. Dies hat zur Folge, dass bestimmte Histologien dieser ohnehin seltenen Tumoren in sehr geringen Fallzahlen auftreten, welche keine statistisch validen Auswertungen zulassen. So fanden sich in der eigenen Studie insgesamt 15 verschiedene Entitäten, von den 10 eine Fallzahl weniger als 5 aufwiesen. Dies erklärt die Schwäche dieser Studie und der Studien zu prognostischen Faktoren bei Speicheldrüsenkarzinomen im Allgemeinen. Die meisten der in der Literatur beschriebenen Untersuchungen beschränken sich entweder auf die häufigsten Subtypen wie das adenoid-zystische Karzinom [Khan *et al.*, 2001; da Cruz Perez *et al.*, 2006] oder das Mukoepidermoidkarzinom [Auclair *et al.*, 1992; Skalova *et al.*, 1994a] oder beschreiben prognostische Parameter im Gesamtkollektiv bestehend aus verschiedenen Entitäten [Therkildsen *et al.*, 1998; Terhaard *et al.*, 2004; Bhattacharyya and Fried, 2005]. Letztere Vorgehensweise ermöglicht zwar höhere und somit statistisch auswertbare Fallzahlen, jedoch beziehen sich die Ergebnisse auf ein inhomogenes Kollektiv verschiedenster Tumorsubtypen, welche unterschiedliche klinische Verläufe und Prognosen aufweisen können. In der vorliegenden Untersuchung wurde einerseits das Gesamtkollektiv von 101 Malignomen untersucht, andererseits wurden die fünf häufigsten Entitäten (ACC, MEC, CXPA, SDC, ACCC) separat ausgewertet. Da diese Einzelgruppen mit Ausnahme des adenoid-zystischen Karzinoms (n=25) zwischen 11 und 14 Tumoren umfassen, ist die statistische Aussagekraft der separaten Auswertungen limitiert. Dennoch zählt die vorliegende klinisch-pathologische Analyse mit 101 Karzinomen zu den größeren monozentrischen

Studien, da es sich bei den Analysen mit höheren Fallzahlen oftmals um Auswertungen landesweiter Tumorregister handelt [Therkildsen et al., 1998; Wahlberg et al., 2002; Terhaard et al., 2004; Luukkaa et al., 2005]. Diese wurden rein retrospektiv und ohne zusätzliche experimentelle (Immunhistochemie, Molekularbiologie) Untersuchungen durchgeführt.

Aufgrund der sehr geringen Fallzahlen einzelner Karzinomentitäten stellt die exakte Zuordnung des histologischen Subtyps für den Pathologen in der Routinediagnostik eine große Herausforderung dar. In vielen Fällen unterstützen immunhistochemische Untersuchungen durch spezifische Expressionsmuster diese Subtypisierung [Meer and Altini, 2007] und so sollte auch in dieser Studie die Entitäten-spezifische Expression der verwendeten aktuellen Marker beurteilt werden. Ein weiterer Grundgedanke dieser Arbeit war, immunhistochemische Parameter zu evaluieren, welche unabhängig vom histologischen Subtyp eine Aussage bezüglich der Prognose des betroffenen Patientens zulassen.

Die Verwendung immunhistochemischer Analysen besitzt grundsätzlich einige spezifische Vorteile: Die Untersuchungstechnik ist in der Routine weit verbreitet, die Kosten sind relativ gering, die immunhistochemischen Schnittpräparate sind einfach aufzubewahren und die Diagnostik erfolgt an einem laborüblichen Lichtmikroskop. Als nachteilig zu werten ist dagegen die unterschiedliche Sensitivität und Spezifität der verwendeten Antikörper, die Anwendung eines subjektiven Scoringsystem sowie der hohe Einfluss der Aufbereitungsmethoden.

Eine Möglichkeit der zusätzlichen Standardisierung immunhistochemischer Färbungen besteht in der Verwendung von computergesteuerten Färbeautomaten wie dies in der vorliegenden Arbeit geschehen ist. Diese ermöglichen sichere, konstante und reproduzierbare Färbungen sowohl im diagnostischen Routineablauf, vor allem aber auch im Rahmen von vergleichenden Studien mit höheren Fallzahlen. Darauf hinaus verkürzt sich der zeitliche Aufwand pro Färbung.

Ein struktureller Kritikpunkt der Arbeit besteht im retrospektiven Studiendesign. Dieses beinhaltet in einigen Fällen eine unvollständige Datenerfassung. Systemische Irrtümer der Auswahl, die sogenannte Bias, können nicht ausgeschlossen werden. Neue, bisher nicht bekannte prognostische Faktoren sind zumeist nicht gleichmäßig auf Test- und Kontrollgruppe verteilt, weshalb ihre statistische Relevanz gelegentlich fraglich scheint [Lorenz, 1981]. Auch beim eigenen Patientenkollektiv handelt es sich nicht um eine homogene Test bzw. Kontrollgruppe gleicher Fallzahl, vielmehr ist es wie oben beschrieben durch zahlreiche Subgruppen verschiedener Speicheldrüsenkarzinome in unterschiedlichen Fallzahlen gekennzeichnet. So könnte eine veränderte Zusammensetzung des Kollektivs möglicherweise einen Einfluss auf die Prognoseergebnisse der untersuchten neuen immunhistochemischen Parameter haben.

Trotz struktureller Nachteile sind retrospektive Untersuchungen dennoch von unverzichtbarer Bedeutung, zumal, wenn sie mit zusätzlichen experimentellen Untersuchungen, wie in dieser Arbeit erfolgt, korreliert werden. Gerade explorative Analysen können Hypothesen formulieren, die dann in prospektiven Studien validiert werden [Lorenz, 1981]. So wird in dieser Studie an Speicheldrüsenkarzinomen unter anderem die Expression von Rezeptortyrosinkinasen untersucht, die als Angriffspunkte aktueller molekularbiologischer Antikörpertherapien dienen und Gegenstand prospektiver klinischer Studien sind [Hotte et al., 2005; Laurie and Licitra, 2006; Locati et al., 2008].

Um die Vollständigkeit der Daten, vor allem derer im Langzeitverlauf, weitestgehend zu gewährleisten, wurde ein Großteil der Patienten persönlich telefonisch kontaktiert bzw. Kontakt mit den behandelten Hausärzten aufgenommen.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 Deskriptive Analyse - Klinisch-pathologische Parameter

#### 5.2.1.1 Tumorhistologie

Unter 101 Patienten mit einem malignen epithelialen Tumor der Speicheldrüsen konnten 15 verschiedene Entitäten differenziert werden, wobei das adenosquamöse Karzinom als Entität nicht in der WHO-Klassifikation aufgeführt ist, sein histologisches Wachstumsmuster jedoch keinem anderen Tumor eindeutig zuzuordnen war. Das adenoid-zystische Karzinom erwies sich mit 24,8% als häufigste Histologie und liegt damit im oberen Bereich der in der Literatur angegebenen 10-27% für diesen Tumor [Ellis and Auclair, 1996; Loning and Jakel, 2004; Terhaard et al., 2004; Luukkaa et al., 2005]. Es folgte das Mukoepidermoidkarzinom mit einem Anteil von 14,9%. Für dieses Karzinom sind in den großen Speicheldrüsentumorregister des „Armed Forces Institute of Pathology“ (AFIP) sowie des deutschen Referenzinstituts der Universität Hamburg höhere Anteile von 35% bzw. 25% beschrieben [Ellis and Auclair, 1996; Loning and Jakel, 2004]. Das Karzinom aus pleiomorphem Adenom liegt mit einem Anteil von 12,9% etwas über den in der Literatur angegeben 3,4-10% [Ellis and Auclair, 1996; Loning and Jakel, 2004; Luukkaa et al., 2005]. Die Häufigkeit der diagnostizierten Azinuszellkarzinome (10,9%) wiederum entspricht den beschriebenen 4-17% für diesen Subtyp [Eveson and Cawson, 1985; Wahlberg et al., 2002; Luukkaa et al., 2005]. Das Adenokarzinom wurde in älteren Evaluationen mit einem Anteil von bis zu 20% oftmals als zweithäufigster maligner Tumor angegeben [Ellis and Auclair, 1996]. Dabei wurden in dieser Gruppe auch Tumoren beschrieben, die heute eher anderen, spezifischeren Subtypen wie z.B. dem duktalen Adenokarzinom (Speichelgangkarzinom) oder

dem polymorphen low-grade Adenokarzinom zugeordnet würden [*Auclair and Van der Wal, 2005*]. Aktuellere Studien bezifferten das Adenokarzinom NOS auf 3,4-10% [*Speight and Barrett, 2002; Luukkaa et al., 2005*]. In der vorliegenden Untersuchung fanden sich lediglich 3 Adenokarzinome von Typ NOS (2,9%), hingegen lag der Anteil der Speichelgangkarzinome bei 11,9%. Die Verteilung der Plattenepithelkarzinome (5%), myoepithelialen Karzinome (4%) und die der restlichen Entitäten entspricht den in der Literatur angeführten Häufigkeiten [*Eveson and Cawson, 1985; Spiro, 1986; Ellis and Auclair, 1996*].

Die Auswertung des eigenen Patientenguts bezüglich der Entitäten ergab somit abgesehen von dem geringeren Anteil an Mukoepidermoidkarzinomen ein repräsentatives Verteilungsmuster.

### **5.2.1.2 Lokalisation, Alters- und Geschlechtsverteilung**

Zwei Drittel der Speicheldrüsenkarzinome entstammen der Gl. parotis, die restlichen Tumoren verteilen sich zu etwa gleichen Anteilen auf die Gl. submandibularis und die kleinen Speicheldrüsen [*Eveson et al., 2005; Luukkaa et al., 2005*]. Dieses Verteilungsmuster konnte auch in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. 67% der Karzinome entstanden demnach in der Ohrspeicheldrüse, 17% in der Gl. submandibularis und 16% in den kleinen Speicheldrüsen. Unter den Tumoren der kleinen Speicheldrüsen fanden sich entsprechend den Angaben in der Literatur [*Spiro, 1986; Terhaard et al., 2004; Pires et al., 2007*] der Gaumen und der Mundboden/Zungengrund als häufigste Lokalisation. Der hohe Anteil der adenoidzystischen Karzinome an den Tumoren der Gl. submandibularis (53%) unterstreicht dessen bevorzugte Lokalisation in dieser Drüse [*Eveson and Cawson, 1985; Di Palma et al., 2006*]. Auffällig erscheint das Mukoepidermoidkarzinom, welches sich in dieser Studie zu 73% in den kleinen Speicheldrüsen manifestierte, üblicherweise aber bevorzugt in den großen

Speicheldrüsen lokalisiert liegt. Sein Anteil an allen Karzinomen der kleinen Speicheldrüsen lag mit 69% etwas über den Angaben von YIH et al. (47,9%) und PIRES et al. (51,9%), wonach es sich in der Regel bei jedem zweiten Karzinom der kleinen Speicheldrüsen um ein Mukoepidermoidkarzinom handelt [Yih et al., 2005; Pires et al., 2007].

Die WHO gibt für Patienten mit malignen Speicheldrüsentumoren ein durchschnittliches Erkrankungsalter von 47 Jahren an [Eveson et al., 2005]. Dagegen lag das Erkrankungsalter in der eigenen Untersuchung mit einem Mittelwert von 58,9 Jahren deutlich höher, was zum Teil auf den erheblichen Anteil an Speichelgangkarzinomen zurückzuführen ist. So wurde für diese Tumoren ein auffallend hohes Erkrankungsalter von 72,9 Jahren ermittelt, welches die Angaben der WHO (über 50 Jahre) sowie die einer Studie von JAEHNE et al. (62,5 Jahre) deutlich übertrifft [Brandwein-Gensler et al., 2005; Jaehne et al., 2005]. Das relativ junge Erkrankungsalter der Patienten mit einem Mukoepidermoidkarzinom von durchschnittlich 48,9 Jahren entspricht in etwa den in der WHO angegebenen 45 Jahren [Goode and El-Naggar, 2005]. Generell zeigte sich ein hohes Patientenalter mit high-grade Tumoren assoziiert.

Im Gegensatz zur WHO, die bei Speicheldrüsenkarzinomen ein Überwiegen des weiblichen Geschlechts beschreibt [Eveson et al., 2005], fand sich in der vorliegenden Untersuchung insgesamt ein ausgewogenes Verhältnis zwischen männlichen und weiblichen Patienten. Jedoch zeigten sich auch hier tumorsubtypspezifische Geschlechtsvariationen. So betrafen das Karzinom aus pleiomorphem Adenom und das Speichelgangkarzinom bevorzugt das männliche Geschlecht, während das Mukoepidermoidkarzinom, das Azinuszellkarzinom und das adenoid-zystische Karzinom, letzteres vor allem bei Befall der Gl. submandibularis, eher beim weiblichen Geschlecht auftraten.

### 5.2.1.3 Klinische Symptomatik - Schmerzen und Fazialisparese

Übliche „Leitsymptome“ für malignes Wachstum wie rapid-progressives Wachstum bzw. Wachstumsschübe, Schmerzen, Fazialisparese, Lymphknotenmetastasen oder Hautinfiltrationen gelten für Speicheldrüsenerkarzinome nur bedingt, da sich 65-80% aller Speicheldrüsennalignome als singuläre Raumforderung ohne zusätzliche Symptome – analog zu den benignen Tumoren – präsentieren [[Lang et al., 2005b](#)]. SPIRO and SPIRO bezifferten das Auftreten von Schmerzen bei einem Malignom der Ohrspeicheldrüse auf 12-32% im Gegensatz zu 2,5-4% bei benignen Veränderungen, weshalb Schmerzangaben dennoch als Hinweis auf einen malignen Prozess gewertet werden sollten [[Spiro and Spiro, 2003](#)]. In den eigenen Untersuchungen konnte bei 40% der Patienten eine Schmerzempfindung - zumeist intermittierend, ziehend und stechend - anamnestisch eruiert werden, ohne signifikante Zuordnung zu bestimmten Histologien. Für das aufgrund seiner Tendenz zu perineuralem Wachstum oftmals mit Schmerzen einhergehende adenoid-zystische Karzinom [[El-Naggar and Huvos, 2005](#)] lag der Anteil bei 48%. Palpatorisch imponierten die meisten Karzinome des untersuchten Kollektivs als derbe, schmerzlose und zum Teil schlecht verschiebbliche Raumforderungen.

Von den 68 Patienten mit einem Karzinom der Gl. parotis zeigten 8 Patienten (12%) eine partielle oder komplett Fazialisparese zum Zeitpunkt der Erstvorstellung. Dies entspricht exakt den Angaben von ENEROTH, der bei 46 von 378 Patienten (12%) mit Parotismalignomen das Vorliegen einer Fazialisparese beobachten konnte [[Enerothe, 1972](#)]. TERHAARD et al. ermittelten bei 324 Patienten einen Anteil von 21% mit einer präoperativen Fazialisparese und beschrieben eine Korrelation dergleichen mit höheren T- und N-Stadien [[Terhaard et al., 2006](#)]. Dieser Zusammenhang konnte in der eigenen Untersuchung bestätigt werden, während ein vermehrtes Auftreten von Fazialisparesen bei adenoid-zystischen Karzinomen [[El-Naggar and Huvos, 2005](#)] nicht belegt werden konnte.

Hingegen fand sich bei den duktalen Adenokarzinomen mit 27% (3 von 11) ein relativ hoher Anteil an Fazialisparesen zum Diagnosezeitpunkt, entsprechend den von DELGADO et al. angegebenen 25% und mehr [[Delgado et al., 1993](#)].

#### **5.2.1.4 Grading**

Ein für alle Speicheldrüsen allgemeingültiges Graduierungssystem (Grading) der histologischen Malignität konnte aufgrund der großen Vielfalt an strukturellen und zytologischen Differenzierungsformen bislang nicht etabliert werden. So ist nicht geklärt, ob ein dreigliedriges (G1, G2, G3) oder ein zweigliedriges (low-grade, high-grade) System angewandt werden soll.

Nach dem in der vorliegenden Untersuchung praktizierten Graduierungssystem wurde insgesamt 48% der Tumoren ein hoher Malignitätsgrad (G3) zugeschrieben, was in etwa mit den Angaben vergleichbarer Studien (47-51%) übereinstimmt [[Zbaren et al., 2003; Lima et al., 2005](#)]. Diese Karzinome zeigten sich entsprechend den Ergebnissen von RODRIGUEZ-CUEVAS et al. und ARMSTRONG et al. mit dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen und fortgeschrittenen Tumorstadien assoziiert [[Armstrong et al., 1992; Rodriguez-Cuevas et al., 1995](#)].

Unter den adenoid-zystischen Karzinomen fanden sich 36% vom soliden (G3) Typ, während von den Mukoepidermoidkarzinomen lediglich ein Tumor (6,7%) als high-grade klassifiziert wurde. Beim Karzinom aus pleomorphem Adenom entsprach die maligne Komponente in 77% der Fälle einem hochmalignen (G3) Tumor, was die Forderung mancher Autoren [[Lewis et al., 2001; Loning and Jakel, 2004](#)], dieses Karzinom generell als hochmaligne zu klassifizieren, erklärt.

Eine Korrelation des durchgeführten Gradings mit klinischen Parametern konnte für diese Subtypen nicht festgestellt werden. Als Grund hierfür darf sicherlich auch ihre geringe Fallzahl angeführt werden.

### **5.2.1.5 Größe und Nodalstatus**

Bezüglich Tumorgröße, Nodalstatus und Fernmetastasen ergab sich für das Gesamtkollektiv eine repräsentative Verteilung vergleichbar anderer Arbeiten [Kokemuller et al., 2004; Lima et al., 2005]. Größere Tumoren (T3,T4) waren mit Lymphknotenmetastasierungen, Fazialisparesen und positiven Resektionsstataren assoziiert (siehe unten).

Die Inzidenz von Lymphknotenmetasen lag mit 34% etwas über den in der Literatur angegebenen 18-28% [Zbaren et al., 2003]. Assoziationen zwischen Lymphknotenmetastasen und Tumorgröße, Malignitätsgrad sowie bestimmten histologischen Subtypen [Armstrong et al., 1992; Rodriguez-Cuevas et al., 1995; Brandwein et al., 2002; Lima et al., 2005] konnten in den eigenen Untersuchungen bestätigt werden. Während große (T3,T4) Tumoren zu 47% von tumorpositiven Lymphknoten begleitet waren lag dieser Anteil für kleine (T1,T2) Tumoren bei lediglich 26%. Ebenso fanden sich bei Tumoren mit hohem Malignitätsgrad (G3) in 50% der Fälle positive Lymphknoten gegenüber 11% bei Tumoren mit niedrigem Malignitätsgrad (G1+G2), was mit den Ergebnissen von BRANDWEIN et al. (62% zu 15%) vergleichbar ist [Brandwein et al., 2002]. Patienten mit einem Speichelgangkarzinom zeigten in 75% der Fälle Lymphknotenmetastasen. Die Tendenz dieser Entität zur frühzeitigen nodalen Metastasierung ist bekannt und mit 59-80% beziffert [Barnes et al., 1994; Seifert, 1997; Jaehne et al., 2005]. Ferner fand sich im eigenen Kollektiv eine Assoziation zwischen Lymphknotenmetastasen und dem vermehrten Auftreten von Fazialisparesen sowie Residualtumoren, was für das aggressive, diffus-infiltrative Wachstum der entsprechenden Tumoren spricht.

Da sich die Einteilung des Tumorgesamtstadiums aus den Faktoren T, N und M ergibt, war auch ein höheres Stadium (III,IV) mit Residualtumoren und Fazialisparese assoziiert.

#### **5.2.1.6 Therapie und Resektionsstatus**

Die Standardtherapie resezierbarer Karzinome der großen und kleinen Speicheldrüsen besteht in der chirurgischen Resektion des Karzinoms [[Licitra et al., 2003](#)]. Karzinome der Gl. parotis sollten dabei in Form einer totalen Parotidektomie therapiert werden, was auch bei den eigenen Patienten in 84% der Fälle geschehen ist. Die Entscheidung, ob eine Parotidektomie konservativ unter Erhalt des N. facialis oder radikal mit Resektion desgleichen durchgeführt wird, sollte unter anderem vom Malignitätsgrad und vom Tumorstadium abhängig gemacht werden. Tendenziell hat sich hierbei in den letzten Jahren eher ein konservativeres Vorgehen etabliert [[Bell et al., 2005](#)]. Im eigenen Patientengut wurden 47% der totale Parotidektomien radikal mit teilweiser Resektion des N. facialis durchgeführt, wobei sich die betroffenen Patienten mehrheitlich (58%) in einem fortgeschrittenen Tumorstadium befanden.

Die Entscheidung zur chirurgischen Entfernung der Lymphknoten (Neck dissection) basiert auf dem Vorhandensein klinisch und radiologisch malignomverdächtiger Lymphknoten, ferner der Histologie, der Tumorgröße sowie dem Malignitätsgrad des Primärtumors [[Medina, 1998](#)]. Auch in der eigenen Studie waren Lymphknotenmetastasen mit fortgeschrittener Tumorgröße, high-grade-Tumoren sowie mit Speichelgangkarzinomen assoziiert (siehe 5.2.1.5). Insgesamt wurde bei 70 (69%) Patienten eine Neck dissection durchgeführt, insbesondere bei Patienten mit fortgeschrittenem Tumorstadium (86%) oder bei high-grade-Malignomen (85%).

Bezüglich des Resektionsstatus wurde ein Residualtumor (R1 oder R2) nach chirurgischer Therapie in etwa 20% der eigenen Patienten festgestellt, was unterhalb den Angaben von BELL et al. und THERKILDSEN et al. liegt, welche positive Tumorresektionsränder in 29%

bzw. 52% ihrer Patienten fanden [Therkildsen et al., 1998; Bell et al., 2005]. Die Präsenz positiver Resektionsränder war in der eigenen Untersuchung stark mit fortgeschrittenen Tumorstadien verbunden, was durch die oftmals eingeschränkte Möglichkeit einer radikalen Operation der betroffenen Patienten zu erklären ist.

Insgesamt wurde bei 59% der Patienten eine adjuvante Strahlentherapie durchgeführt, insbesondere bei Patienten mit vorhandenem mikroskopischem Residualtumor (93%) und in fortgeschrittenen Tumorstadien (74%). Dies spiegelt die Forderung wider, eine postoperative Strahlentherapie vor allem bei größeren und invasiveren Karzinomen, bei Lymphknotenmetastasen, bei high-grade-Histologien und bei Präsenz von Residualtumoren durchzuführen [Licitra et al., 2003; Terhaard et al., 2005]. Obwohl zahlreiche retrospektive Untersuchungen eine bessere lokale Tumorkontrolle durch eine adjuvante Strahlentherapie postulierten [Pohar et al., 2005; Terhaard et al., 2005], bleibt der Einfluss der Radiatio auf das Langzeitüberleben von Patienten mit Speicheldrüsenkarzinomen aufgrund fehlender prospektiver, randomisierter Studien unklar. In der bislang größten retrospektiven Serie an 498 Patienten ergaben sich für die Patienten mit Chirurgie plus adjuvanter Strahlentherapie trotz schlechterer prognostischer Begleitparameter (Lymphknotenmetastasen, höhere Stadien) höhere Raten für die lokale Tumorkontrolle (5-Jahre 94%, 10-Jahre 76%) im Vergleich zu den Patienten ohne adjuvante Radiatio (5-Jahre 84%, 10-Jahre 76%) [Terhaard et al., 2005].

### 5.2.1.7 Rezidiv

Die Rezidivrate für Karzinome der Speicheldrüsen wird mit 20-43% angegeben [Harbo et al., 2002; Godballe et al., 2003; Lima et al., 2005; Pohar et al., 2005], wobei es sich in etwa zwei Dritteln der Fälle um Lokalrezidive handelt. LIMA et al. berichteten dabei über eine Assoziation des Rezidivs mit hohem Malignitätsgrad sowie fortgeschrittenem Tumorstadium [Lima et al., 2005]. Im eigenen Kollektiv trat bei insgesamt 18 Patienten (19,6%) ein Rezidiv

auf mit einem durchschnittlichen rezidivfreien Intervall von 18,5 Monaten. Jedoch handelte es sich bei diesen Rezidiven mehrheitlich um sekundäre Fernmetastasen (61%). Dies könnte wiederum indirekt auf eine verbesserte lokale Tumorkontrolle durch die adjuvante Radiotherapie hinweisen. Eine statistisch signifikante Assoziation des Rezidivaftretens mit dem Malignitätsgrad oder dem Tumorstadium konnte zwar nicht festgestellt werden, jedoch befanden sich 76% der vom Rezidiv betroffenen Patienten in einem fortgeschrittenen Tumorstadium und 56% der Patienten litten an einem hochmalignen (G3) Tumor.

## 5.2.2 Deskriptive Analyse - Immunhistochemische Parameter

### 5.2.2.1 Ki-67

In der Literatur finden sich zahlreiche Studien, welche die proliferative Aktivität von Speicheldrüsenkarzinomen mittels Ki-67 (MIB-1) bestimmten. Dabei wurden zur dichotomen Unterscheidung zwischen erhöhter und nicht erhöhter Proliferationsrate Schwellenwerte (SW) von 4% [Nordgard et al., 1997], 10% [Skalova et al., 1994a; Hellquist et al., 1997], 20% [Luukkaa et al., 2006], 25% [Jaehne et al., 2005] und 50% [Luukkaa et al., 2006] festgesetzt. In der eigenen Untersuchung sollten deshalb vergleichend die Schwellenwerte 10%, 20% und 30% untersucht werden.

Erhöhte Proliferationsindizes wurden für das adenoid-zystische Karzinom (75% bei SW 4%), das Speichelgangkarzinom (73% bei SW 25%) sowie das Karzinom aus pleomorphem Adenom (35 bei SW 10%) angegeben [Nordgard et al., 1997; Lewis et al., 2001; Jaehne et al., 2005]. Eine niedrigere proliferative Aktivität wurde dem Azinuszellkarzinom (23% bei SW 10%) und dem Mukepidermoidkarzinom (8% bei SW 20%) zugeordnet [Skalova et al., 1994a; Skalova et al., 1994b; Luukkaa et al., 2006]. Im eigenen Kollektiv fand sich bei 48%

aller Karzinome eine proliferative Aktivität in mehr als 10% der Zellen (SW 10%), in 16% der Fälle konnte sogar eine sehr hohe proliferative Aktivität (Ki-67>30%) festgestellt werden.

Bei den Tumoren mit höchster Proliferationsrate handelte es sich um das Plattenepithelkarzinom (80% bei Ki-67>30%) und das lymphoepitheliale Karzinom (100% bei Ki-67>30%). Auch das Speichelgangkarzinom zeigte in 25% der Fälle einen Proliferationsindex von Ki-67>30%. Eine signifikant niedrige Proliferationsrate ergab sich hingegen auch in dieser Studie für das Mukoepidermoidkarzinom (7% bei Ki-67>10%). Beim adenoid-zystischen Karzinom und dem Azinuszellkarzinom fand sich eine mittlere proliferative Aktivität. Zwar wiesen 44% der adenoid-zystischen Karzinome einen Ki-67-Index über 10% auf, jedoch nur 16% der Tumoren einen Index über 20%, vergleichbar dem Azinuszellkarzinom (18% bei Ki-67>20%).

Erwartungsgemäß war der erhöhte Proliferationsindex bei allen Schwellenwerten mit dem histologischen Malignitätsgrad assoziiert, da die proliferative Aktivität der Zellen (z.B. Mitoserate) auch ein Kriterium des Gradings darstellt.

Daneben zeigte sich ein erhöhtes Ki-67 bei allen Schwellenwerten mit der Präsenz von Residualtumor und der Negativität für C-KIT assoziiert. Tumoren mit Ki-67>20% und Ki-67>30% korrelierten zudem mit dem Auftreten eines Rezidivs. Tumoren mit Ki-67>10% korrelierten mit der Expression von P53 und konnten in etwa zwei Drittel der Fälle fortgeschrittenen Tumorstadien zugeordnet werden. Die Bestimmung der erhöhten proliferativen Aktivität mittels Ki-67 scheint somit auf aggressiv wachsende Karzinome hinzuweisen.

### **5.2.2.2 P53**

Die Expression von P53 bei Karzinomen der Speicheldrüsen wurde in den letzten Jahren ebenfalls wiederholt untersucht. Als Schwellenwerte zur Abgrenzung zwischen negativer und

positiver P53-Expression dichotomisierter Auswertungen wurden dabei 5% [Gallo et al., 1995; da Cruz Perez et al., 2006], 10% [Karja et al., 1997] und 20% [Luukkaa et al., 2006] verwendet. Hohe Prävalenzen positiver P53-Expression fanden sich beim adenoid-zystischen Karzinom (69%-80%), dem Speichelgangkarzinom (75%), dem Azinuszellkarzinom (79%-83%) und dem Mukoepidermoidkarzinom (67%-78%) [Gallo et al., 1995; Karja et al., 1997; Luukkaa et al., 2006]. Vereinzelt wurde eine Assoziation der Expression von P53 mit regionalen Metastasen und Fernmetastasen sowie mit hohem Malignitätsgrad beschrieben [Gallo et al., 1995; Kiyoshima et al., 2001]. Im eigenen Kollektiv lag der Anteil P53-positiver Tumoren mit 13% aller Karzinome deutlich niedriger, wobei sich die höchste Prävalenz bei den Karzinomen aus pleomorphen Adenomen (42%) fand. Ferner waren P53-positive Tumoren mit der Präsenz von Residualtumoren assoziiert. Eine Korrelation von P53 mit dem Tumorstadium oder dem Malignitätsgrad konnte nicht festgestellt werden.

### 5.2.2.3 HER2

In 32% aller untersuchten Karzinome konnte eine Expression (2+ und 3+) von HER2 (ErbB-2) gefunden werden. Dabei lag die höchste Prävalenz bei den Speichelgangkarzinomen mit einer Positivität in 83% der Fälle, was die Ergebnisse von GLISSON et al. mit einer Expression in ebenfalls 83% ihrer Speichelgangkarzinome unterstreicht [Glisson et al., 2004] und die morphologische Verwandtschaft dieser Histologie zum duktalen Mammakarzinomen verdeutlicht. Das adenoid-zystische Karzinom zeigte eine HER2-Expression in 36% der Fälle, das Mukoepidermoidkarzinom in 13%, das Karzinom aus pleomorphem Adenom in 30% und das Azinuszellkarzinom in 27% der Fälle. In der Literatur ist eine Assoziation der HER2-Expression mit Lokalrezidiven und Fernmetastasen für das Mukoepidermoidkarzinom [Press et al., 1994] und das Speichelgangkarzinom [Jaehne et al., 2005] beschrieben, was in den

eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden konnte. Hier fand sich hingegen eine Korrelation der HER2-Positivität mit hohem Patientenalter und der Negativität für C-KIT.

#### 5.2.2.4 EGFR

In den Literatur angegebene Daten zur Expression von EGFR (ErbB-1) bei Speicheldrüsenkarzinomen variieren von 37% bis 85% [*Gibbons et al., 2001; Vered et al., 2002; Katopodi et al., 2003; Sorensen et al., 2006*]. Hohe Expressionsraten wurden für das adenoid-zystische Karzinom (77%-85%) und das Mukoepidermoidkarzinom (77%-78%) angegeben [*Gibbons et al., 2001; Vered et al., 2002; Sorensen et al., 2006*]. Die Vergleichbarkeit dieser verschiedenen Studien gestaltet sich jedoch schwierig, da unterschiedliche Evaluationskriterien angewandt wurden. In der vorliegenden Studie erfolgte die Interpretation der EGFR-Reaktivität nach den sogenannten Herceptest<sup>TM</sup>-Kriterien, so dass lediglich die starke (3+) Membranfärbung als Überexpression von EGFR gewertet wurde. Diese Überexpression fand sich in 36% der untersuchten Karzinome. Bei den adenoid-zystischen Karzinomen lag die Überexpression bei 36%, bei den Mukoepidermoidkarzinomen bei 53%, was den Ergebnissen von KATOPODI et al. mit 36% bzw 56% bei diesen Entitäten entspricht [*Katopodi et al., 2003*]. Eine hohe Prävalenz der EGFR-Überexpression fand sich bei den Plattenepithelkarzinomen (80%). Karzinome aus pleomorphen Adenomen exprimierten in 46% EGFR, während die Speichelgangkarzinome und die Azinuszellkarzinome EGFR lediglich in jeweils 9% exprimierten. Eine Assoziation der EGFR-Überexpression mit anderen klinisch-pathologischen Faktoren konnte nicht festgestellt werden.

### 5.2.2.5 C-KIT

Eine Immunpositivität für C-KIT (CD117) fand sich in 55 (57%) Fällen und zeigte sich stark mit den adenoid-zystischen Karzinomen (92%) assoziiert, wodurch die hohe C-KIT-Expression dieser Histologie in früheren Untersuchungen (80-100%) bestätigt wurde [[Holst et al., 1999; Jeng et al., 2000; Penner et al., 2002; Mino et al., 2003; Freier et al., 2005](#)]. Eine hohe Expressionsrate von C-KIT ergab sich mit 80% auch bei den Azinuszellkarzinomen, hingegen waren alle Speichelgangkarzinome C-KIT-negativ. Für das Mukoepidermoidkarzinom und das Karzinom aus pleomorphem Adenom konnte eine C-KIT-Expression in 40% bzw. 42% ermittelt werden. Wie auch beim Mammakarzinom [[Tsutsui et al., 2006](#)] korrelierte der Mangel an C-KIT mit Lymphknotenmetastasen, hohem Alter, high-grade-Malignomen, hoher proliferativer Aktivität (Ki-67) und Expression von HER2. Mangelnde C-KIT-Expression scheint somit mit Tumorentdifferenzierung und aggressivem Tumorwachstum assoziiert zu sein.

### 5.2.2.6 Maspin

Bei dem Serinproteaseinhibitor Maspin handelt es sich um ein neuartiges Protein mit vielschichtiger Tumorsuppressoraktivität, welches durch präapoptotisches P53 hochreguliert wird [[Wang et al., 2007](#)]. Im Gegensatz zu Studien von LONARDO et al. und CHO et al., die eine negative Korrelation der Maspinexpression mit P53 beim Adenokarzinom der Lunge sowie dem Plattenepithelkarzinom der Zunge fanden [[Lonardo et al., 2006; Cho et al., 2007](#)], konnte in den eigenen Untersuchungen an Speicheldrüsenkarzinomen keine derartige Korrelation festgestellt werden. Eine Expression von Maspin wurde für verschiedene menschliche Tumoren wie dem Mammakarzinom, dem Lungenkarzinom oder auch dem Plattenepithelkarzinom des Kopf-Hals-Bereiches beschrieben [[Yasumatsu et al., 2001](#);

*Umekita et al., 2002; Lonardo et al., 2006]. Kritisch jedoch bleibt die Interpretation des immunhistochemischen Färbemusters (zytoplasmatisch, nuklear). So kann Maspin etwa beim Mammakarzinom im Zytoplasma lokalisiert sein aber auch im Zellkern, in den sekretorischen Vesikeln und an der Zelloberfläche [Bailey et al., 2006]. Je nach Lokalisation können unterschiedliche Funktionen zugeteilt werden (siehe 2.3.5).*

Bei den Karzinomen der Speicheldrüse wurden sowohl nukleäre als auch zytoplasmatische Färbemuster beschrieben [*Navarro Rde et al., 2004; Martins et al., 2005; de Araujo et al., 2006; Nakashima et al., 2006*]. In der eigenen Untersuchung zeigte sich beim Mukoepidermoidkarzinom und beim Karzinom aus pleomorphem Adenom eine hohe nukleäre Maspinexpression von einer hohen zytoplasmatischen Expression begleitet. Beim Speichelgangkarzinom war die nukleäre Färbung in allen Fällen negativ, die zytoplasmatische Färbung in nur zwei Fällen (20%) positiv. Dies mag auf die hohe Malignität dieses Tumors mit frühzeitiger Metastasierung und schlechter Prognose hinweisen [*Jaehne et al., 2005*]. Das niedrigmaligne Azinuszellkarzinom wiederum, das aus neoplastischen Zellen mit seröser azinärer Differenzierung besteht, zeigte weder eine nukleäre noch zytoplasmatische Färbung. Diese mangelnde Maspinexpression wurde auch für das Azinuszellkarzinom des Pankreas beschrieben [*Maass et al., 2001*]. Beim adenoid-zystischen Karzinom konnte entsprechend den Arbeiten von NAVARRO et al. und NAKASHIMA et al. sowohl eine nukleäre als auch eine zytoplasmatische Expression von Maspin beobachtet werden, wobei die nukleäre Färbung häufiger auftrat als die zytoplasmatische [*Navarro Rde et al., 2004; Nakashima et al., 2006*].

In der Gruppe von Speicheldrüsenkarzinomen mit mittlerem Malignitätsgrad (Adenoid-zystisches Karzinom, Mukoepidermoidkarzinom, Karzinom aus pleomorphem Adenom) fand sich der Verlust vor allem des nukleären Maspins mit Lymphknotenmetastasen und Residualtumoren assoziiert. Die Korrelation zwischen negativer Maspinfärbung und Lymphknotenmetastasen wurde bereits für das orale Plattenepithelkarzinom und das Adenokarzinom der Prostata beschrieben [*Xia et al., 2000; Machtens et al., 2001*] und

unterstreicht den hemmenden Effekt Maspins auf die Tumorinvasivität, Motilität und Metastasierung. Für das adenoid-zystische Karzinom separat konnte eine statistisch signifikante Assoziation des Maspinverlusts mit dem soliden Subtyp, wie sie von NAKASHIMA et al. beschrieben wurde [[Nakashima et al., 2006](#)], nicht identifiziert werden, obwohl die Maspinfärbung beim tubulären und kribiformen Typ häufiger (81%) auftrat als beim soliden Subtyp (67%).

### **5.2.3 Überleben und Prognose - Klinisch-pathologische Parameter**

Das tumorspezifische Gesamtüberleben (TSÜ) aller 101 untersuchten Speicheldrüsenkarzinome lag bei 76% nach 5 Jahren und 70% nach 10 Jahren und liegt damit im oberen Bereich der Überlebensstatistiken großer Krebsregister (Schweden, Finnland, Dänemark und Holland) mit Überlebensraten von 56-78% nach 5 Jahren und 50-70% nach 10 Jahren [[Therkildsen et al., 1998; Wahlberg et al., 2002; Terhaard et al., 2004; Luukkaa et al., 2005](#)].

Häufig erwähnte klinisch-pathologische Prognosefaktoren für Speicheldrüsenkarzinome umfassen das TNM-Stadium, das Patientenalter, die Tumorlokalisation, den histologischen Tumortyp, den Malignitätsgrad sowie die Therapieform [[Therkildsen et al., 1998; Renahan et al., 1999; Bhattacharyya and Fried, 2005](#)].

In den eigenen Untersuchungen zeigten sich in der univariaten Analyse Lymphknotenmetastasen, das Tumorstadium und die Präsenz von Residualtumor als stärkste prognostische Parameter, gefolgt von der Tumogröße, Alter, Malignitätsgrad und Lokalisation. Kein statistisch signifikanter prognostischer Einfluss konnte für den histologischen Tumortyp und das Geschlecht festgestellt werden. Die Therapieform wurde aufgrund der Heterogenität der untersuchten Gruppe und der fehlenden Vergleichbarkeit nicht

ausgewertet. So wurde z. B. eine adjuvante Strahlentherapie vorrangig bei den Patienten durchgeführt, die sich in einem forgeschrittenen Stadium befanden, high-grade Tumoren oder positive Resektionsränder aufwiesen und somit ohnehin eine schlechtere Prognose besaßen.

### 5.2.3.1 Histologischer Subtyp

Unter den häufigsten Tumorhistologien des eigenen Patientenguts erwies sich das Azinuszellkarzinom mit einer 5-Jahres- und 10-Jahres-TSÜ von 89% als Tumor mit der höchsten Überlebensrate und bestätigte somit die gute Prognose dieser Histologie in vorausgehenden Untersuchungen [[Wahlberg et al., 2002](#); [Terhaard et al., 2004](#)]. Die schlechte Prognose des Speichelgangkarzinoms ließ sich ebenfalls mit einer 5-Jahres-TSÜ von 61% erkennen, jedoch konnten die in der Literatur beschriebenen infausten Überlebensraten dieses Karzinoms von unter 30% nach 5 Jahren [[Lewis et al., 1996](#); [Hosal et al., 2003](#)] nicht bestätigt werden. Für das adenoid-zystische Karzinom (5-Jahres-TSÜ 77%, 10-Jahres-TSÜ 77%), das Mukoepidermoidkarzinom (5-Jahres-TSÜ 91%, 10-Jahres-TSÜ 76%) sowie das Karzinom aus pleomorphem Adenom (5-Jahres-TSÜ 76%, 10-Jahres-TSÜ 76%) ergaben sich vergleichbare, mittlere Überlebensraten. Diese Ergebnisse entsprechen der mit insgesamt 2465 Patienten bislang größten Studie zum Langzeitüberleben von Speicheldrüsenkarzinomen von WAHLBERG et al., die für das adenoid-zystische Karzinom, das Mukoepidermoidkarzinom und das Karzinom aus pleomorphem Adenom 10-Jahres-Überlebensraten von 74% bzw. 80% und 73% fanden [[Wahlberg et al., 2002](#)]. Die Einordnung des adenoid-zystischen Karzinoms und des Karzinoms aus pleomorphem Adenom als hochmaligne Tumoren, wie dies andere Autoren [[Zbaren et al., 2003](#); [Lima et al., 2005](#)] empfehlen, scheint nicht gerechtfertigt. Insgesamt ergab sich unter den häufigsten Histologien kein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich des Überlebens, was sicherlich auch in der geringen Fallzahl begründet liegt.

### 5.2.3.2 Lokalisation und Alter

In früheren Jahren wurde immer wieder den Tumoren der kleinen Speicheldrüsen und denen der Gl. submandibularis eine schlechtere Prognose zugeschrieben als denen der Gl. parotis [Spiro et al., 1973; Nascimento et al., 1986]. In der vorliegenden Studie hingegen zeigten Tumoren der Gl. parotis ein schlechters Gesamtüberleben als die der Gl. submandibularis und der kleinen Speicheldrüsen. KOKEMÜLLER et al., die zu ähnlichen Ergebnissen kamen, führten als Erklärung hierfür die aufgrund der anatomischen Nähe zur Schädelbasis schwieriger zu erreichende R0-Resektion bei Parotis-Tumoren an [Kokemuller et al., 2003]. Zum anderen scheint sich in den letzten Jahren die Prognose der Submandibularis-Tumoren durch eine umfassende lokale Tumorresektion mit gleichzeitiger Durchführung einer Neck dissection verbessert zu haben [Vander Poorten et al., 1999a; Wahlberg et al., 2002]. So fand sich auch in der eigenen Untersuchung eine exzellente Prognose (5-Jahres-TSÜ 94%) für diese Karzinome.

Patienten mit einem Alter von über 70 Jahren zum Zeitpunkt der Diagnose wiesen in der eigenen Studie eine schlechtere Überlebensrate auf als jüngere. Entsprechendes wird auch in anderen Serien berichtet [Terhaard et al., 2004; Luukkaa et al., 2005]. SPIRO et al. stellten dazu die Vermutung auf, dass der Einfluss des Alters durch den höheren Anteil hochmaligner Histologien in dieser Altersgruppe erklärt werden könnte [Spiro et al., 1989]. Auch in der vorliegenden Untersuchung war das hohe Alter mit high-grade Tumoren im Allgemeinen und dem hochmalignen Speichelgangkarzinom im Speziellen assoziiert.

### 5.2.3.3 Grading

Ein Einfluss des Malignitätgrades auf die Prognose von Speicheldrüsenkarzinomen konnte in einigen Studien nachgewiesen werden [Hochwald et al., 2001; Harbo et al., 2002; Zbaren et

*al., 2003; Lima et al., 2005]*, wobei sich die Graduierungssysteme unterschieden. So benutzten HARBO et al. und ZBÄREN et al. ein zweigradiges Gradiingsystem [*Harbo et al., 2002; Zbaren et al., 2003*], während etwa LIMA et al. ein dreigradiges Graduierungssystem anwendeten [*Lima et al., 2005*]. Die in dieser Studie durchgeführte Graduierung (G1-G3) der Tumoren hat sich als sinnvoll erwiesen und zeigte sowohl für die zweigradige (G1+G2/G3) als auch für die dreigradige (G1/G2/G3) Unterteilung signifikante Unterschiede in der univariaten Analyse ohne jedoch eine prognostische Relevanz in der multivariaten Analyse zu erreichen. Während für niedrimaligne Tumoren ein 5-Jahres-TSÜ von 90% dokumentiert werden konnte, lag das 5-Jahres-TSÜ der hochmaligen Tumoren bei nur noch 65%. Bezüglich des Gradiings einzelner Entitäten konnte weder für das adenoidzystische Karzinom noch für das Mukoepidermoidkarzinom oder das Karzinom aus pleomorphem Adenom ein signifikanter Einfluss festgestellt werden. Weitere Aussagen zur Berechtigung einer Graduierung dieser Tumoren können aufgrund der zu geringen Fallzahl jedoch nicht gemacht werden.

### 5.2.3.4 TNM-Stadium

Tumorgröße, Nodalstatus und Tumorgesamtstadium gelten als stärkste prognostische Parameter [*Spiro and Huvos, 1992; Therkildsen et al., 1998; Bhattacharyya and Fried, 2005; Luukkaa et al., 2005*], wobei der Präsenz von Lymphknotenmetastasen ein stärkerer negativer Einfluss zuzuordnen ist als der fortgeschrittenen Tumorgröße [*Therkildsen et al., 1998*]. Der prognostische Wert des TNM-Stadiums konnte in der vorliegenden Untersuchung vollauf bestätigt werden. Sowohl höhere T-Stadien (T3,T4), Lymphknotenmetastasen als auch fortgeschrittene Gesamtstadien (III, IV) waren in der univariaten Analyse hoch signifikant mit einer schlechteren Überlebensprognose assoziiert. Das Stadium erwies sich zudem als starker prognostischer Faktor in der multivariaten Analyse. Bezuglich des T-Stadiums konnte für T4-

Tumoren keine Verschlechterung der Prognose gegenüber T3-Tumoren beobachtet werden. Dies ist möglicherweise auf die Tatsache zurückzuführen, dass oftmals auch kleinere Tumoren aufgrund einer Infiltration der Haut, des Unterkiefers oder des N. facialis als T4-Tumoren (T4a) klassifiziert werden (UICC 2002), diese jedoch bei radikaler Resektion der betroffenen Strukturen durchaus eine gute Prognose haben können. Bei den Lymphknotenmetastasen scheint vor allem der Befall von mehr als einem Lymphknoten (N2) die Prognose deutlich zu verschlechtern. Dementsprechend geht das Tumorgesamtstadium IV mit signifikant schlechterem Überleben der Patienten einher.

### **5.2.3.5 Resektionsstatus**

Wie zu erwarten war, konnte die hohe prognostische Aussagekraft der Präsenz von Residualtumoren (R1+R2) nach chirurgischer Therapie bestätigt werden. Dabei korrelierten auch mikroskopische Residualtumoren (R1) mit einer schlechteren Überlebensrate gegenüber einer Resektion „in sano“. Der positive Resektionsstatus war sowohl in uni- als auch multivariater Analyse mit signifikant schlechterem Überleben assoziiert. Dieser Umstand wurde zuvor bereits in zahlreichen Studien beschrieben [[Therkildsen et al., 1998; Renahan et al., 1999; Vander Poorten et al., 1999b](#)].

## **5.2.4 Überleben und Prognose - Immunhistochemische Parameter**

### **5.2.4.1 Ki-67**

Die prognostische Relevanz der mittels Ki-67 (MIB-1) immunhistochemisch bestimmten proliferativen Aktivität bei Karzinomen der Speicheldrüsen ist seit längerem bekannt. So

zeigte sich ein erhöhtes Ki-67-Expressionsmuster sowohl bei einzelnen Entitäten wie dem Azinuszellkarzinom [Hellquist et al., 1997], dem Mukoepidermoidkarzinom [Skalova et al., 1994a; Rapidis et al., 2007], dem adenoid-zystischen Karzinom [Norberg-Spaak et al., 2000; Luukkaa et al., 2006] oder dem Speichelgangkarzinom [Hellquist et al., 1994] als auch bei aus unterschiedlichen Subtypen bestehenden Gesamtkollektiven [Luukkaa et al., 2006] mit schlechterer Prognose assoziiert. Dabei wurden jedoch zur dichotomen Unterscheidung zwischen erhöhter und nicht erhöhter Proliferationsrate verschiedenste Schwellenwerte (SW) von 4% [Nordgard et al., 1997], 10% [Skalova et al., 1994a; Hellquist et al., 1997], 20% [Luukkaa et al., 2006], 25% [Jaehne et al., 2005] und 50% [Luukkaa et al., 2006] festgesetzt. In der eigenen Untersuchung sollten deshalb die Schwellenwerte 10%, 20% und 30% in ihrem Einfluss auf die Prognose verglichen werden.

Bei sämtlichen Schwellenwerten konnte für das Gesamtkollektiv eine prognostische Relevanz von Ki-67 festgestellt werden, wobei sich in der univariaten Analyse eine proliferative Aktivität in mehr als 30% der Zellen (Ki-67>30%) am statistisch signifikantesten ( $p=0,000$ ) mit schlechteren Überlebensraten assoziiert zeigte, gefolgt von einer Proliferation in mehr als 20% der Zellen ( $P=0,004$ ) und mehr als 10% der Zellen ( $P=0,011$ ). Darüber hinaus erwies sich Ki-67>30% als stärkster unabhängiger prognostischer Parameter in der multivariaten Analyse, stärker als die anerkannten Faktoren Stadium, Residualtumor und Malignitätsgrad [Ettl et al., 2008a; Ettl et al., 2008b].

Bei separater Untersuchung der häufigsten Entitäten (ACC, MEC, CXPA, SDC, ACCC) konnten zwar tendenziell schlechtere Überlebensraten für erhöhte Ki-67-Werte festgestellt werden, jedoch ohne statistische Signifikanz zu erreichen.

#### 5.2.4.2 P53

Für die prognostische Relevanz der immunhistochemischen Bestimmung des mutierten Tumorsuppressors P53 finden sich in der Literatur widersprüchliche Ergebnisse. So zeigte sich in einer Untersuchung von GALLO et al. an einem Kollektiv von insgesamt 46 Karzinomen unterschiedlicher Entitäten die Aberration von P53 mit Lymphknotenmetastasen, Fernmetastasen und niedrigeren Gesamtüberlebensraten assoziiert [[Gallo et al., 1995](#)]. Ähnlich konnten DA CRUZ PEREZ et al. eine Korrelation der P53-Expression mit schlechterer Prognose an 80 adenoid-zystischen Karzinomen feststellen, während JAEHNE et al. bei Speichelgangkarzinomen eine Assoziation der P53-Expression mit Rezidiven, Fernmetastasen und schlechteren Gesamtüberlebensraten dokumentierten [[Jaehne et al., 2005; da Cruz Perez et al., 2006](#)]. Im Gegensatz dazu konnte in anderen Studien an Speichelgangkarzinomen [[Felix et al., 1996](#)], Karzinomen aus pleomorphen Adenomen [[Lewis et al., 2001](#)] oder auch an gemischten Kollektiven [[Luukkaa et al., 2006](#)] keine Korrelation der P53-Expression mit dem Überleben gefunden werden. In der eigenen Studie zeigte sich kein prognostischer Einfluss der Positivität für P53, wobei insgesamt lediglich 12 Tumoren P53 exprimierten. Somit bleibt die prognostische Bedeutung von P53 für Speicheldrüsenkarzinome weiter unklar.

#### 5.2.4.3 HER2

Die prognostische Relevanz von HER2 (ErbB-2) bei Speicheldrüsenkarzinomen ist unklar und scheint möglicherweise vom histologischen Subtyp abhängig zu sein. So wurde eine Assoziation der HER2-Überexpression mit früher Rezidivierung, Fernmetastasierung und niedrigeren Überlebensraten für das Mukoepidermoidkarzinom [[Press et al., 1994](#)] und das Speichelgangkarzinom [[Felix et al., 1996; Jaehne et al., 2005](#)] beschrieben. DI PALMA et al.

vermuteten, dass die HER2-Amplifikation und Überexpression ein frühzeitiger Schritt der Kanzerogenese bei der Entstehung von high-grade-Karzinomen in pleomorphen Adenomen sei, vergleichbar der Entstehung des *invasiven* duktalen high-grade-Mammakarzinoms, das gehäuft aus HER2-positiven duktalen high-grade-Karzinomen *in situ* entsteht [Di Palma et al., 2005]. Eine prognostische Bedeutung dieser HER2-Expression bei Karzinomen aus pleomorphen Adenomen konnte jedoch in einer Studie von LEWIS et al. an 69 Karzinomen nicht festgestellt werden [Lewis et al., 2001]. Ebenso fand sich keine Korrelation der HER2-Expression mit schlechteren Überlebensraten beim adenoid-zystischen Karzinom [Khan et al., 2001; da Cruz Perez et al., 2006]. In der eigenen Untersuchung zeigte sich beim Mukoepidermoidkarzinom entsprechend den Ergebnissen von PRESS et al. eine Korrelation der HER2-Expression mit schlechterem Überleben [Press et al., 1994]. Hingegen konnte kein prognostischer Einfluss der HER2-Expression beim adenoid-zystischen Karzinom und beim Karzinom aus pleomorphem Adenom festgestellt werden. Beim Speichelgangkarzinom konnte den beiden verstorbenen Patienten zwar eine HER2-Expression nachgewiesen werden, statistisch signifikant war dieser Umstand jedoch nicht. Im Gesamtkollektiv zeigte sich für die HER2-positiven Karzinome eine geringere Überlebensrate (5-Jahres-TSÜ 60%) als für die HER2-negativen (5-Jahres-TSÜ 80%), jedoch auch hier ohne statistische Signifikanz.

### 5.2.4.4 EGFR

Eine Korrelation der EGFR-Überexpression mit schlechterem Überleben wurde bisher bei verschiedenen Tumoren wie dem Bronchialkarzinom, dem Kolonkarzinom oder auch dem Plattenepithelkarzinom des Kopf-Hals-Bereiches beschrieben [Normanno et al., 2006]. In der bisher einzigen Studie zur prognostischen Bedeutung von EGFR (ErbB-1) bei Speicheldrüsenkarzinomen von SORENSEN et al. konnte jedoch keine Korrelation der Expression des Tyrosinkinaserezeptors mit schlechterm Überleben festgestellt werden

[[Sorensen et al., 2006](#)]. Diese Arbeitsgruppe hatte die zytoplasmatische und membranöse Reaktivität zusammengefasst und Färbeintensitäten der Stärke 2+ und 3+ als positiv definiert. Im Gegensatz dazu wurde in der eigenen Studie ausschließlich die starke (3+) Membranfärbung als positiv gewertet. Die Evaluation verschiedener Kriterien zur Dichotomisierung der semiquantitativen Färbeintensitäten in der univariaten Analyse ergab, dass lediglich die starke (3+) Reaktivität von EGFR signifikant mit schlechterer Prognose korrelierte. Diese Ergebnisse konnten in der multivariaten Analyse bestätigt werden. Hier erwies sich die EGFR-Überexpression als unabhängiger prognostischer Parameter [[Ettl et al., 2008a](#)]. In der Analyse der histologischen Subgruppen ergab sich ein signifikanter Einfluss der EGFR-Expression beim Karzinom aus pleomorphem Adenom, während das adenoid-zystische Karzinom, das Mukoepidermoidkarzinom, das Speichelgangkarzinom sowie das Azinuszellkarzinom keine Korrelationen erkennen ließen.

Da EGFR Ziel neuartiger spezifischer Antikörpertherapien ist, bedarf es weiterer Studien, um die prognostische Bedeutung der EGFR-Überexpression in Relation zum Ansprechen auf Anti-EGFR-Therapien, besonders bei Patienten mit Metastasierungen und fortgeschrittener Erkrankung zu untersuchen. In zwei aktuellen Phase II-Studien zur Anwendung von Gefitinib [[Laurie and Licitra, 2006](#)] und Cetuximab [[Locati et al., 2008](#)] an Patienten mit fortgeschrittenen adenoid-zystischen Karzinomen und Mukoepidermoidkarzinomen konnte zwar bei einem Teil der Patienten eine Stabilisierung der Erkrankung beobachtet werden, jedoch keine objektive Remission. Beim Adenokarzinom der Lunge konnte gezeigt werden, dass von einer Antikörpertherapie lediglich EGFR-positive Patienten profitieren, welche aktivierende Mutationen im Gen des EGF-Rezeptors aufweisen [[Lynch et al., 2004](#)]. Kürzlich konnten auch beim adenoid-zystischen Karzinom und dem Mukoepidermoidkarzinom mittels PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) und Gelelektrophorese zwei aktivierende EGFR-Mutationen auf dem Exon 19 delE746-A750 identifiziert werden [[Dahse and Kosmehl, 2008](#);

*Dahse et al., 2009a; Dahse et al., 2009b]*, wodurch in der Zukunft eine noch spezifischere Antikörpertherapie möglich sein könnte.

#### 5.2.4.5 C-KIT

Bisher gibt es in der Literatur wenig Informationen über die prognostische Bedeutung der Expression von C-KIT (CD117) bei Speicheldrüsenkarzinomen. In der bisher einzigen Untersuchung von SORENSEN et al. konnte kein prognostischer Einfluss der C-KIT-Expression dokumentiert werden [*Sorensen et al., 2006*]. Diese Autoren interpretierten eine Färbeintensität von 0 und 1+ als negativ, eine Färbeintensität von 2+ und 3+ als positiv. In der vorliegenden Studie wurden analog dem Vorgehen bei EGFR verschiedene Kriterien zur Dichotomisierung der semiquantitativen Färbeintensitäten in der univariaten Analyse evaluiert. Dabei erwies sich lediglich die Abwesenheit einer C-KIT-Expression als prognostisch signifikant und war mit schlechteren Überlebensraten assoziiert. Ähnliche Beobachtungen konnten beim kleinzelligen Lungenkarzinom [*Rohr et al., 2004*], dem extrahepatischen Gallengangskarzinom [*Hong et al., 2007*] sowie dem Mammakarzinom [*Tsutsui et al., 2006*] gemacht werden. Auch ROHR et al. evaluierten beim Lungenkarzinom verschiedene Intensitätsstärken der C-KIT-Expression und fanden keinen statistisch signifikanten Unterschied für das Überleben von Patienten mit schwachen, mittleren oder starken C-KIT-reaktiven Tumoren [*Rohr et al., 2004*]. Auch hier zeigte sich lediglich die Abwesenheit von C-KIT mit signifikant schlechterem Überleben assoziiert, weshalb auch schon die schwache (1+) C-KIT-Färbung als positiv betrachtet werden muss.

Darüber hinaus zeigte sich in der vorliegenden Arbeit der Mangel an C-KIT mit Lymphknotenmetastasen, hohem Alter, hohem Malignitätsgrad und hoher proliferativer Aktivität (Ki-67) assoziiert und scheint somit mit Tumorentdifferenzierung und aggressivem Wachstum einherzugehen [*Ettl et al., 2008a*].

Auch für C-KIT-exprimierende Tumoren besteht seit wenigen Jahren eine spezifische Antikörpertherapie (Imatinib), welche z.B. beim gastrointestinalen Stromatumor oder bei der chronisch-myeloischen Leukämie erfolgreich eingesetzt wird [Rohr et al., 2004; Ali and Ali, 2007]. In zwei Phase II-Studien [Hotte et al., 2005; Pfeffer et al., 2007] an Patienten mit fortgeschrittenen adenoid-zystischen Karzinomen, welche allesamt C-KIT exprimierten, konnte jedoch durch die Gabe des Tyrosinkinaseinhibitors Imatinib (Gleevec) bei lediglich 13-20% der Patienten eine Stabilisierung der Erkrankung für 6-12 Monate beobachtet werden, weshalb der Effekt dieser Therapie bei diesen Karzinomen momentan noch fraglich scheint.

### 5.2.4.6 Maspin

Eine prognostische Bedeutung des Serin-Protease-Inhibitors Maspin konnte bei verschiedenen Tumoren wie dem Mammakarzinom [Umekita et al., 2002; Mohsin et al., 2003; Umekita and Yoshida, 2003], dem Bronchialkarzinom [Lonardo et al., 2006], dem Larynxkarzinom [Marioni et al., 2005] oder dem oralen Plattenepithelkarzinom [Xia et al., 2000; Yasumatsu et al., 2001; Marioni et al., 2008] dokumentiert werden. Jedoch scheint die genaue prognostische Aussagekraft einer Expression oder einer fehlenden Expression von Maspin einerseits vom Karzinomtyp und andererseits von der Interpretation der Maspin-Färbemuster (nuklear oder zytoplasmatisch) abhängig zu sein. So zeigte sich in großen Studien an duktalen Mammakarzinomen die verstärkte Expression von zytoplasmatischen Maspin mit Progression und aggressiverem Phänotyp des Tumors assoziiert [Umekita et al., 2002; Mohsin et al., 2003; Umekita and Yoshida, 2003], während sich die nukleäre Expression von Maspin als positiver prognostischer Faktor erwies [Mohsin et al., 2003]. Dagegen korrelierte beim oralen Plattenepithelkarzinom die zytoplasmatische Maspinexpression mit geringerer Lymphknotenmetastasierung und höheren Überlebensraten [Xia et al., 2000; Marioni et al., 2008]. Beim Larynxkarzinom [Marioni et al., 2005] sowie beim Adenokarzinom der Lunge

[[Lonardo et al., 2006](#)] wiederum fungierte nukleäres Maspin als positiver prognostischer Parameter.

Bei Karzinomen der Speicheldrüsen wurden sowohl nukleäre als auch zytoplasmatische Maspin-Färbemuster beschrieben [[Navarro Rde et al., 2004; Martins et al., 2005; de Araujo et al., 2006; Nakashima et al., 2006](#)], jedoch gibt es bisher keine Aussagen zur prognostischen Relevanz dergleichen. In der eigenen Studie zeigte sich sowohl für das untersuchte Kollektiv aus Karzinomen mit mittlerem Malignitätsgrad (Adenoid-zystisches Karzinom, Mukoepidermoidkarzinom, Karzinom aus pleomorphem Adenom) als auch für das adenoid-zystische Karzinom allein die Expression nukleären Maspins mit signifikant höheren Überlebensraten in univariater Analyse assoziiert ( $p=0,037$  bzw.  $p=0,024$ ). Ebenfalls ergaben sich bessere Überlebensraten für die zytoplasmatische Maspinexpression, jedoch ohne statistische Signifikanz zu erreichen. Bei Berücksichtigung sowohl des nukleären als auch zytoplasmatischen Expressionsmusters zeigte sich der größte Einfluss von Maspin auf das Überleben ( $p=0,002$  bzw.  $p=0,005$ ), weshalb beide Expressionsmuster zur Auswertung bei Speicheldrüsenkarzinomen herangezogen werden sollten. Zusätzlich war der kombinierte Maspinverlust im Tumorkollektiv mit Lymphknotenmetastasen und der Präsenz von Residualtumor assoziiert, wodurch der suppressive Effekt des Proteins auf die Tumorinvasivität, Motilität und Metastasierung unterstrichen wurde.

In der multivariaten Analyse unter Hinzunahme der klinischen Faktoren Alter, T-Stadium, N-Stadium sowie Residualtumor erwies sich der Verlust der Maspinexpression neben dem hohen Alter ebenfalls als signifikanter prognostische Parameter [[Schwarz et al., 2008](#)].

## 6 Zusammenfassung

*Hintergrund:* Aufgrund der morphologischen Vielfalt maligner Speicheldrüsentumoren mit unterschiedlichsten klinischen Verläufen erweist sich die Etablierung prognostischer Faktoren als schwierig. Die vorliegende klinisch-pathologische Studie sollte neben bekannten klinischen und histologischen Kriterien neue immunhistochemische Marker hinsichtlich ihrer Expressionsmuster und ihrer Korrelation mit dem Langzeitüberleben der Patienten evaluieren.

*Patienten und Methoden:* Klinische und histologische Daten von 101 Patienten mit primären Karzinomen der großen und kleinen Speicheldrüsen wurden retrospektiv erfasst. Von sämtlichen Tumorgewebsproben wurden neue HE-Schnitte angefertigt. Anhand dieser wurde entsprechend der aktuellen WHO-Klassifikation die Diagnose des Tumors bestimmt sowie sein Malignitätsgrad festgelegt. Für alle Karzinome erfolgten immunhistochemische Untersuchungen des Tumorgewebes mit den Antikörpern Ki-67, P53, HER2, EGFR und C-KIT. Die Färbungen für Maspin beschränkten sich auf die häufigsten Entitäten adenoidzystisches Karzinom, Mukoepidermoidkarzinom, Karzinom aus pleomorphem Adenom, Speichelgangkarzinom sowie Azinuszellkarzinom. Statistische Auswertungen erfolgten assoziativ, Korrelationen mit dem tumorspezifischen Langzeitüberleben (durchschnittliches Follow-up 4,7 Jahre) wurden mittels univariater (Kaplan-Meier) und multivariater (Cox-Regression) Analyse ermittelt.

*Ergebnisse:* 13% aller Karzinome, mit höchster Prävalenz beim Karzinom aus pleomorphem Adenom (42%), exprimierten P53 und korrelierten mit der Präsenz von Residualtumoren ( $p=0,029$ ). Hohe Zellproliferationsindizes ( $Ki-67 > 30\%$ ) ergaben sich für das Plattenepithelkarzinom (80%) und das Speichelgangkarzinom (25%), niedrige Proliferationsraten ( $Ki-67 < 10\%$ ) für das Mukoepidermoidkarzinom (93%). Hohe

Expressionsraten von C-KIT zeigten sich bei den adenoid-zystischen Karzinomen (92%). Mangel an C-KIT charakterisierte das Speichelgangkarzinom (100%) und war insgesamt mit high-grade-Tumoren ( $p=0,002$ ), Lymphknotenmetastasen ( $p=0,002$ ) und hoher (Ki-67>30%) proliferativer Aktivität ( $p=0,001$ ) assoziiert. Eine Expression von HER2 konnte in 83% der Speichelgangkarzinome beobachtet werden, zeigte sich aber mit keinem weiteren Parameter assoziiert. Eine Überexpression von EGFR trat unabhängig des histologischen Subtyps und klinischer Parameter auf. Hohe Expressionsraten von Maspin zeigten sich beim adenoid-zystischen Karzinom (76%), dem Mukoepidermoidkarzinom (87%) und dem Karzinom aus pleomorphem Adenom (83%). Speichelgangkarzinome exprimierten zu 20% Maspin, die Azinuszellkarzinome waren allesamt Maspin-negativ. Im Kollektiv bestehend aus adenoid-zystischem Karzinom, Mukoepidermoidkarzinom und Karzinom aus pleomorphem Adenom korrelierte der Maspinverlust mit Lymphknotenmetastasen ( $p=0,001$ ) und Residualtumor ( $p=0,006$ ).

In der univariaten Analyse der klinisch-pathologischen Faktoren erwiesen sich die Parameter Residualtumor ( $p=0,000$ ), T-Status ( $p=0,003$ ), N-Status ( $p=0,000$ ), Gesamtstadium ( $p=0,001$ ), Malignitätsgrad ( $p=0,012$ ), Alter ( $p=0,008$ ) und Lokalisation ( $p=0,027$ ) von prognostischer Relevanz. Keinen Einfluss auf das Überleben hatte der histologische Subtyp. In der univariaten Analyse der immunhistochemischen Parameter zeigten die erhöhte (Ki-67>10%, Ki-67>20%, Ki-67>30%) proliferative Aktivität ( $p=0,011$ ,  $p=0,004$ ,  $p=0,000$ ), die EGFR-Überexpression ( $p=0,011$ ), die fehlende C-KIT-Expression ( $p=0,014$ ) sowie der Verlust von Maspin ( $p=0,002$ ) eine schlechtere Prognose. Keine prognostische Relevanz konnte für P53 und HER2 festgestellt werden.

In der multivariaten Analyse sowohl der klinisch-pathologischen Faktoren als auch der immunhistochemischen Parameter erwiesen sich die hohe (Ki-67>30%) proliferative Aktivität von Tumorzellen ( $p=0,002$ ), die Präsenz von Residualtumor ( $p=0,006$ ), die Überexpression

von EGFR ( $p=0,026$ ) sowie das fortgeschrittene Tumorstadium ( $p=0,041$ ) als insgesamt stärkste negative prognostische Parameter.

*Schlussfolgerungen:*

1. Das Tumorstadium besitzt einen höheren prognostischen Wert als der histologische Tumortyp und der Malignitätsgrad.
2. Die immunhistochemisch bestimmte hohe Proliferationsaktivität ( $Ki-67>30\%$ ) ist der stärkste negative prognostische Faktor bei Speicheldrüsenkarzinomen, stärker noch als das fortgeschrittene Tumorstadium, oder die Präsenz von Residualtumor.
3. Neue immunhistochemische Marker wie Maspin, EGFR und C-KIT können neben etablierten klinisch-pathologischen Faktoren zur Prognoseeinschätzung beitragen.

## 7 Literaturübersicht

Alcedo JC, Fabrega JM, Arosemena JR Urrutia A (2004) Imatinib mesylate as treatment for adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: report of two successfully treated cases. Head Neck 26: 829-831.

Ali S Ali S (2007) Role of c-kit/SCF in cause and treatment of gastrointestinal stromal tumors (GIST). Gene 401: 38-45.

Armstrong JG, Harrison LB, Spiro RH, Fass DE, Strong EW Fuks ZY (1990) Malignant tumors of major salivary gland origin. A matched-pair analysis of the role of combined surgery and postoperative radiotherapy. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 116: 290-293.

Armstrong JG, Harrison LB, Thaler HT, Friedlander-Klar H, Fass DE, Zelefsky MJ, Shah JP, Strong EW Spiro RH (1992) The indications for elective treatment of the neck in cancer of the major salivary glands. Cancer 69: 615-619.

Auclair P Van der Wal JE (2005) Adenocarcinoma not otherwise specified. In Barnes, L., Eveson, J.W., Reichart, P. & D., S. (eds) *Pathology and genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. IARC Press, Lyon. pp. 238-239.

Auclair PL, Goode RK Ellis GL (1992) Mucoepidermoid carcinoma of intraoral salivary glands. Evaluation and application of grading criteria in 143 cases. Cancer 69: 2021-2030.

Bailey CM, Khalkhali-Ellis Z, Seftor EA Hendrix MJ (2006) Biological functions of maspin. J Cell Physiol 209: 617-624.

Barnes L, Eveson JW, Reichart P D. S (2005) *Pathology and genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. Pathology and

genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press, Lyon.

Barnes L, Rao U, Krause J, Contis L, Schwartz A Scalamogna P (1994) Salivary duct carcinoma. Part I. A clinicopathologic evaluation and DNA image analysis of 13 cases with review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 78: 64-73.

Bell RB, Dierks EJ, Homer L Potter BE (2005) Management and outcome of patients with malignant salivary gland tumors. *J Oral Maxillofac Surg* 63: 917-928.

Bhattacharyya N Fried MP (2005) Determinants of survival in parotid gland carcinoma: a population-based study. *Am J Otolaryngol* 26: 39-44.

Böcker W, Denk H Heiz PU (2004) *Pathologie*. Elsevier, Urban Fischer, München.

Boenisch T (2006) *Immunhistochemische Färbemethoden*. Dako North America, Carpinteria, CA.

Brandwein-Gensler MS, Skalova A Nagao T (2005) Salivary duct carcinoma. In Barnes, L., Eveson, J.W., Reichart, P. & D., S. (eds) *Pathology and genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. IARC Press, Lyon. pp. 236-237.

Brandwein MS, Ferlito A, Bradley PJ, Hille JJ Rinaldo A (2002) Diagnosis and classification of salivary neoplasms: pathologic challenges and relevance to clinical outcomes. *Acta Otolaryngol* 122: 758-764.

Cerilli LA, Swartzbaugh JR, Saadut R, Marshall CE, Rumpel CA, Moskaluk CA Frierson HF, Jr. (1999) Analysis of chromosome 9p21 deletion and p16 gene mutation in salivary gland carcinomas. *Hum Pathol* 30: 1242-1246.

Cheuk W Chan JK (2007) Advances in salivary gland pathology. *Histopathology* 51: 1-20.

Cho JH, Kim HS, Park CS, Kim JK, Jung KY, Shin BK Kim HK (2007) Maspin expression in early oral tongue cancer and its relation to expression of mutant-type p53 and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Oral Oncol* 43: 272-277.

- Ciardiello F Tortora G (2008) EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 358: 1160-1174.
- Crile G (1906) III. On the Technique of Operations upon the Head and Neck. *Ann Surg* 44: 842-850.
- da Cruz Perez DE, de Abreu Alves F, Nobuko Nishimoto I, de Almeida OP Kowalski LP (2006) Prognostic factors in head and neck adenoid cystic carcinoma. *Oral Oncol* 42: 139-146.
- Dahse R, Driemel O, Schwarz S, Dahse J, Kromeyer-Hauschild K, Berndt A Kosmehl H (2009a) Epidermal growth factor receptor kinase domain mutations are rare in salivary gland carcinomas. *Br J Cancer* 100: 623-625.
- Dahse R, Driemel O, Schwarz S, Kromeyer-Hauschild K, Berndt A Kosmehl H (2009b) KRAS status and epidermal growth factor receptor expression as determinants for anti-EGFR therapies in salivary gland carcinomas. *Oral Oncol*
- Dahse R Kosmehl H (2008) Detection of drug-sensitizing EGFR exon 19 deletion mutations in salivary gland carcinoma. *Br J Cancer* 99: 90-92.
- de Araujo VC, Altemani A, Furuse C, Martins MT de Araujo NS (2006) Immunoprofile of reactive salivary myoepithelial cells in intraductal areas of carcinoma ex-pleomorphic adenoma. *Oral Oncol* 42: 1011-1016.
- Delgado R, Vuitch F Albores-Saavedra J (1993) Salivary duct carcinoma. *Cancer* 72: 1503-1512.
- Di Palma S, Simpson RHW, Skalova A Leivo I (2006) Major and minor salivary glands. In Cardesa, A. & Slootweg, P.J. (eds) *Pathology of the head and neck*. Springer, Berlin Heidelberg. pp. 132-170.
- Di Palma S, Skalova A, Vanieek T, Simpson RH, Starek I Leivo I (2005) Non-invasive (intracapsular) carcinoma ex pleomorphic adenoma: recognition of focal carcinoma by HER-2/neu and MIB1 immunohistochemistry. *Histopathology* 46: 144-152.

- Driemel O, Kraft K Hemmer J (2007) [DNA ploidy and proliferative activity in salivary gland tumours]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 11: 139-144.
- El-Naggar AK Huvos AG (2005) Adenoid cystic carcinoma. In Barnes, L., Eveson, J.W., Reichart, P. & D., S. (eds) *Pathology and genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. IARC Press, Lyon. pp. 221-222.
- Ellis G Simpson RHW (2005) Acinic cell carcinoma. In Barnes, L., Eveson, J.W., Reichart, P. & Sidransky, D. (eds) *Pathology and genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. IARC Press, Lyon. pp. 216-218.
- Ellis GL Auclair PL (1996) *Tumours of the salivary glands*. Armed Forces Institute of Pathology, Washington.
- Ellis GL Auclair PL (2003) Modern Surgical Pathology. In Weidner, N., Cote, R.J., Suster, S. & Weiss, L.M. (eds) *Modern Surgical Pathology*. Vol. 1. Saunders, Philadelphia London New York. pp. 242-280.
- Ellis GL Corio RL (1983) Acinic cell adenocarcinoma. A clinicopathologic analysis of 294 cases. *Cancer* 52: 542-549.
- Eneroth CM (1972) Facial nerve paralysis. A criterion of malignancy in parotid tumors. *Arch Otolaryngol* 95: 300-304.
- Ettl T, Schwarz S, Kleinsasser N, Hartmann A, Reichert TE Driemel O (2008a) Overexpression of EGFR and absence of C-KIT expression correlate with poor prognosis in salivary gland carcinomas. *Histopathology* 53: 567-577.
- Ettl T, Schwarz S, Kuhnel T, Stockmann P, Reichert TE Driemel O (2008b) [Prognostic value of immunohistochemistry in salivary gland cancer]. *Hno* 56: 231-238.
- Eveson JW, Auclair P, Gnepp DR El-Naggar AK (2005) Tumours of the salivary glands: Introduction. In Barnes, L., Eveson, J.W., Reichart, P. & D., S. (eds) *Pathology and genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. IARC Press, Lyon. pp. 212-215.

Eveson JW Cawson RA (1985) Salivary gland tumours. A review of 2410 cases with particular reference to histological types, site, age and sex distribution. *J Pathol* 146: 51-58.

Faivre S, Raymond E, Casiraghi O, Temam S Berthaud P (2005) Imatinib mesylate can induce objective response in progressing, highly expressing KIT adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *J Clin Oncol* 23: 6271-6273; author reply 6273-6274.

Felix A, El-Naggar AK, Press MF, Ordonez NG, Fonseca I, Tucker SL, Luna MA Batsakis JG (1996) Prognostic significance of biomarkers (c-erbB-2, p53, proliferating cell nuclear antigen, and DNA content) in salivary duct carcinoma. *Hum Pathol* 27: 561-566.

Ferlito A, Robbins KT, Silver CE, Hasegawa Y Rinaldo A (2008) Classification of neck dissections: An evolving system. *Auris Nasus Larynx*  
Freier K, Flechtenmacher C, Walch A, Devens F, Muhling J, Lichter P, Joos S Hofele C (2005) Differential KIT expression in histological subtypes of adenoid cystic carcinoma (ACC) of the salivary gland. *Oral Oncol* 41: 934-939.

Gallo O, Franchi A, Bianchi S, Boddi V, Giannelli E Alajmo E (1995) p53 oncoprotein expression in parotid gland carcinoma is associated with clinical outcome. *Cancer* 75: 2037-2044.

Garden AS, el-Naggar AK, Morrison WH, Callender DL, Ang KK Peters LJ (1997) Postoperative radiotherapy for malignant tumors of the parotid gland. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 37: 79-85.

Gibbons MD, Manne U, Carroll WR, Peters GE, Weiss HL Grizzle WE (2001) Molecular differences in mucoepidermoid carcinoma and adenoid cystic carcinoma of the major salivary glands. *Laryngoscope* 111: 1373-1378.

- Glisson B, Colevas AD, Haddad R, Krane J, El-Naggar A, Kies M, Costello R, Summey C, Arquette M, Langer C, Amrein PC Posner M (2004) HER2 expression in salivary gland carcinomas: dependence on histological subtype. *Clin Cancer Res* 10: 944-946.
- Gnepp DR, Brandwein-Gensler MS, El-Naggar AK Nagao T (2005) Carcinoma ex pleomorphic adenoma. In Barnes, L., Eveson, J.W., Rechert, P. & D., S. (eds) *Pathology and genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. IARC Press, Lyon. pp. 242-243.
- Godballe C, Schultz JH, Krogdahl A, Moller-Grontved A Johansen J (2003) Parotid carcinoma: impact of clinical factors on prognosis in a histologically revised series. *Laryngoscope* 113: 1411-1417.
- Goode RK El-Naggar AK (2005) Mucoepidermoid carcinoma. In Barnes, L., Eveson, J.W., Rechert, P. & D., S. (eds) *Pathology and genetics of head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours*. IARC Press, Lyon. pp. 219-220.
- Haddad R, Colevas AD, Krane JF, Cooper D, Glisson B, Amrein PC, Weeks L, Costello R Posner M (2003) Herceptin in patients with advanced or metastatic salivary gland carcinomas. A phase II study. *Oral Oncol* 39: 724-727.
- Harbo G, Bundgaard T, Pedersen D, Sogaard H Overgaard J (2002) Prognostic indicators for malignant tumours of the parotid gland. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 27: 512-516.
- Harish K (2004) Management of primary malignant epithelial parotid tumors. *Surg Oncol* 13: 7-16.
- Hellquist HB, Karlsson MG Nilsson C (1994) Salivary duct carcinoma--a highly aggressive salivary gland tumour with overexpression of c-erbB-2. *J Pathol* 172: 35-44.
- Hellquist HB, Sundelin K, Di Bacco A, Tytor M, Manzotti M Viale G (1997) Tumour growth fraction and apoptosis in salivary gland acinic cell carcinomas. Prognostic implications of Ki-67 and bcl-2 expression and of in situ end labelling (TUNEL). *J Pathol* 181: 323-329.

- Hemmer J, Nagel E Kraft K (1999) DNA aneuploidy by flow cytometry is an independent prognostic factor in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Anticancer Res* 19: 1419-1422.
- Hocwald E, Korkmaz H, Yoo GH, Adsay V, Shibuya TY, Abrams J Jacobs JR (2001) Prognostic factors in major salivary gland cancer. *Laryngoscope* 111: 1434-1439.
- Holst VA, Marshall CE, Moskaluk CA Frierson HF, Jr. (1999) KIT protein expression and analysis of c-kit gene mutation in adenoid cystic carcinoma. *Mod Pathol* 12: 956-960.
- Hong SM, Hwang I, Song DE, Choi J Yu E (2007) Clinical and prognostic significances of nuclear and cytoplasmic KIT expressions in extrahepatic bile duct carcinomas. *Mod Pathol* 20: 562-569.
- Hosal AS, Fan C, Barnes L Myers EN (2003) Salivary duct carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 129: 720-725.
- Hotte SJ, Winquist EW, Lamont E, MacKenzie M, Vokes E, Chen EX, Brown S, Pond GR, Murgo A Siu LL (2005) Imatinib mesylate in patients with adenoid cystic cancers of the salivary glands expressing c-kit: a Princess Margaret Hospital phase II consortium study. *J Clin Oncol* 23: 585-590.
- Huvos AG Paulino AFG (2004) Salivary glands. In Mills, S.E., Carter, D., Greenson, J.K., Oberman, H.A., Reuter, V. & Stoler, M.H. (eds) *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. Vol. 1. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. pp. 933-962.
- Jaehne M, Roeser K, Jaekel T, Schepers JD, Albert N Loning T (2005) Clinical and immunohistologic typing of salivary duct carcinoma: a report of 50 cases. *Cancer* 103: 2526-2533.
- Jeng YM, Lin CY Hsu HC (2000) Expression of the c-kit protein is associated with certain subtypes of salivary gland carcinoma. *Cancer Lett* 154: 107-111.
- Karja VJ, Syrjanen KJ, Kurvinen AK Syrjanen SM (1997) Expression and mutations of p53 in salivary gland tumours. *J Oral Pathol Med* 26: 217-223.

- Katakura H, Takenaka K, Nakagawa M, Sonobe M, Adachi M, Ito S, Wada H Tanaka F (2006) Maspin gene expression is a significant prognostic factor in resected non-small cell lung cancer (NSCLC). *Maspin in NSCLC.* Lung Cancer 51: 323-328.
- Katopodi E, Patsouris E, Papanikolaou V, Karameris A, Douzinas E Papanicolaou S (2003) Immunohistochemical detection of epidermal growth factor and its receptor in salivary gland carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 95: 266-268.
- Khan AJ, DiGiovanna MP, Ross DA, Sasaki CT, Carter D, Son YH Haffty BG (2001) Adenoid cystic carcinoma: a retrospective clinical review. *Int J Cancer* 96: 149-158.
- Kirschner M, Heberer G, Pichlmayr R Hausamen JE (1995) *Mund-, Kiefer- und Gesichtsschirurgie (Kirschnersche allgemeine und spezielle Operationslehre).* Springer, Berlin.
- Kiyoshima T, Shima K, Kobayashi I, Matsuo K, Okamura K, Komatsu S, Rasul AM Sakai H (2001) Expression of p53 tumor suppressor gene in adenoid cystic and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. *Oral Oncol* 37: 315-322.
- Kokemuller H, Bruggemann N, Brachvogel P Eckardt A (2004) [Malignant epithelial salivary gland tumors. Clinical review of 2 decades]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 8: 191-201.
- Kokemuller H, Eckardt A, Brachvogel P Hausamen JE (2003) [Adenoid cystic carcinoma of the major and minor salivary glands. Retrospective analysis of 74 patients]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 7: 94-101.
- Lang S, Rotter N, Lorenzen A, Ihrler S, Eckel R, Holzel D, Rasp G, Wollenberg B Sommer K (2005a) [Salivary gland carcinomas Part II. Diagnosis and therapy]. *Hno* 53: 905-911; quiz 912-903.
- Lang S, Rotter N, Lorenzen A, Ihrler S, Eckel R, Holzel D, Rasp G, Wollenberg B Sommer K (2005b) [Salivary gland carcinomas. 1. Epidemiology, etiology, malignancy criteria, prognostic parameters and classification]. *Hno* 53: 817-826; quiz 827-818.

- Laurie SA Licitra L (2006) Systemic therapy in the palliative management of advanced salivary gland cancers. *J Clin Oncol* 24: 2673-2678.
- Law RH, Irving JA, Buckle AM, Ruzyla K, Buzzo M, Bashtannyk-Puhalovich TA, Beddoe TC, Nguyen K, Worrall DM, Bottomley SP, Bird PI, Rossjohn J Whisstock JC (2005) The high resolution crystal structure of the human tumor suppressor maspin reveals a novel conformational switch in the G-helix. *J Biol Chem* 280: 22356-22364.
- Leivo I (2006) Insights into a complex group of neoplastic disease: advances in histopathologic classification and molecular pathology of salivary gland cancer. *Acta Oncol* 45: 662-668.
- Lewis JE, McKinney BC, Weiland LH, Ferreiro JA Olsen KD (1996) Salivary duct carcinoma. Clinicopathologic and immunohistochemical review of 26 cases. *Cancer* 77: 223-230.
- Lewis JE, Olsen KD Sebo TJ (2001) Carcinoma ex pleomorphic adenoma: pathologic analysis of 73 cases. *Hum Pathol* 32: 596-604.
- Lewis JE, Olsen KD Weiland LH (1991) Acinic cell carcinoma. Clinicopathologic review. *Cancer* 67: 172-179.
- Licitra L, Grandi C, Prott FJ, Schornagel JH, Bruzzi P Molinari R (2003) Major and minor salivary glands tumours. *Crit Rev Oncol Hematol* 45: 215-225.
- Lima RA, Tavares MR, Dias FL, Kligerman J, Nascimento MF, Barbosa MM, Cernea CR, Soares JR, Santos IC Salviano S (2005) Clinical prognostic factors in malignant parotid gland tumors. *Otolaryngol Head Neck Surg* 133: 702-708.
- Liu J, Yin S, Reddy N, Spencer C Sheng S (2004) Bax mediates the apoptosis-sensitizing effect of maspin. *Cancer Res* 64: 1703-1711.
- Locati LD, Bossi P, Perrone F, Potepan P, Crippa F, Mariani L, Casieri P, Orsenigo M, Losa M, Bergamini C, Liberatoscioli C, Quattrone P, Calderone RG, Rinaldi G, Pilotti S

- Licitra L (2008) Cetuximab in recurrent and/or metastatic salivary gland carcinomas: A phase II study. *Oral Oncol*
- Lockett J, Yin S, Li X, Meng Y Sheng S (2006) Tumor suppressive maspin and epithelial homeostasis. *J Cell Biochem* 97: 651-660.
- Lonardo F, Li X, Siddiq F, Singh R, Al-Abbad M, Pass HI Sheng S (2006) Maspin nuclear localization is linked to favorable morphological features in pulmonary adenocarcinoma. *Lung Cancer* 51: 31-39.
- Loning T Jakel KT (2004) [Salivary gland tumors--tumor typing and grading]. *Pathologe* 25: 38-45.
- Lorenz W (1981) [Retrospective trials in surgery: an introduction to terminology and specific problems (author's transl)]. *Langenbecks Arch Chir* 355: 387-391.
- Luukkaa H, Klemi P, Leivo I, Koivunen P, Laranne J, Makitie A, Virtaniemi J, Hinkka S Grenman R (2005) Salivary gland cancer in Finland 1991--96: an evaluation of 237 cases. *Acta Otolaryngol* 125: 207-214.
- Luukkaa H, Klemi P, Leivo I, Vahlberg T Grenman R (2006) Prognostic significance of Ki-67 and p53 as tumor markers in salivary gland malignancies in Finland: an evaluation of 212 cases. *Acta Oncol* 45: 669-675.
- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J Haber DA (2004) Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 350: 2129-2139.
- Maass N, Hojo T, Ueding M, Luttges J, Kloppel G, Jonat W Nagasaki K (2001) Expression of the tumor suppressor gene Maspin in human pancreatic cancers. *Clin Cancer Res* 7: 812-817.

- Machtens S, Serth J, Bokemeyer C, Bathke W, Minssen A, Kollmannsberger C, Hartmann J, Knuchel R, Kondo M, Jonas U Kuczyk M (2001) Expression of the p53 and Maspin protein in primary prostate cancer: correlation with clinical features. *Int J Cancer* 95: 337-342.
- Marioni G, Blandamura S, Giacomelli L, Calgaro N, Segato P, Leo G, Fischetto D, Staffieri A de Filippis C (2005) Nuclear expression of maspin is associated with a lower recurrence rate and a longer disease-free interval after surgery for squamous cell carcinoma of the larynx. *Histopathology* 46: 576-582.
- Marioni G, Gaio E, Giacomelli L, Bertolin A, D'Alessandro E, Stramare R, Facco E, Staffieri A Blandamura S (2008) MASPIN subcellular localization and expression in oral cavity squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 265 Suppl 1: S97-104.
- Martins MT, Altemani A, Freitas L Araujo VC (2005) Maspin expression in carcinoma ex pleomorphic adenoma. *J Clin Pathol* 58: 1311-1314.
- Medina JE (1998) Neck dissection in the treatment of cancer of major salivary glands. *Otolaryngol Clin North Am* 31: 815-822.
- Meer S Altini M (2007) CK7+/CK20- immunoexpression profile is typical of salivary gland neoplasia. *Histopathology* 51: 26-32.
- Merkel DE McGuire WL (1990) Ploidy, proliferative activity and prognosis. DNA flow cytometry of solid tumors. *Cancer* 65: 1194-1205.
- Milanes-Yearsley M, Hammond ME, Pajak TF, Cooper JS, Chang C, Griffin T, Nelson D, Laramore G Pilepich M (2002) Tissue micro-array: a cost and time-effective method for correlative studies by regional and national cancer study groups. *Mod Pathol* 15: 1366-1373.
- Mino M, Pilch BZ Faquin WC (2003) Expression of KIT (CD117) in neoplasms of the head and neck: an ancillary marker for adenoid cystic carcinoma. *Mod Pathol* 16: 1224-1231.

- Mohsin SK, Zhang M, Clark GM Craig Allred D (2003) Maspin expression in invasive breast cancer: association with other prognostic factors. *J Pathol* 199: 432-435.
- Nakashima D, Uzawa K, Kasamatsu A, Koike H, Endo Y, Saito K, Hashitani S, Numata T, Urade M Tanzawa H (2006) Protein expression profiling identifies maspin and stathmin as potential biomarkers of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Int J Cancer* 118: 704-713.
- Nascimento AG, Amaral AL, Prado LA, Kligerman J Silveira TR (1986) Adenoid cystic carcinoma of salivary glands. A study of 61 cases with clinicopathologic correlation. *Cancer* 57: 312-319.
- Navarro Rde L, Martins MT de Araujo VC (2004) Maspin expression in normal and neoplastic salivary gland. *J Oral Pathol Med* 33: 435-440.
- Neville B, Damm DD, Allen CM Bouquot J (2009) Salivary Gland Pathology. In Neville, B., Damm, D.D., Allen, C.M. & Bouquot, J. (eds) *Oral and Maxillofacial Pathology*. Saunders, St Louis. pp. 453-506.
- Nishimine M, Nakamura M, Kishi M, Okamoto M, Shimada K, Ishida E, Kirita T Konishi N (2003) Alterations of p14ARF and p16INK4a genes in salivary gland carcinomas. *Oncol Rep* 10: 555-560.
- Norberg-Spaak L, Dardick I Ledin T (2000) Adenoid cystic carcinoma: use of cell proliferation, BCL-2 expression, histologic grade, and clinical stage as predictors of clinical outcome. *Head Neck* 22: 489-497.
- Nordgard S, Franzen G, Boysen M Halvorsen TB (1997) Ki-67 as a prognostic marker in adenoid cystic carcinoma assessed with the monoclonal antibody MIB1 in paraffin sections. *Laryngoscope* 107: 531-536.
- Normanno N, de Luca A, Bianco C, Strizzi L, Mancino M, Maiello MR, Carotenuto A, de Feo G, Caponigro F Salomon DS (2006) Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene* 366: 2-16.

- Penner CR, Folpe AL Budnick SD (2002) C-kit expression distinguishes salivary gland adenoid cystic carcinoma from polymorphous low-grade adenocarcinoma. *Mod Pathol* 15: 687-691.
- Pfeffer MR, Talmi Y, Catane R, Symon Z, Yosepovitch A Levitt M (2007) A phase II study of Imatinib for advanced adenoid cystic carcinoma of head and neck salivary glands. *Oral Oncol* 43: 33-36.
- Pich A, Chiusa L Navone R (2004) Prognostic relevance of cell proliferation in head and neck tumors. *Ann Oncol* 15: 1319-1329.
- Pires FR, Pringle GA, de Almeida OP Chen SY (2007) Intra-oral minor salivary gland tumors: a clinicopathological study of 546 cases. *Oral Oncol* 43: 463-470.
- Pohar S, Gay H, Rosenbaum P, Klish D, Bogart J, Sagerman R, Hsu J Kellman R (2005) Malignant parotid tumors: presentation, clinical/pathologic prognostic factors, and treatment outcomes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 61: 112-118.
- Press MF, Pike MC, Hung G, Zhou JY, Ma Y, George J, Dietz-Band J, James W, Slamon DJ, Batsakis JG et al. (1994) Amplification and overexpression of HER-2/neu in carcinomas of the salivary gland: correlation with poor prognosis. *Cancer Res* 54: 5675-5682.
- Rao PH, Roberts D, Zhao YJ, Bell D, Harris CP, Weber RS El-Naggar AK (2008) Deletion of 1p32-p36 is the most frequent genetic change and poor prognostic marker in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Clin Cancer Res* 14: 5181-5187.
- Rapidis AD, Givalos N, Gakiopoulou H, Stavrianos SD, Faratzis G, Lagogiannis GA, Katsilieris I Patsouris E (2007) Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. Review of the literature and clinicopathological analysis of 18 patients. *Oral Oncol* 43: 130-136.

- Ravdin PM Chamness GC (1995) The c-erbB-2 proto-oncogene as a prognostic and predictive marker in breast cancer: a paradigm for the development of other macromolecular markers--a review. *Gene* 159: 19-27.
- Renehan A, Gleave EN, Hancock BD, Smith P McGurk M (1996) Long-term follow-up of over 1000 patients with salivary gland tumours treated in a single centre. *Br J Surg* 83: 1750-1754.
- Renehan AG, Gleave EN, Slevin NJ McGurk M (1999) Clinico-pathological and treatment-related factors influencing survival in parotid cancer. *Br J Cancer* 80: 1296-1300.
- Robbins KT, Shaha AR, Medina JE, Califano JA, Wolf GT, Ferlito A, Som PM Day TA (2008) Consensus statement on the classification and terminology of neck dissection. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 134: 536-538.
- Rodriguez-Cuevas S, Labastida S, Baena L Gallegos F (1995) Risk of nodal metastases from malignant salivary gland tumors related to tumor size and grade of malignancy. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 252: 139-142.
- Rohr UP, Rehfeld N, Pflugfelder L, Geddert H, Muller W, Steidl U, Fenk R, Graf T, Schott M, Thiele KP, Gabbert HE, Germing U, Kronenwett R Haas R (2004) Expression of the tyrosine kinase c-kit is an independent prognostic factor in patients with small cell lung cancer. *Int J Cancer* 111: 259-263.
- Roskoski R, Jr. (2004) The ErbB/HER receptor protein-tyrosine kinases and cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 319: 1-11.
- Samant S Robbins KT (2003) Evolution of neck dissection for improved functional outcome. *World J Surg* 27: 805-810.
- Schwarz S, Ettl T, Kleinsasser N, Hartmann A, Reichert TE Driemel O (2008) Loss of Maspin expression is a negative prognostic factor in common salivary gland tumors. *Oral Oncol* 44: 563-570.

- Schwenzer N Ehrenfeld M (2002) *Spezielle Chirurgie*. Vol. 2. Zahn-Mund-Kieferheilkunde. Thieme, Stuttgart.
- Seifert G (1997) [Diagnosis and prognosis of salivary gland tumors. An interpretation of new revised WHO classification]. *Mund Kiefer Gesichtschir* 1: 252-267.
- Shah JP (2004) *Head and Neck Surgery and Oncology*. Mosby, London New York.
- Sheng S (2006) A role of novel serpin maspin in tumor progression: the divergence revealed through efforts to converge. *J Cell Physiol* 209: 631-635.
- Skalova A, Lehtonen H, von Boguslawsky K Leivo I (1994a) Prognostic significance of cell proliferation in mucoepidermoid carcinomas of the salivary gland: clinicopathological study using MIB 1 antibody in paraffin sections. *Hum Pathol* 25: 929-935.
- Skalova A, Leivo I, Von Boguslawsky K Saksela E (1994b) Cell proliferation correlates with prognosis in acinic cell carcinomas of salivary gland origin. Immunohistochemical study of 30 cases using the MIB 1 antibody in formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 173: 13-21.
- Skalova A, Starek, Kucerova V, Szepe P Plank L (2001) Salivary duct carcinoma--a highly aggressive salivary gland tumor with HER-2/neu oncprotein overexpression. *Pathol Res Pract* 197: 621-626.
- Skalova A, Starek I, Vanecek T, Kucerova V, Plank L, Szepe P, Di Palma S Leivo I (2003) Expression of HER-2/neu gene and protein in salivary duct carcinomas of parotid gland as revealed by fluorescence in-situ hybridization and immunohistochemistry. *Histopathology* 42: 348-356.
- Sobin LH Wittekind C (2002) *TNM: Classification of Malignant Tumours*. John Wiley & Sons, New York.
- Solomon LA, Munkarah AR, Schimp VL, Arabi MH, Morris RT, Nassar H Ali-Fehmi R (2006) Maspin expression and localization impact on angiogenesis and prognosis in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 101: 385-389.

- Sorensen KB, Godballe C, de Stricker K Krogdahl A (2006) Parotid carcinoma: expression of kit protein and epidermal growth factor receptor. *J Oral Pathol Med* 35: 286-291.
- Speight PM Barrett AW (2002) Salivary gland tumours. *Oral Dis* 8: 229-240.
- Spiro JD Spiro RH (2003) Salivary gland neoplasms. In Evans, P.H.R., Mongomery, P.Q. & Gullane, P.J. (eds) *Principles and Practice of Head and Neck Oncology*. MD Martin Dunitz, London New York. pp. 385-403.
- Spiro RH (1986) Salivary neoplasms: overview of a 35-year experience with 2,807 patients. *Head Neck Surg* 8: 177-184.
- Spiro RH, Armstrong J, Harrison L, Geller NL, Lin SY Strong EW (1989) Carcinoma of major salivary glands. Recent trends. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 115: 316-321.
- Spiro RH Huvos AG (1992) Stage means more than grade in adenoid cystic carcinoma. *Am J Surg* 164: 623-628.
- Spiro RH, Koss LG, Hajdu SI Strong EW (1973) Tumors of minor salivary origin. A clinicopathologic study of 492 cases. *Cancer* 31: 117-129.
- Stern WB, Silver CE, Zeifer BA, Persky MS Heller KS (1990) Computed tomography of the clinically negative neck. *Head Neck* 12: 109-113.
- Storey MR, Garden AS, Morrison WH, Eicher SA, Schechter NR Ang KK (2001) Postoperative radiotherapy for malignant tumors of the submandibular gland. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 51: 952-958.
- Szanto PA, Luna MA, Tortoledo ME White RA (1984) Histologic grading of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Cancer* 54: 1062-1069.
- Terhaard C, Lubsen H, Tan B, Merkx T, van der Laan B, Baatenburg de Jong R, Manni H Knegt P (2006) Facial nerve function in carcinoma of the parotid gland. *Eur J Cancer* 42: 2744-2750.

- Terhaard CH, Lubsen H, Rasch CR, Levendag PC, Kaanders HH, Tjho-Heslinga RE, van Den Ende PL Burlage F (2005) The role of radiotherapy in the treatment of malignant salivary gland tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 61: 103-111.
- Terhaard CH, Lubsen H, Van der Tweel I, Hilgers FJ, Eijkenboom WM, Marres HA, Tjho-Heslinga RE, de Jong JM Roodenburg JL (2004) Salivary gland carcinoma: independent prognostic factors for locoregional control, distant metastases, and overall survival: results of the Dutch head and neck oncology cooperative group. *Head Neck* 26: 681-692; discussion 692-683.
- Therkildsen MH, Christensen M, Andersen LJ, Schiodt T Hansen HS (1998) Salivary gland carcinomas--prognostic factors. *Acta Oncol* 37: 701-713.
- Tortoledo ME, Luna MA Batsakis JG (1984) Carcinomas ex pleomorphic adenoma and malignant mixed tumors. Histomorphologic indexes. *Arch Otolaryngol* 110: 172-176.
- Tsutsui S, Yasuda K, Suzuki K, Takeuchi H, Nishizaki T, Higashi H Era S (2006) A loss of c-kit expression is associated with an advanced stage and poor prognosis in breast cancer. *Br J Cancer* 94: 1874-1878.
- Umekita Y, Ohi Y, Sagara Y Yoshida H (2002) Expression of maspin predicts poor prognosis in breast-cancer patients. *Int J Cancer* 100: 452-455.
- Umekita Y Yoshida H (2003) Expression of maspin is up-regulated during the progression of mammary ductal carcinoma. *Histopathology* 42: 541-545.
- Vandecaveye V, De Keyzer F, Vander Poorten V, Dirix P, Verbeken E, Nuyts S Hermans R (2009) Head and neck squamous cell carcinoma: value of diffusion-weighted MR imaging for nodal staging. *Radiology* 251: 134-146.
- Vander Poorten VL, Balm AJ, Hilgers FJ, Tan IB, Loftus-Coll BM, Keus RB Hart AA (1999a) Prognostic factors for long term results of the treatment of patients with malignant submandibular gland tumors. *Cancer* 85: 2255-2264.

- Vander Poorten VL, Balm AJ, Hilgers FJ, Tan IB, Loftus-Coll BM, Keus RB, van Leeuwen FE Hart AA (1999b) The development of a prognostic score for patients with parotid carcinoma. *Cancer* 85: 2057-2067.
- Venook AP, Tseng A, Jr., Meyers FJ, Silverberg I, Boles R, Fu KK Jacobs CD (1987) Cisplatin, doxorubicin, and 5-fluorouracil chemotherapy for salivary gland malignancies: a pilot study of the Northern California Oncology Group. *J Clin Oncol* 5: 951-955.
- Vered M, Braunstein E Buchner A (2002) Immunohistochemical study of epidermal growth factor receptor in adenoid cystic carcinoma of salivary gland origin. *Head Neck* 24: 632-636.
- Wahlberg P, Anderson H, Biorklund A, Moller T Perfekt R (2002) Carcinoma of the parotid and submandibular glands--a study of survival in 2465 patients. *Oral Oncol* 38: 706-713.
- Wang SE, Narasanna A, Whitell CW, Wu FY, Friedman DB Arteaga CL (2007) Convergence of p53 and transforming growth factor beta (TGF $\beta$ ) signaling on activating expression of the tumor suppressor gene maspin in mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 282: 5661-5669.
- Xia W, Lau YK, Hu MC, Li L, Johnston DA, Sheng S, El-Naggar A Hung MC (2000) High tumoral maspin expression is associated with improved survival of patients with oral squamous cell carcinoma. *Oncogene* 19: 2398-2403.
- Yasumatsu R, Nakashima T, Hirakawa N, Kumamoto Y, Kuratomi Y, Tomita K Komiyama S (2001) Maspin expression in stage I and II oral tongue squamous cell carcinoma. *Head Neck* 23: 962-966.
- Yih WY, Kratochvil FJ Stewart JC (2005) Intraoral minor salivary gland neoplasms: review of 213 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 63: 805-810.

- Yoo J, Robinson RA (2000) H-ras gene mutations in salivary gland mucoepidermoid carcinomas. *Cancer* 88: 518-523.
- Zbaeren P, Lehmann W, Widgren S (1991) Acinic cell carcinoma of minor salivary gland origin. *J Laryngol Otol* 105: 782-785.
- Zbaren P, Schupbach J, Nuyens M, Stauffer E, Greiner R, Hausler R (2003) Carcinoma of the parotid gland. *Am J Surg* 186: 57-62.
- Zou Z, Anisowicz A, Hendrix MJ, Thor A, Neveu M, Sheng S, Rafidi K, Seftor E, Sager R (1994) Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial cells. *Science* 263: 526-529.
- Zou Z, Gao C, Nagaich AK, Connell T, Saito S, Moul JW, Seth P, Appella E, Srivastava S (2000) p53 regulates the expression of the tumor suppressor gene maspin. *J Biol Chem* 275: 6051-6054.

## **Danksagung**

Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. Oliver Driemel danke ich vielmals für die Betreuung der Dissertation. Ohne seine fachliche Unterstützung bei der Konzeption und Ausarbeitung wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen.

Ein besonderes Dankeschön gilt Herrn Dr. Stephan Schwarz für die histopathologische und immunhistochemische Auswertung der Färbungen sowie für seine Erklärungen und Ratschläge bei der Statistik.

Herrn Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert danke ich für die Zustimmung zur Durchführung dieser Arbeit und für die Bereitstellung der labortechnischen Utensilien.

Der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde danke ich für die Bereitstellung der klinischen Daten ihrer Patienten.

Weiterhin danke ich Frau Anja Reck für ihr unermüdliches Engagement bei den labortechnischen Fragen und Arbeiten.

# **Lebenslauf**

\*09.09.1977 in Roding/Opf./Bayern/Deutschland

## **Schulausbildung**

- |           |                                |
|-----------|--------------------------------|
| 1984-1988 | Grundschule in Bruck i.d.Opf.  |
| 1988-1997 | Regental-Gymnasium in Nittenau |

## **(Zahn-) Medizinische Ausbildung**

- |           |   |
|-----------|---|
| 1997-2002 | Studium der Zahn-, Mund-, Kieferheilkunde, Universität Regensburg   |
| Juli 2003 | Zahnmedizinische Promotion am Lehrstuhl für Zahnerhaltung und Parodontologie, Universität Regensburg (Direktor: Prof. Dr. G. Schmalz). Thema: „Zytotoxizität zahnärztlicher Dentinadhäsive in Abhängigkeit der Restdentinschichtstärke“ |
| 2003-2008 | Studium der Medizin, Universität Regensburg   |
| 2005      | Beginn der medizinischen Promotion am Lehrstuhl für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Universität Regensburg (Direktor: Prof. Dr. Dr. T.E. Reichert). Thema: „Immunhistochemie als Prognoseindikator bei Speicheldrüsenkarzinomen“  |

## **Berufserfahrung**

- 01/01/03-31/03/04 Zahnärztlicher Assistent (Zahnarztpraxis Dr. K.-H. Saur, Schwandorf)
- 01/12/05-31/08/06 Zahnärztlicher Assistent (Zahnarztpraxis Dr. W. Ettl, Schwandorf)
- Seit 01/02/2009 Assistenzarzt an der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie des Universitätsklinikums Regensburg (Direktor:  
Prof. Dr. Dr. T.E. Reichert)