

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

BEDEUTUNG DES TUMORSUPPRESSORS FHIT UND DES
WACHSTUMSFAKTORS P27 FÜR DIE METASTASIERUNG UND PROGNOSE VON
SPEICHELDRÜSENKARZINOMEN

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Patty Renner

2018

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

BEDEUTUNG DES TUMORSUPPRESSORS FHIT UND DES
WACHSTUMSFAKTORS P27 FÜR DIE METASTASIERUNG UND PROGNOSE VON
SPEICHELDRÜSENKARZINOMEN

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Patty Renner

2018

Dekan:	Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr. Tobias Ettl
2. Berichterstatter:	PD Dr. Veronika Vielsmeier
Tag der mündlichen Prüfung:	10.9.2018

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	7
1.1 Maligne Speicheldrüsentumore	7
1.1.1 Epidemiologie	7
1.1.2 Ätiologie	8
1.1.3 Symptomatik	9
1.1.4 Diagnostik	10
1.2 Histologische Klassifikation	12
1.2.1 Adenoid-zystisches Karzinom (ICD-O: 8200/3)	13
1.2.2 Mukoepidermoidkarzinom (ICD-O: 8430/3)	15
1.2.3 Azinuszellkarzinom (ICD-O: 8550/3)	16
1.2.4 Adenokarzinom (ICD-O: 8140/3)	18
1.2.6 Speichelgangkarzinom (ICD-O: 8500/3)	18
1.2.6 Plattenepithelkarzinom (ICD-O:8070/3	20
1.2.2 Myoepitheliales Karzinom (ICD-O:8982/3)	20
1.2.3 Polymorphes niedrig-malignes Karzinom (ICD-O:8525/3).....	21
1.3 Staging	22
1.3.1 TNM-Klassifikation der UICC	22
1.3.2 Tumorgraduierung	25
1.3.1 R-Klassifikation	27
1.4 Therapie	27
1.4.1 Chirurgie.....	28
1.4.2 Lymphadenektomie	30
1.4.3 Strahlentherapie.....	33
1.4.4 Chemoprävention und Antikörpertherapie	34
1.5 Genetik.....	35
1.5.1 Aktuelle Forschung	35
1.5.2 FHIT	41
1.5.3 p27	42
2 Fragestellung	45

3 Patienten und Methoden	46
3.1 Patienten.....	46
3.2 Datenerhebung	46
3.3 Histopathologische Untersuchungen.....	47
3.4 Multiblock	47
3.5 Immunhistochemie	48
3.5.1 Entparaffinierung	49
3.5.2 Vorbehandlung.....	50
3.5.3 Immunfärbung und Detektion	50
3.6. Verwendete Materialien und Reagenzien	53
3.7 Auswertung der immunhistochemischen Färbungen	54
3.8 Statistische Auswertung	58
4 Ergebnisse	59
4.1 Deskriptive Analyse: Klinisch-pathologische Parameter	59
4.1.1 Tumorentitäten	59
4.1.2 Altersverteilung und Geschlechtsverteilung.....	63
4.1.3 Lokalisation.....	64
4.1.4 TNM-Klassifikation und Tumorstadium	65
4.1.5 Grading.....	69
4.1.6 Therapie	70
4.1.7 Rezidive.....	72
4.2 Deskriptive Analyse immunhistochemischer Parameter	74
4.2.1 FHIT	74
4.2.2 p27	79
4.3 Überleben und Prognose.....	84
4.3.1 Tumorentitäten	87
4.3.2 Geschlecht und Alter	88
4.3.3 Grading.....	89
4.3.2 Tumorlokalisation.....	90

4.3.5 TNM-Status	91
4.3.6 Therapie und Resektionsstatus	95
4.3.7 Rezidive.....	96
4.4 Univariate Überlebensanalyse: Genstatus	97
4.4.1 FHIT.....	97
4.4.2 p27	98
4.5 Multivariate Überlebensanalyse	99
5 Diskussion	100
5.1 Diskussion der Methodik.....	100
5.2 Diskussion der Ergebnisse.....	102
5.2.1 Deskriptive Analyse: Klinisch-pathologische Parameter.....	102
5.2.1.1 Tumorhistologie	102
5.2.1.2 Lokalisation, Geschlechts- und Altersverteilung	103
5.2.1.3 Grading.....	105
5.2.1.4 TNM-Klassifikation	106
5.2.1.5 Therapie und Residualtumor	107
5.2.1.6 Rezidive.....	109
5.2.2 Deskriptive Analyse: Immunhistochemische Parameter	109
5.2.2.1 FHIT	109
5.2.2.2 p27.....	112
5.2.3 Überleben und Prognose: Klinisch-pathologische Parameter.....	114
5.2.3.1 Histologischer Subtyp	114
5.2.3.2 Tumorlokalisierung, Geschlecht und Alter.....	115
5.2.3.3 Grading.....	115
5.2.3.4 TNM-Klassifikation	116
5.2.3.5 Resektionsstatus	117
5.2.3.6 Rezidive.....	117
5.2.4 Überleben und Prognose: Immunhistochemische Parameter	118
5.2.4.1 FHIT	118
5.2.4.2 p27.....	119
5.2.4.3 Multivariate Überlebensanalyse.....	120

6 Zusammenfassung und Fazit.....121

7 Literaturverzeichnis.....123

1 Maligne Speicheldrüsentumore

1.1 Hintergründe

1.1.1 Epidemiologie

Innerhalb der Speicheldrüsen können Tumore entstehen und wachsen, die vom spezifischen Speicheldrüsenparenchym oder vom unspezifischen Stroma ausgehen (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Man unterscheidet gutartige (Adenome) und bösartige Tumore (Adenokarzinome) der Speicheldrüsen. Die weltweite Inzidenz aller Speicheldrüsentumore liegt zwischen 0,4-13,5 pro 100000 Einwohner (Ellis GL. et al., 1991). Maligne Tumore der großen und kleinen Kopfspeicheldrüsen sind insgesamt jedoch selten. So besitzen bösartige Neoplasien der Speicheldrüsen lediglich einen Anteil von weniger als 1 % an allen malignen Erkrankungen und etwa 4% an den malignen Neoplasien im Kopf-, Halsbereich (Kokemüller H. et al., 2004). Speight und Barrett gaben 2002 Zahlen von 0,5% bezogen auf die malignen Tumorerkrankungen und 5% an den Karzinomen im Kopf-, Halsbereich an. Ihre Inzidenz wird mit 0,4-2,6 pro 100000 Einwohner angegeben (Koivunen P. et al., 2002, Pinkston JA. und Cole P., 1999). Sie machen etwa 20% aller Speicheldrüsentumore aus, so dass der überwiegende Teil gutartig ist (Speight PM. und Barrett AW., 2002). Zur Häufigkeit der Speicheldrüsentumore liegen zahlreiche größere Sammelstatistiken vor (Seifert 1996). Die unterschiedlichen Häufigkeitsangaben lassen sich durch eine spezielle Patientenselektion als auch teilweise auf geographische und ethnische Faktoren zurückführen (Eveson JW. et al., 2005).

Die meisten Speicheldrüsentumore (Anzahl der gut- und bösartigen) sind in der Glandula parotis lokalisiert (64-80%), meist im lateralen Drüsenanteil, gefolgt von den kleinen Speicheldrüsen mit 9-23%. Diejenigen der Glandula submandibularis machen 8-12%, die der Glandula sublingualis weniger als 1% aus (Ethuandan M. et al., 2008; Eveson JW. et al., 2005).

Der Anteil der Malignome beträgt für die Glandula parotis 15-32%, für die Gl. Submandibularis 41-45%, die Gl. Sublingualis 70-90% und die kleinen Speicheldrüsen 50%. Allerdings sind 80-100% der Speicheldrüsentumore in der Zunge und in der retromolaren Schleimhaut bösartig (Eveson JW. et al., 2005; Neville B. et al., 2009, Speight PM. und Barrett AW., 2002) Somit ist das Verhältnis von benignen zu malignen Neoplasien abhängig von der Lokalisation und beträgt in der Gl. Parotis etwa 4:1, in der Gl. Submandibularis und den kleinen Speicheldrüsen etwa 1:1 und in der Gl. sublingualis ca. 1:9.

Insgesamt scheinen Frauen etwas häufiger von dieser Krankheit betroffen als Männer, jedoch ist dies je nach Tumortyp unterschiedlich. Für beide Geschlechter steigt die Inzidenz mit zunehmendem Alter. Das Durchschnittsalter liegt für bösartige Neubildungen bei 47 Jahren. Allerdings ergeben sich Unterschiede je nach Tumortyp. So liegt die höchste Inzidenz des Mukoepidermoidkarzinoms (mit 20-35% insgesamt der häufigste maligne Tumor) und des Azinuszellkarzinoms in der dritten und vierten Lebensdekade (Eveson JW. et al., 2005).

Die häufigsten gutartigen Tumore sind das pleomorphe Adenom und der Warthin Tumor.

Bei Kindern, bei denen Speicheldrüsentumore noch seltener sind als bei Erwachsenen, ist die Verteilung maligner zu benignen Neoplasien in etwa 50:50. Das Mukoepidermoidkarzinom stellt auch bei Kindern analog zu den Erwachsenen den häufigsten bösartigsten Tumor dar (Kessler A. und Handler SD., 1994; Ogata H. et al., 1994).

1.1.2 Ätiologie

Die genauen Ursachen maligner Speicheldrüsentumore sind nicht ausreichend geklärt.

Langzeitstudien von Überlebenden der Atombombenabwürfe von Hiroshima und Nagasaki 1945 zeigen, dass radioaktive Strahlung einen starken Risikofaktor für deren Entwicklung darstellt. Das relative Risiko für bösartige Tumore stieg hierbei auf bis zu 11,0 an. (Ellis GL. und Auclair PL., 2003, Eveson JW. et al., 2005). Dabei konnte ein direkter Zusammenhang zwischen der Strahlendosis auf der einen Seite und der Inzidenz auf der anderen Seite festgestellt werden. Besonders beim Mukoepidermoidkarzinom war eine Zunahme in seiner absoluten und relativen Häufigkeit mit zunehmender Bestrahlungsdosis überproportional festzustellen (Takeichi N. et al., 1976; Takeichi N. et al., 1983). Bei den gutartigen Tumoren nahm die Zahl der Warthin-Tumore zu (Saku T. et al., 1997).

Somit erhöhen auch therapeutische oder diagnostische Bestrahlungen im Kopf- Hals Bereich das Risiko, an Speicheldrüsenkrebs zu erkranken. Darunter fallen auch zahnärztliche Röntgenaufnahmen, Behandlung der Schilddrüse oder ultraviolette Strahlung (Dietz A. et al., 1993; Modan B. et al, 1998; Ron E. und Satlas AF., 1996).

Die Verbindung von starkem Alkoholkonsum und regelmäßigem Rauchen, welche beide das Risiko für Zungen- und Mundbodentumore steigern, konnte als ätiologischer Faktor nicht endgültig bestätigt werden (Muscat JE. und Wynder EL., 1998). Zwar wurde in einer Studie von Horn-Ross PL. et al. eine Korrelation zwischen Tabak- und schwerem Alkoholkonsum und dem Auftreten von Speicheldrüsenkrebs gefunden, allerdings nur bei Männern (Horn-Ross PL

et al.,1997). Zusammenhänge zwischen Nikotinabusus und der Entwicklung von Warthin-Tumoren konnten belegt werden (Eveson JW. et al., 2005).

Die Studie von Horn- Ross PL. et al. aus dem Jahre 1997 zeigt zudem, dass wohl auch diätische Faktoren einen Einfluss ausüben. Während eine erhöhte Cholesterinzufuhr das Risiko steigern soll, wirkt die Einnahme von täglich mehr als 200 mg Vitamin C vorbeugend. Genauere Untersuchungen sind hierzu noch notwendig (Horn- Ross PL. et al.,1997).

Einige Viren stehen im Verdacht, hinsichtlich der Speicheldrüsentumorgenese eine Rolle zu spielen: Zusammenhänge bestehen z. B. zwischen Eppstein-Barr-Virusinfektionen und lymphoepithelialen Karzinomen. Diese machen jedoch weniger als 1% aller Speicheldrüsenkarzinome aus. Diese Verbindungen wurden in erster Linie für bestimmte Regionen und Ethnien, wie beispielsweise die Inuit der Arktis, Südost-Chinesen und Japaner nachgewiesen (Eveson JW. et al., 2005; Manganaris A. et al., 2007). Bei anderen Karzinomen der Speicheldrüsen wurde dieser Zusammenhang nicht nachgewiesen. Auch konnte keine Korrelation zwischen AIDS oder anderen durch Viren verursachte maligne Erkrankungen und Speicheldrüsenkarzinomen gefunden werden (Eveson JW. et al.,2005; Sun EC. et al., 1999).

Zudem scheint es ein höheres Risiko bei beruflich gegenüber Stoffen wie Asbest, Gummi, Nickel, Zementstaub oder in Kosmetik verwendeten Substanzen exponierten Personen zu geben. Gesichert ist dieser Zusammenhang jedoch nicht (Lang S. et al.,2005 b).

Noch unklar ist, inwieweit Sexualsteroidhormone bei der Ätiologie der Tumore eine Rolle spielen. Bei der Expression von Östrogen- und Progesteronrezeptoren in Speicheldrüsenkarzinomen gibt es keine einheitlichen Ergebnisse. Jedoch konnte für Androgenrezeptoren nachgewiesen werden, dass diese Rezeptorart gehäuft in duktalem Adenokarzinomen und anderen malignen Karzinomtypen exprimiert werden, jedoch nicht bei benignen Tumoren. Womöglich könnten Androgene somit an der Entstehung bestimmter Karzinomarten Einfluss nehmen (Eveson et al., 2005; Nasser SM et al., 2003).

1.1.3 Symptomatik

Klinisch zeigt sich eine unterschiedliche Symptomatik bei den Speicheldrüsentumoren.

40% der Karzinome sind zunächst durch eine schmerzlose Auftreibung gekennzeichnet. Oft ist eine knotig, derbe und unverschiebliche Schwellung festzustellen. Erst nach stark voran geschrittenem Wachstum können durch Einwachsen in Nachbarstrukturen Schmerzen oder Nervaussfälle auftreten (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Bei weiteren 10-20% der

Tumore wurden Merkmale wie aggressive Ausbreitung oder Paralyse des N. facialis beobachtet.

Eine Paralyse deutet stets auf eine Nervinfiltration eines Parotis-Malignoms hin. Im tieferen Anteil der Parotis lokalisierte Malignome breiten sich in der Regel im retromolaren Anteil der Drüse bis in den Parapharyngealraum und gelegentlich in den weichen Gaumen aus.

Anzeichen für ein malignes Geschehen können eine periphere Lähmung des N. facialis, eine Vergrößerung der ipsilateralen zervikalen Lymphknoten und eine Infiltration der oberflächlichen Haut sein, während sich benigne Tumore meist symptomlos verhalten (Shah JP.,2004).

Karzinome im fortgeschrittenen Stadium verursachen häufig Symptome wie Kieferklemme, Ulzerationen der Haut, Fistelbildung und Gewebezunahme im Bereich des Gaumens oder Rachens. Malignome der Gl. submandibularis sind zur Hälfte schmerzhaft (Spiro JD. und Spiro RH., 2003).

Ca 50% der Malignome der kleinen Speicheldrüsen verursachen eine schmerzlose Schwellung der Submukosa, oftmals werden submuköse Gewebsveränderungen mit kleinen Ulzerationen der Mukosa beobachtet. Differentialdiagnostisch können diese oft nur schwer vom Plattenepithelkarzinom unterschieden werden. Bevorzugt befallene Stellen in der Mundhöhle sind Gaumen, Lippen und Wangenschleimhaut (Neville B. et al., 2009).

1.1.4 Diagnostik

Um Lokalisation, Größe des Primärtumors und eventuelle Lymphknotenmetastasen zu erkennen, werden nach ausführlicher Anamnese und klinischer Untersuchung als bildgebende Verfahren die Sonografie, Computertomografie (CT), CT-gestützte Sialografie und Magnetresonanztomografie als gängigste bildgebenden Verfahren in der Diagnostik maligner Speicheldrüsenneoplasien angewandt (Eveson JW. et al., 2005). Mit diesen genannten Verfahren kann die Ausdehnung des Tumors, inwieweit eine intraglanduläre Läsion vorliegt, oder ob bereits angrenzende Strukturen befallen sind, beurteilt werden (Spiro JD. und Spiro RH.,2003; Shah JP., 2004). Besonders die Magnetresonanztomografie (MRT) hat wegen des hohen Weichteilkontrastes in der Darstellung der Grenzfläche zwischen erkranktem und umgebendem gesunden Gewebe und somit zur Darstellung der Ausdehnung des Tumors im Weichgewebe Vorteile und beinhaltet zudem keine Strahlenbelastung.

Die Computertomographie eignet sich dagegen zur Beurteilung möglicher Knocheninfiltrationen.

MRT und CT unterstützen die Entscheidungsfindung zur Durchführung einer Neck dissection (chirurgische Entfernung metastasenverdächtiger Halslymphknoten) bei Patienten mit klinisch, palpatorisch unauffälligem Lymphknotenstatus (Vandecaveye V. et al., 2009).

Die Feinnadelbiopsie (FNB), auch Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB) oder Feinnadelpunktion genannt, ist ein Verfahren zur Gewinnung von Zellen aus einem Gewebe. Mikroskopische Untersuchungen sollen einen örtlichen Krebsverdacht abklären. In unter der Haut liegende verdächtige Knoten wird unter manueller Kontrolle und ohne örtliche Betäubung eine kurze, ca. 0,75 mm dünne Injektionsnadel eingeführt. Bei tiefer liegenden Knoten werden längere Nadeln gezielt unter Ultraschall- oder Röntgen-Kontrolle verwendet (Cho HW. et al., 2011). Durch Anlegen eines Soges (Unterdruck) mit einer angesetzten Spritze und fächerförmigen Bewegungen der Nadel wird die einem Tropfen entsprechende Menge von Zellen abgesaugt, die mehrere tausend Zellen aus verschiedenen Regionen des betreffenden Gewebes umfassen kann. Diese werden histologisch untersucht. Sie hat sich sowohl als diagnostische Methode, als auch als wichtiges Hilfsmittel in der Auswahl eines sinnvollen Therapiekonzepts an dafür spezialisierten Zentren bewährt. Dies gilt insbesondere für Patienten in schlechtem Allgemeinzustand, um diesen einen operativen Eingriff zu ersparen. Die Feinnadelbiopsie ist im Unterschied zur Stanzbiopsie in der Regel schmerzfrei und verursacht kaum Komplikationen (Blutungen, Infekte). Die Verschleppung von Tumorzellen durch die Feinnadelbiopsie kommt nur in Ausnahmefällen vor (Voravud N. et al., 1992). Durch weiterführende Untersuchungen an den entnommenen Zellen durch die DNA-Zytometrie, die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder die Immunzytochemie (ein Verfahren zur Identifizierung einzelner verschleppter Tumorzellen) lässt sich die diagnostische Treffsicherheit der Feinnadelbiopsie weiter verbessern. Literaturangaben berichten über eine richtige Unterscheidung bösartiger von gutartigen Neoplasien mit Hilfe der FNA-Biopsie in 81-98% der Fälle, während eine eindeutige Diagnose allerdings in nur 60-75% gelingt. Die Sensitivitäten und Spezifitäten stereotaktisch und sonographisch gesteuerter FNB durch erfahrene Anwender liegen im Mittel bei 91% bzw. 95% (Weining-Klemm O., 2004).

Eine Alternative ist die intraoperative Diagnostik mittels Schnellschnittuntersuchung. Hinsichtlich der Genauigkeit bei der Auswertung von Gefrierschnitten kann in der Literatur eine unterschiedliche Bewertung festgestellt werden. Während gutartige Tumoren in 98,7% der Fälle korrekt diagnostiziert werden können, liegt die fehlerfreie Beurteilung maligner

Neoplasien bei nicht zufriedenstellenden 85,9%. Das Krankheitsbild des pleomorphen Adenoms wird mit dieser Methode am häufigsten fälschlicherweise als maligne Neoplasie und Mukoepidermoidkarzinome sehr oft als benigne Tumoren bewertet (Eveson JW. et al., 2005).

1.2 Histologische Klassifikation

Die WHO-Klassifikation von 2005 zeigt 24 verschiedene maligne epitheliale Speicheldrüsentumore. Jedem Tumortypus ist ein Code nach der ICD-O (International Classification of Diseases for Oncology) zugeteilt. Eine nachgestellte „3“ steht für eine maligne und eine „1“ für eine grenzwertige, nicht sicher einschätzbare Tumorsituation (Barnes L. et al., 2005).

Tab. 1.1: Histologische Klassifikation der malignen Speicheldrüsenneoplasien (WHO 2005)

Tumortyp	ICD-O
Azinuszellkarzinom	8550/3
Mukoepidermoidkarzinom	8430/3
Adenoid-zystisches Karzinom	8200/3
Polymorphes niedrig-malignes Karzinom	8525/3
Epitheliales-myoeitheliales Karzinom	8562/3
Klarzelliges Karzinom NOS (not otherwise specified)	8310/3
Basalzelladenokarzinom	8147/3
Talgdrüsenkarzinom	8410/3
Talgdrüsenlymph-Adenokarzinom	8410/3
Zystadenokarzinom	8440/3
Niedrig-malignes kribriiformes Zystadenokarzinom	
Muzinöses Adenokarzinom	8480/3
Onkozytäres Karzinom	8290/3

Speichelgangkarzinom/Duktales Adenokarzinom	8500/3
Adenokarzinom NOS	8140/3
Myoepitheliales Karzinom	8982/3
Karzinom aus pleomorphem Adenom	8941/3
Karzinom aus pleomorphem Adenom	8941/3
Karzinom aus pleomorphem Adenom	8941/3
Karzinom aus pleomorphem Adenom	8941/3
Metastasierendes pleomorphes Adenom	8940/1
Plattenepithelkarzinom	8070/3
Kleinzelliges Karzinom	8041/3
Großzelliges Karzinom	8012/3
Lymphoepitheliales Karzinom	8082/3
Sialoblastom	8974/1

Die am zahlreichsten auftretenden und im Hinblick auf die vorliegende Arbeit besonders relevanten Tumorentitäten sollen im Folgenden genauer beschrieben werden.

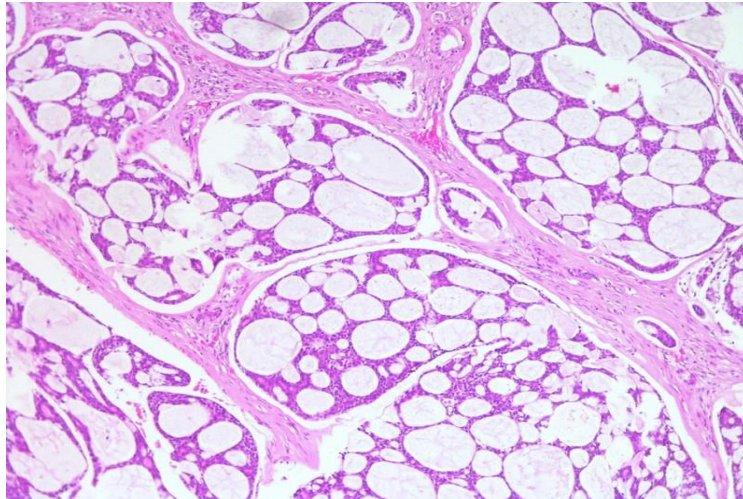
1.2.1 Adenoid-zystisches Karzinom (ICD-O: 8200/3)

Das Adenoid-zystische Karzinom hat einen Anteil von 10-25% an allen malignen Speicheldrüsentumoren und ist somit der zweithäufigste maligne Speicheldrüsentumor, wobei in 35-55% der Fälle die kleinen Speicheldrüsen, vor allem im Bereich des Gaumens, der Zunge, Wangenmukosa, Lippe und des Mundbodens, betroffen sind. Damit ist das Adenoid-zystische Karzinom der häufigste maligne epitheliale Tumor der kleinen Speicheldrüsen. Frauen und Männer sind in etwa gleich stark betroffen, der Altersgipfel liegt zwischen 40 und 60 Jahren (Peel RL. und Seethala RR., 2007; El-Naggar AK. und Huvos AG., 2005). Es ist ein infiltrativ wachsender Tumor mit drei histologischen Subtypen, glandulär-kribiform (45%), tubulär (20-30%) und solid-basaloid (20%). Alle drei können sowohl alleine, als auch gemischt vorkommen. Der am öftesten vorkommende kribiforme Typ ist durch myoepitheliale Zellnester und Pseudolumina charakterisiert, wodurch sein typisches „Schweizer-Käse Muster“ entsteht. Beim tubulären Typ sind Drüsengänge mit einer inneren epithelialen und einer äußeren myoepithelialen Zellschicht zu erkennen. Rundlich-gelappte Zellnester und -inseln

sowie zentrale komedoartige Nekrosen bestimmen das histologische Erscheinungsbild des soliden Wachstumsmusters. Außerdem finden sich anders als bei den beiden anderen Typen zahlreiche Pleomorphismen und Mitosen (Peel RL. und Seethala RR., 2007).

Bei den Zelltypen werden zwei Formen unterschieden, nämlich Drüsengangzellen und Zellen vom myoepithelialen Typ (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011; El-Naggar AK. und Huvos AG., 2005). Das tückische Charakteristikum und eine Besonderheit des Adenoid-zystischen Karzinoms ist seine perineurale Ausbreitung, oftmals weit über die klinisch erkennbaren Tumorgrenzen hinweg. Dies bedeutet eine zusätzliche Verschlechterung der Prognose (Amit M. et al., 2014). Autoren aktueller Untersuchungen fordern zudem die Unterscheidung zwischen peri- und intraneuralem Wachstum (Ettl T., 2015). Klinisch zeigt sich ein eher langsames Wachstum. Bei Lokalisation in den kleinen Speicheldrüsen des Mundes bleibt die Schleimhaut oft unversehrt, während bei Tumoren am harten Gaumen häufiger Ulzerationen beobachtet werden können (Schwenzer et al., 2002). Wegen der Fähigkeit des perineuralen Wachstums können bereits klinisch noch kaum auffällige Tumore Schmerzen bis hin zur Fazialisparese verursachen (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011; El-Naggar AK. und Huvos AG., 2005). Eine Metastasierung in die lokoregionalen Lymphknoten ist eher selten, jedoch finden sich durch hämatogene Aussaat häufig Fernmetastasen, vor allem in Lunge, Knochen und Gehirn. Rezidive treten oftmals erst nach mehr als 5 Jahren auf (Lang S. et al., 2005b). Deswegen sollte eine Nachkontrolle über die sonst üblichen 5 Jahre hinaus erfolgen.

Das 5-Jahres-Überleben beim ACC beträgt durchschnittlich für alle Stadien 75–80%. Diese Zahl täuscht über die eigentliche Malignität des Tumors hinweg und ist durch das langsame Wachstum des ACC bedingt. So beträgt auch bei ausgeprägter pulmonaler Metastasierung die mediane Überlebenszeit noch 3,5 Jahre. Das 15-Jahres-Überleben beträgt nur noch 20–35% und das 20-Jahres-Überleben nur noch 10–15% (Spiro RH. und Huvos AG., 1992; Fordice J. et al., 1999; Volck A., 2015). Diese Zahlen verdeutlichen ebenfalls das langsame Wachstum, sowie die Fähigkeit des ACC, auch nach vielen Jahren noch Rezidive bzw. Fernmetastasen zu entwickeln. Häufig sind wait and scan-Strategien bei metastasierter Erkrankung für Monate bis Jahre sinnvoll. Phasen mit stabiler Erkrankung wechseln sich mit leichter Krankheitsprogression ab. Den Moment eines Behandlungsbeginns, unter Berücksichtigung der marginalen Resultate einer palliativen Systemtherapie und mit genauer Zieldefinition, gilt es nicht zu verpassen (Volck A., 2015).



**Abb. 1.1: Adenoid-zystisches Karzinom mit kribriformem Wachstumsmuster:
„Schweizerkäsemuster“ (Schubert J.,2017, Privataufnahme)**

1.2.1 Mukoepidermoidkarzinom (ICD-O 8430/3)

Die Inzidenz beträgt 20-35%. Somit ist dieser Tumor der häufigste maligne Speicheldrüsentumor, auch bei Kindern (Peel RL. und Seethala RR., 2007; Neville B. et al.,2009). Das Durchschnittsalter liegt bei ca. 47 Jahren (Ellis GL. und Auclair PL., 2003) mit leichter Bevorzugung des weiblichen Geschlechts (Di Palma S. et al., 2006).

Der Tumor entsteht in 50-60% der Fälle in den großen Speicheldrüsen, dabei ist zu etwa 80% die Parotis, zu 8-13% die Gl. submandibularis und zu 2-4% die Gl. sublingualis betroffen (Peel RL. und Seethala RR., 2007). Bei Befall der kleinen Speicheldrüsen manifestiert er sich meist am Gaumen und in der bukkalen Schleimhaut (Goode RK. und El-Naggar AK., 2005).

Das Mukoepidermoidkarzinom besteht aus drei Zelltypen, den epidermoiden Zellen, den Schleim bildenden Zellen und den Zellen vom intermediären Typ. Man unterscheidet 3 Malignitätsgrade (low, intermediate und high). Zum einen gibt es den gut differenzierten niedrig malignen Typ (G1), der gut umschrieben, oft ohne Kapsel und vorwiegend zystisch ist. Der mäßig-differenzierte Typ (G2) imponiert fokal-zystisch mit soliden Tumornestern ohne zelluläre Anaplasien, während der niedrig differenzierte hochmaligne Typ (G3) (Chen MM. et al.,2014) makroskopisch schlecht abgegrenzt eher solide, mit teilweisen Nekrosen und Blutungen erscheint. Die Prognose des niedrig-differenzierten Typs ist schlecht. In 40-50% der Fälle finden sich zervikale Lymphknotenmetastasen, im Gegensatz zu 10% bei mittel- und hochdifferenzierten Varianten (Chen MM. et al.,2014; Liu S. et al., 2014).

Klinisch zeigen sich die Tumore der großen Speicheldrüsen als derbe, unverschiebliche und schmerzlose Schwellungen. Bei den kleinen Speicheldrüsen können sie wie Mundhöhlenkarzinome erscheinen und in benachbarte Strukturen wie den Unterkiefer infiltrieren (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Eine Neigung zur Metastasierung haben vor allem hoch-maligne Tumore, wobei sich Fernmetastasen überwiegend in Lunge und Knochen bilden. Die Fünfjahres-Überlebensrate variiert zwischen 92-100% bei niedrig-malignen und 0-43% bei hoch-malignen Subtypen. Patienten über 40 Jahren haben eine generell schlechtere Prognose. Eine Tumornachsorge in einem Recall System ist ratsam. (Peel RL. und Seethala RR., 2007)

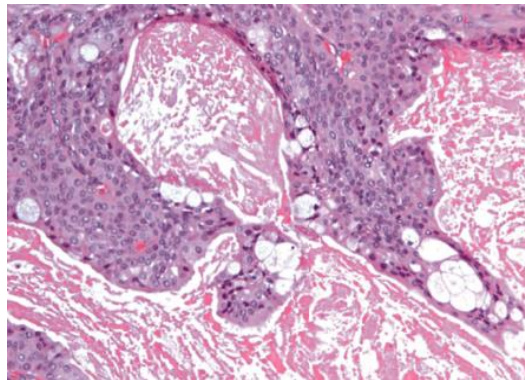


Abb. 1.2: Niedrig-malignes Mukoepidermoidkarzinom mit zystischem Wachstumsmuster
(Peel RL. und Seethala RR., 2007)

1.2.3 Azinuszellkarzinom (ICD-O: 8550/3)

Das Azinuszellkarzinom tritt meist in der Glandula parotis auf und hat einen Anteil von 12-17% aller Speicheldrüsenkarzinome. Meist sind Frauen betroffen. Das Durchschnittsalter liegt bei etwa 44 Jahren (Di Palma S. et al., 2006).

Die Gl. parotis ist in ungefähr 80% der Fälle, die kleinen Speicheldrüsen in 16% und die Gl. submandibularis zu 4% betroffen. Dabei kommt es bei ca. 22% der Patienten zu einem schmerzhaften Verlauf und bei 3-8% zu einer Fazialisparese. Ein bilaterales Auftreten des Tumors wurde wiederholt beobachtet (Peel RL. und Seethala RR., 2007).

Klinisch ist das Azinuszellkarzinom durch langsames Wachstum und eine solide, verschiebliche Konsistenz gekennzeichnet.

Lymphknoten (10%) - und Fernmetastasen (2%) sind eher selten. Letztere finden sich zumeist in Lunge und Knochen (Ellis G. und Simpson RHW., 2005; Peel RL. und Seethala RR., 2007). Jedoch gibt es auch aggressive, anaplastische Varianten, sogenannte High-Grade-Transformationen (Lewis JE. et al., 1991; Gomez DR. et al., 2009). Diese zeigen zur Hälfte eine Metastasierung und haben eine Fünfjahresüberlebensrate von 40%, während die Grundvariante eine gute 5-Jahresüberlebensrate von über 80 % aufweist (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011; Patel NR. et al., 2014; Skalova A. et al., 2009).

Die Wachstumsmuster des im Erscheinungsbild grau bis bräunlichen, bisweilen zystischen Azinuszellkarzinoms können in die Kategorien solide, mikrozystisch, papillär-zystisch und follikulär eingeteilt werden (Abb. 1.3) (Peel RL. und Seethala RR., 2007).

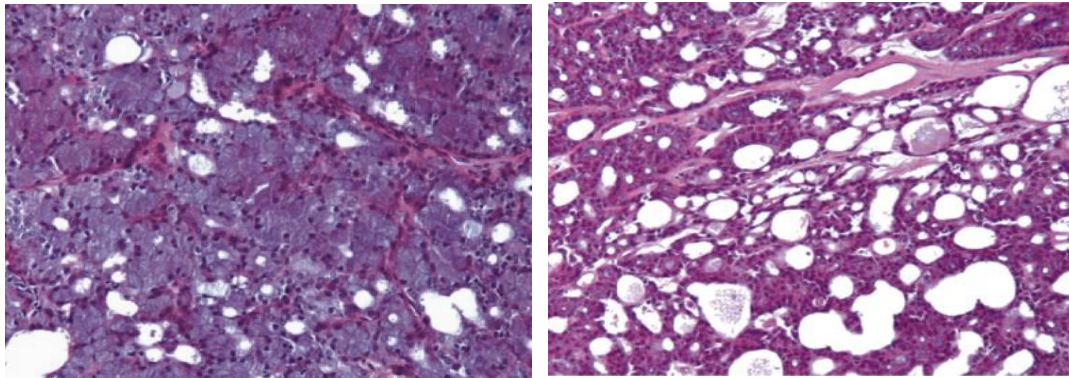


Abb. 1.3: Azinuszellkarzinom mit solidem (Bild 1) und mikrozystischem (Bild 2) Wachstumsmuster (Peel RL. und Seethala RR., 2007)

Im histologischen Aufbau des Tumors finden sich seröse Azinuszellen, als auch duktile, vakuoläre, klare und glanduläre Zellen mit soliden, mikrozystischen, papillär-zystischen oder follikulären Wachstumsmustern (Ellis G. und Simpson RHW., 2005). Häufig treten Nekrosen und Blutungen auf (Lang S. et al., 2005b; Peel RL. und Seethala RR., 2007).

1.2.4 Adenokarzinom (NOS= not otherwise specified)

Malignome mit glandulärer, duktaler oder sekretorischer Differenzierung, die histologisch keinem anderen Speicheldrüsenkarzinomtyp zugeordnet werden können, werden in die Gruppe des not otherwise specified Adenokarzinoms gezählt.

Bevorzugt treten sie an der Ohrspeicheldrüse auf. Lokal zeigen sie zumeist ein aggressives Wachstum und neigen zu früher regionärer Lymphknotenmetastasierung, als auch zur Fernmetastasierung. Die Fünfjahresüberlebensrate beträgt 40% (Huang AT. et al., 2015). Die Häufigkeit wird mit ca. 17% angegeben (Auclair P. und Van der Wal JE., 2005).

1.2.5 Speichelgangkarzinom (ICD-O: 8500/3), Synonym: Duktales Adenokarzinom

Mit einer Inzidenz von ca. 10 % ist das als primär oder aus einem pleomorphen Adenom hervorgegangene hoch maligne Speichelgangkarzinom, das große Ähnlichkeit zum duktalem high-grade Mammakarzinom aufweist, momentan in den Focus der Forschung gerückt. Nicht nur weil es häufiger vorkommt, als ursprünglich angenommen, sondern vor allem, weil es viele genetische Besonderheiten aufweist (Brandwein-Gensler MS. et al., 2005). Dabei sind zu ca. 78% die Gl. Parotis, 12% die Gl. submandibularis und 10% die kleinen Speicheldrüsen befallen (Peel RL. und Seethala RR., 2007). Meist sind die Betroffenen über 50 Jahre alt, Männer erkranken etwa dreimal so häufig wie Frauen (Di Palma S. et al., 2006).

Histologisch besitzt es deutliche Ähnlichkeiten zum duktalem Mammakarzinom. In den duktalem Neoplasien zeigen sich Zellen mit soliden, kribriformen, papillären und komedonekroseartigen Wachstumsmustern, sog. „römischen Brücken“ (Abb.1.4). Der invasive Anteil besteht aus cluster- und bandartigen Zellgruppierungen in desmoplastischem Stroma (Peel RL. und Seethala RR., 2007; Brandwein-Gensler MS. et al., 2005). Kernpleomorphismen und Mitosefiguren sind häufig (Di Palma S. et al., 2006).

Klinisch zeigt sich ein schnelles Wachstum, verbunden mit starken Schmerzen und einer Fazialisparese (Peel RL. und Seethala RR., 2007). In 60% der Fälle findet sich eine perineurale Ausbreitung, bei 31% der Patienten werden intravaskuläre Tumorablagerungen beschrieben (Brandwein-Gensler MS. et al., 2005).

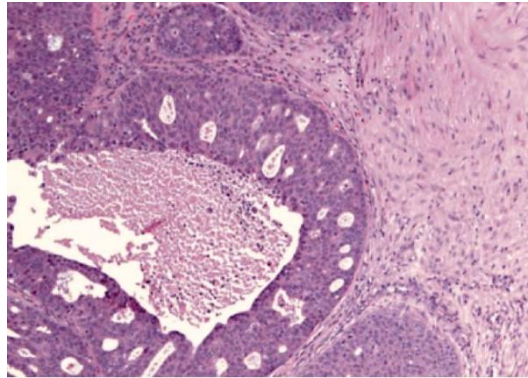


Abb. 1.4: Speicheldrüsenkarzinom: Kribriformes und komedonekroseartiges Wachstumsmuster: „Römische Brücke“ (Peel RL. und Seethala RR., 2007)

Die meisten Patienten befinden sich bei der Tumorerstdiagnose bereits in einem fortgeschrittenen Wachstumsstadium der Kategorien T3 oder T4 (Jaehne M. et al., 2005) mit positiven Lymphknotenbefall in 60-80% der Fälle. Zudem muss beachtet werden, dass bereits bei Tumordiagnose die Hälfte der Patienten Lymphknotenmetastasen aufweisen (Peel RL. und Seethala RR., 2007).

Die Prognose des duktales Adenokarzinoms ist schlecht. Es besteht eine 70% Letalität innerhalb der ersten 3 Jahre, bei einer lokalen Rezidivquote von 33% und 46% Fernmetastasen (Brandwein-Gensler MS. et al., 2005; Peel RL. und Seethala RR., 2007).

Eine weitere Besonderheit des Speicheldrüsenkarzinoms ist die Überproduktion des epidermalen Wachstumsfaktors HER2. Analog zu den duktales Adenokarzinomen der Brustdrüse korreliert eine HER2 Überexpression mit einer frühen Rezidiv- und Fernmetastasenbildung sowie einer geringeren Überlebensrate (Ettl T. et al., 2008). Eine Expression von Androgenrezeptoren ist mit 80-90% ebenfalls sehr häufig, während Östrogen- und Progesteronrezeptoren selten ausgebildet werden (Williams L. et al., 2015). Die genannte Expression von HER2 bzw. Androgenrezeptoren eröffnet zunehmend Möglichkeiten gezielter medikamentöser Therapien im fortgeschrittenen Tumorstadium.

1.2.6 Plattenepithelkarzinom (ICD-O: 8070/3)

Die Inzidenz beträgt ca. 2-5% aller Speicheldrüsenkarzinome (Ellis GL und Auclair PL.,1996). Primäre Neoplasien der Speicheldrüsen lassen sich histologisch nicht von metastasierenden Plattenepithelkarzinomen der Haut oder Mukosa unterscheiden. Nur der klinische Verlauf kann hier Auskunft geben.

Die Tumore zeichnen sich durch Keratinbildung oder interzelluläre Brücken aus, während keine Schleimbildung vorhanden ist. Zudem wächst er schnell und bildet lokoregionale Lymphknoten- und Fernmetastasen. 56 % der Plattenepithelkarzinome der Speicheldrüsen sind in der Parotis, 15% in der Gl. submandibularis und 3% in der Gl. sublingualis. Bei Formen, die den kleinen Speicheldrüsen zugeordnet werden, kann der tatsächliche Ursprung – Drüse oder Mundschleimhaut- oft nicht eindeutig unterschieden werden. Mehr als die Hälfte der Tumore wachsen perineural oder perivaskulär, zudem treten in über 50% der Fälle Rezidive und in 20-45% Lymphknotenmetastasen auf.

Neben einer vollständigen Tumorentfernung mit ausreichend Sicherheitsabstand wird eine Ausräumung der ersten Lymphknotenfilterstation, auch ohne präoperativen Nachweis eines Befalls, empfohlen. Die 5-Jahresüberlebensrate beträgt nur ca. 24% (Schwenzer N. und Ehrenfeld M.,2011).

1.2.7 Myoepitheliales Karzinom (ICD-O: 8982/3)

Dieser auch „malignes Myoepitheliom“ genannte Subtyp ist selten (Inzidenz von 0,1bis 0,45%) und nicht geschlechtsspezifisch (Vilar-González S. et al., 2015; Wakasaki T. et al., 2016). Meist tritt es in der Ohrspeicheldrüse bei Patienten über 50 auf. Rund 50% entstehen aus gutartigen Neubildungen wie z.B. dem pleomorphen Adenom oder einem benignen Myoepitheliom (Di Palma S. et al.,2006; Bahambra AC. et al.,2016). Es wächst langsam und metastasiert selten. Histologisch erkennt man atypische myoepitheliale, mitotisch sehr aktive Zellen (Schwenzer N. und Ehrenfeld M.,2011). Die chirurgische Entfernung des Tumors mit Sicherheitsabstand wird angeraten, während eine Lymphknotenentfernung aufgrund des niedrigen Metastasierungsgrades nicht standartmäßig angezeigt ist, sondern nur bei verdächtigen Halslymphknoten angeraten wird (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Aufgrund der Seltenheit von MECA gibt es noch keinen Konsens bezüglich einer geeigneten adjuvanten Behandlungsstrategie mit dem Erhalt des motorischen Gesichtsnervs (Haisch A. et

al., 1998; Wakasaki T. et al., 2016). Immunhistochemisch finden sich in den Zellen stets eine Koexpression von Zytokeratin (einschließlich CAM 5.2, AE1/AE3 und 34βE12), Vimentin und mindestens ein myoepithelialer Marker, wie zum Beispiel glattmuskuläres Aktin. Das Antigen Ki-67 spiegelt dabei die Zellproliferation wieder (Bahambra AC. et al., 2016; Wakasaki T. et al., 2016). Die Überexpression des Antigen Ki-67 könnte zukünftig laut Wakasaki T. et al. einen nützlichen Marker für die Prognose von MECA darstellen (Wakasaki T. et al., 2016). Nach Yang S. et al. besitzen MECA der Gl. minores eine bessere Prognose als die anderer Lokalisationen (Yang S. et al., 2010). Umstritten bleibt, ob aus benignen Tumoren entstandene MECA einen günstigeren Verlauf als de novo entstandene aufweisen (Wakasaki T. et al., 2016).

1.2.8 Polymorphes low grade Adenokarzinom (ICD-O:8525/3)

Hierbei handelt es sich um Tumore der Speicheldrüsen mit einer Inzidenz von etwa 3% aller Speicheldrüsentumore und etwa 10% der Malignome (Barnes L. et al., 2005; Verma P. et al., 2014, Hellquist HB. und Skalova A., 2014). Der Großteil der PLGAC geht von den kleinen Speicheldrüsen aus, vor allem im Bereich des weichen und harten Gaumens (Hannen EJ. et al., 2000). Die erste Fallbeschreibung eines polymorphen low-grade Adenokarzinoms der Glandula sublingualis erfolgte 1998 (Blanchaert RH. et al., 1998). Die Patienten sind bei der Erstdiagnosestellung im Durchschnitt 58 Jahre alt (Elhakim MT. et al., 2016) und es besteht eine Häufung des Auftretens beim weiblichen Geschlecht. Es zeigen sich Lokalrezidivraten von 11 Prozent bis zu 33 Prozent (Seethala RR. et al., 2010; Kimple AJ. et al., 2014; Elhakim MT. et al., 2016) bei einer Fernmetastasierung in einem bis vier Prozent der Fälle (Patel TD. et al., 2015; Elhakim MT. et al., 2016). Die Zehn-Jahres-Überlebensrate beträgt exzellente 96 Prozent (Fünf-Jahres-Überlebensrate annähernd 100 Prozent) mit dem höchsten Risiko von Rezidiven in den ersten fünf Jahren (Patel TD. et al., 2015; Elhakim MT. et al., 2016). Die Therapie der Wahl ist die Tumoresektion mit signifikant höheren Zehn-Jahres-Überlebensraten bei der alleinigen chirurgischen Therapie (98 Prozent) beziehungsweise bei kombiniert chirurgischer/adjuvanter Radiotherapie (91 Prozent) gegenüber der alleinigen Radiotherapie (75 Prozent) (Patel TD. et al., 2015). Diese Daten – vor allem die lokalen Rezidivraten und die erhöhte Metastasierungsrate im Rezidivfall – verdeutlichen die Wichtigkeit einer R0-Resektion und der Tumornachsorge. Generell sind polymorphe low-grade Adenokarzinome bei entsprechend früher Diagnosestellung und zeitnaher Therapie mit sehr gutem Erfolg therapierbar (Dau M. et al., 2017).

1.3 Staging

Speicheldrüsenkarzinome werden -wie andere Karzinome auch-nach verschiedenen Kriterien klassifiziert. Neben der Tumortypisierung, also der Zuordnung des Tumors zu einer bestimmten Entität, dient das Staging dazu, die Größe und die Ausbreitung des Tumors zu beschreiben. Den Differenzierungsgrad des Tumors beschreibt das Grading.

1.3.1 TNM-Klassifikation der UICC

Für eine bestmögliche, auf den Patienten zugeschnittene Betreuung und Therapie ist es Standard, im Rahmen eines Stagings Informationen über Tumorgöße und Metastasierung zu erheben. Das TNM-System wurde von dem Franzosen Pierre Denoix in den Jahren 1943–1952 zur Stadienbestimmung von bösartigen Tumoren entwickelt und wird seit 1950 von der *Union Internationale Contre le Cancer* (UICC) weitergeführt. Diese Klassifikation hat sich in vielen Ländern durchgesetzt und wird unter anderem von Krebsregistern herangezogen. Die TNM-Klassifikation ist das weltweit verwendete System für die klinische und pathologische Beschreibung einer Tumorerkrankung. Sie basiert auf statistischen Untersuchungen, die Aussagen über das voraussichtliche Verhalten von Tumorerkrankungen zulassen (zum Beispiel, dass sich ab einer bestimmten Größe eines Tumors die Krankheitsprognose verschlechtert). Die Einstufung anhand des TNM-Systems erlaubt daher prognostische Aussagen und bestimmt häufig auch die weitere Therapie (Wittekind C., 2017).

Die drei wichtigsten Kategorien des **TNM-Systems** entsprechen den drei Buchstaben:

- **T** = Tumor, Ausdehnung und Verhalten des Primärtumors
- **N** = Nodus: Fehlen bzw. Vorhandensein von regionären Lymphknotenmetastasen
- **M** = Metastasen, Fehlen bzw. Vorhandensein von Fernmetastasen

Ferner besteht die Möglichkeit einer klinischen (cTNM) und einer pathologisch-anatomischen (pTNM) Einteilung.

Wird das Staging durch klinische Untersuchungen und kleinere Eingriffe ermittelt (entsprechend in etwa C1–C3), so spricht man von einem klinischen TNM (auch cTNM für c

= clinical). Da dieses TNM in der Regel auch vor der Therapie bestimmt wird, wird es auch als prätherapeutisch bezeichnet.

Die Zuverlässigkeit der Befundsicherung kann zusätzlich mit dem Deskriptor „C“ (engl.: certainty) hinter der jeweiligen TNM-Kategorie angegeben werden.

- C1: Allgemeine Untersuchungsmethoden, wie klinischer Untersuchungsbefund, Standard-Röntgenaufnahme etc.
- C2: Spezielle Untersuchungsmethoden, wie ERCP, Computertomografie etc.
- C3: Ergebnisse der chirurgischen Exploration, Zytologien oder Biopsien.
- C4: Erkenntnisse nach chirurgischem Eingriff und histopathologischer Untersuchung. Gleichbedeutend mit der pTNM-Klassifikation.
- C5: Erkenntnisse nach Autopsie einschließlich histopathologischer Untersuchung

Ein Staging, bei dem die aus einem chirurgischen Eingriff und aus histopathologischen Untersuchungen gewonnenen Erkenntnisse einfließen, wird als **pTNM** (pathologische Klassifikation, postoperative histopathologische Klassifikation) bezeichnet. Es entspricht im Wesentlichen dem C-Faktor 4. In der TNM-Formel wird der jeweiligen Kategorie ein **p** vorangestellt. (Fritz A.,2000; Müller-Hermelink HK. und Papadopoulos T., 2010). Dabei hat die pTNM-Klassifikation, welche grundsätzlich als die Zuverlässigere zu werten ist, die Aufgabe, die klinische Einteilung zu verifizieren, zu komplettieren oder eventuelle Änderungen vorzunehmen und eine Beurteilung des chirurgischen Therapieergebnisses sowie der Prognose zu ermöglichen (Wittekind C.et al.,2014).

Die aktuelle TNM-Klassifikation für Speicheldrüsenmalignome stammt aus dem Jahr 2009 (Sobin LH. et al., 2009). Die im Folgenden aufgeführte T-Klassifikation bezieht sich auf die großen Kopfspeicheldrüsen, die N- und M-Stadien stimmen mit denjenigen der Mundhöhlenkarzinome überein (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Die Einteilung von Malignomen der kleinen Speicheldrüsen richtet sich nach dem Ursprungsort und erfolgt gemäß den Vorgaben zur Klassifikation von Tumoren der jeweiligen anatomischen Region (Sobin LH. et al., 2009).

Tab. 1.2: TNM-Klassifikation der UICC (Sobin LH. et al., 2009)

T-Status (Primärtumor)			
TX	Beurteilung des Primärtumors nicht möglich		
T0	Kein Hinweis auf einen Primärtumor		
Tis	Carcinoma in situ		
T1	≤ 2 cm, keine Infiltration der umliegenden Gewebe		
T2	2-4 cm, keine Infiltration der umliegenden Gewebe		
T3	> 4 cm und/oder Infiltration der umliegenden Gewebe		
T4a	Infiltration der Haut, Mandibula, Gehörgang, N. facialis		
T4b	Infiltration der Schädelbasis, Proc. pterygoideus, A. carotis		
N-Status (regionäre Lymphknoten)			
NX	Beurteilung der regionären Lymphknoten nicht möglich		
N0	Kein Hinweis auf regionäre Lymphknotenmetastasen		
N1	Metastase(n) ≤ 3 cm in solitärem ipsilateralem Lymphknoten		
N2a	Metastase(n) 3-6 cm in solitärem ipsilateralem Lymphknoten		
N2b	Metastase(n) ≤ 6 cm in multiplen ipsilateralen Lymphknoten		
N2c	Metastase(n) ≤ 6 cm bilateral oder kontralateral		
N3	Metastase(n) ≥ 6 cm		
M-Status (Fernmetastasen)			
MX	Beurteilung der Fernmetastasen nicht möglich		
M0	Keine Fernmetastasen vorhanden		
M1	Fernmetastasen vorhanden		
Stadieneinteilung			
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2	N0	M0
Stadium III	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
Stadium IVA	T1, T2, T3	N2	M0
	T4a	N0, N1, N2	M0
Stadium IVB	T4b	Jedes N	M0
	Jedes T	N3	M0
Stadium IVC	Jedes T	Jedes N	M1

1.3.2 Tumorgraduierung

Ein weiterer Punkt, der bei der Charakterisierung des Tumors eine Rolle spielt, ist die Beschaffenheit des Tumorgewebes. Sie wird bei der mikroskopischen Untersuchung des bei der Biopsie oder während der Operation entnommenen Gewebes bestimmt. Diese Abweichung des Tumorgewebes vom Normalgewebe bezeichnet man als Grading. Als Klassifikationsmerkmale dienen dabei als wichtigste Kriterien Kernatypien (Hyperchromasie, Kernpolymorphie, Anisonukleose, u.a.), die Mitosezahl pro 10 definierte Gesichtsfelder (40xObjektiv) und der Differenzierungsgrad – also das Ausmaß, in dem verdächtige von gesunden Zellen abweichen. (Böcker W. et al., 2004).

Unterschieden werden folgende Stufen:

- GX -Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt werden
- G1 – gut differenziert (weniger bösartig)
- G2 – mäßig differenziert
- G3 – schlecht differenziert
- G4 – nicht differenziert (sehr bösartig)

Je geringer eine Tumorzelle ausdifferenziert ist, je weniger sie dem normalen Gewebe ähnelt, um so bösartiger ist sie auch. Aggressive Tumoren können schneller wachsen, schneller Metastasen bilden oder schneller wiederkehren (Wittekind C. und Tannapfel A., 2006). Grad 3 und 4 sind prognostisch am ungünstigsten. Die Differenzierungsgrade G1 und G2 gelten bezogen auf den Malignitätsgrad als low- grade (niedrig bei G1 und mittel bei G2), Grad 3 und 4 als high grade.

Maligne Speicheldrüsenneoplasien werden im Hinblick auf die Graduierung je nach Typ unterschiedlich gehandhabt. Wurde in der Vergangenheit ein zweiteiliges System angewandt (low-grade bzw. high- grade), so kommt in aktuellen Studien ein dreigeteiltes Schema (G1, G2, G3) zur Anwendung (Therkildsen MH. et al., 1998; Schwarz-Furlan, 2011). Mukoepidermoidkarzinome werden je nach Differenzierungsgrad nach diesem Dreistufensystem eingeteilt (Goode RK. und El-Naggar AK., 2005).

Das Adenoid-zystischen Karzinom mit tubulärem und kribriformem Wachstum fällt unter das G2-Stadium, das mit solidem Wachstumsmuster unter das G3-Stadium (Schwarz-Furlan S., 2011).

Onkozytäre Karzinome, Adenokarzinome NOS, Speicheldrangkarzinome und Plattenepithelkarzinome werden generell als G3-Malignom klassifiziert (Schwarz-Furlan S.,2011).

Karzinome aus pleomorphen Adenomen sollten nach Differenzierungsgrad ihrer malignen Komponente eingestuft werden (Gnepp DR. et al.,2005).

Typen wie polymorphe niedrig-maligne Karzinome, Azinuszellkarzinome oder epithelial-myoepitheliale Karzinome werden generell dem G1-Stadium zugeordnet (Schwarz-Furlan S., 2011). Bestimmten Subtypen von aggressiven Azinuszellkarzinomen, die eine starke Tendenz zur Lymphknotenmetastasierung zeigen, werden als hochmaligne (G3) eingestuft (Seethala RR., 2011).

Tab. 1.3: Dreistufiges Graduierungssystem (Schwarz-Furlan S, 2011)

Differenzierungsgrad	
Grad 1	gut differenziertes Mukoepidermoid CA (G1 nach WHO)
	Azinuszell Ca, epithelial-myoepitheliales CA,
	Basalzelladeno CA, polymorphes niedrig-malignes Ca,
	niedrig-malignes kribiformes Zystadeno CA
Grad 2	mittelgradig differenziertes Mukoepidermoid Ca (G2 nach WHO)
	tubuläres und kribiformes Adenoid-zystisches CA,
	myoepitheliales Ca
Grad 3	gering differenziertes Mukoepidermoid Ca (G3 nach WHO),
	duktales Adeno Ca, Adeno Ca NOS, onkozytäres Ca, solides
	Adenoid-zystisches Ca, entdifferenziertes Azinus- und
	Basalzell Ca

1.3.4 R-Klassifikation

Der Buchstabe „R“ steht als Abkürzung für „Residual“. Das Fehlen oder Vorhandensein von Residualtumor nach Therapie wird durch die R-Klassifikation beschrieben:

- RX: Das Vorhandensein von Residualtumor kann nicht beurteilt werden
- R0: Kein Residualtumor
- R1: Mikroskopischer Residualtumor
- R2: Makroskopischer Residualtumor
 - R2a: Makroskopischer Residualtumor, mikroskopisch nicht bestätigt
 - R2b: Makroskopischer Residualtumor, mikroskopisch bestätigt

Die R-Klassifikation dient als Prognose und beeinflusst die weitere Behandlung.

Hier ist jeder verbliebene Tumor nach Therapie zu berücksichtigen. So liegt bei Fernmetastasierung trotz vollständig reseziertem Primärtumor, trotzdem eine R2 Situation vor. (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011).

1.4 Therapie

Man unterscheidet zwischen einer kurativen und palliativen Therapie. Als palliative Therapie bezeichnet man eine medizinische Behandlung, die nicht auf die Heilung einer Erkrankung abzielt, sondern darauf, die Symptome zu lindern oder sonstige nachteilige Folgen zu reduzieren. Sie wird angewendet, wenn eine Heilung des Patienten ausgeschlossen ist und zielt auf die Linderung akuter und chronischer Schmerzzustände ab, ohne jedoch das für die Schmerzen ursächliche Grundleiden zu behandeln. Zudem soll die Lebensqualität der betroffenen Patienten verbessert werden. Neben der psychologischen Betreuung kann auch eine Palliativbestrahlung zur Metastasierungs- und Wachstumsreduzierung bösartiger Tumoren zur Anwendung kommen. Dies gilt auch für eine palliative Chemotherapie. Chirurgische Eingriffe zur Abmilderung von Krankheitsbeschwerden oder das Erhalten lebenswichtiger Körperfunktionen, ohne Intension der vollständigen Heilung oder Beseitigung der Krankheitsursache werden ebenfalls durchgeführt (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Das Gegenteil davon sind kurative Therapien, die auf eine Heilung abzielen. Eine kurative Therapie

ist dann sinnvoll und notwendig, wenn eine R0-Resektion aufgrund des Allgemeinbefindens des Patienten, der Tumorgöße und -lokalisierung möglich erscheint, oder der Tumor auf Strahlen- oder Chemotherapie anspricht. Mittel der ersten Wahl heutiger kurativer Behandlungskonzepte für maligne Speicheldrüsentumoren ist die Resektion im Gesunden mit entsprechendem Sicherheitsabstand (Ettl T. et al., 2012b). Problematisch ist, dass, trotz Optimierung der Feinnadel-Zytologie und Weiterentwicklung bildgebenden Verfahren, zum Zeitpunkt des operativen Eingriffs oftmals noch keine definitive histologische Diagnose vorliegt. Gerade diese ist oft entscheidend für den Umfang und die Ausdehnung des chirurgischen Eingriffs, sowie die Indikationsstellung für eine Neck Dissection oder anderer Therapieformen, wie z. B Strahlentherapie (Ettl T. et al., 2012b).

1.4.1 Chirurgie

Der N. facialis, der sich im Inneren der Gl. parotidea in sagittaler Ebene aufzweigt, separiert diese in einen kleineren medialen (20%) und einen größeren lateralen Anteil (80%) (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011; Wang SJ. und Eisele DW., 2007). Die Resektion des kompletten seitlichen Drüsenanteils, bei Schonung des Nervs, wird als konservative *laterale Parotidektomie* bezeichnet und zur Entfernung gutartiger, niedrig-maligner und kleiner (T1-) Tumoren verwendet (Wang SJ. und Eisele DW., 2007; Ettl T. et al., 2012b). Eine vorübergehende Fazialisparese wird in 10-30% der Fälle, eine dauerhafte bei weniger als 1% der Patienten beschrieben. Der dabei am häufigsten betroffene Nervast ist der Ramus marginalis N. facialis (Wang SJ. und Eisele DW., 2007). Eine *totale Parotidektomie*, die chirurgische Entfernung des tief und oberflächlich liegenden Drüsenanteils, ist laut Moore EJ. und Olsen KD., 2007, zur Behandlung von hoch-malignen Parotis-Tumoren mit starker Metastasierungsgefahr, indiziert. Bei Unversehrtheit des N. facialis kann dieser im Sinne einer *totalen konservativen Parotidektomie* geschont werden (Moore EJ. und Olsen KD., 2007; Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Hinweise auf eine Infiltration des N. facialis geben eine präoperativ bestehende Dysfunktion sowie ein intraoperativ geschwollenes, dunkleres Erscheinungsbild der Nervareale, die sich in unmittelbarer Nachbarschaft zum Tumor befinden. Bei Verdacht auf eine Nervbeteiligung muss dieser mitentfernt werden (*totale radikale*

Parotidektomie). Außerdem kann es bei großen Befunden mit Infiltration der benachbarten Gewebe notwendig sein, z. B. Teile des Os temporalis, der Mandibula, des Gehörgangs, der Haut oder angrenzenden Muskulatur zu resezieren (Moore EJ. und Olsen KD., 2007). Eine häufige postoperative Komplikation nach Eingriffen an der Ohrspeicheldrüse stellt das sogenannte *Frey-Syndrom* (Synonym: gustatorische Hyperhidrose oder aurikulotemporales Syndrom) dar, das von vielen Patienten innerhalb von 6-12 Monaten – oftmals unbemerkt – entwickelt wird (Moore EJ. und Olsen KD., 2007). Dabei handelt es sich um eine nervale Dysfunktion, die sich durch die vermehrte Absonderung von Schweiß bei gustatorischen und mastikatorischen Reizen in den Versorgungsbereichen des Nervus auriculotemporalis und des Nervus auricularis magnus auszeichnet. Eine mögliche Ursache ist die Durchtrennung parasymphatischer Fasern bei Operationen in der Parotisregion, die im Rahmen der Regeneration Anschluss an postganglionäre Bahnen der Schweißdrüsen finden. Bei Reizen kommt es dann statt zu einer Sekretion der Glandula parotis zu einer Schweißsekretion im darüberliegenden Hautareal. Da diese Re-Innervation Zeit benötigt, beginnt die Hyperhidrose typischerweise erst Monate nach dem Trauma (Daubländer M. und Kämmerer P., 2017). Die Entfernung der Gl. submandibularis, die in der Regel über einen submandibulären Zugang und, sofern möglich, unter Schonung des Ramus marginalis mandibulae des N. facialis sowie des N. lingualis erfolgt, wird als *Submandibulektomie* bezeichnet (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Hier lokalisierte niedrig-maligne Tumoren in kleineren Stadien sollten in Kombination mit einer Lymphadenektomie des ersten Levels behandelt werden. Hoch-maligne, im Zuge höherer Tumorstadien auftretende Malignome erfordern hingegen neben der Exstirpation der Drüse eine Ausräumung der Regionen I bis III. Bei fortgeschrittenen Tumoren muss gegebenenfalls radikaler reseziert und eine noch ausgedehntere Lymphadenektomie (Level I bis V) durchgeführt werden (Dias FL. et al., 2007). Im Zuge der chirurgischen Therapie von Malignomen der Gl. sublingualis sollte – aufgrund der anatomischen Nähe – neben der Entfernung der Drüse eine Resektion von gesundem Gewebe des Mundbodens oder lateraler Zungenanteile erfolgen. Darüber hinaus ist es sinnvoll, die Halslymphknotenlevel I-III inklusive Gl. Submandibularis auszuräumen. Fortgeschrittene Tumoren oder Rezidive können zudem eine Entfernung von Teilen des Unterkiefers, supraomohyoidaler Gewebe sowie des N. lingualis oder N. hypoglossus erfordern (Dias FL. et al., 2007). Die chirurgische Entfernung von Karzinomen der kleinen Speicheldrüsen richtet sich nach den Therapiekonzepten zur operativen Behandlung von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle (Ettl T. et al., 2012b).

1.4.2 Lymphadenektomie

Die Entfernung von Lymphknoten aus dem lokalen Abstromgebiet eines Malignoms wird als *Lymphadenektomie* oder *Neck Dissection* bezeichnet (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Die klinisch am häufigsten verwendete Klassifizierung der Halslymphknoten wurde von der American Academy of Otolaryngology and Neck Surgery entwickelt und 2008 letztmals überarbeitet und beruht auf einer Unterteilung der Halslymphknoten nach Robbins in sieben Level., wobei drei davon nochmals in jeweils zwei Sublevel unterteilt sind (Abb. 1.6) (Robbins KT. et al., 2002; Robbins KT. et al., 2008):

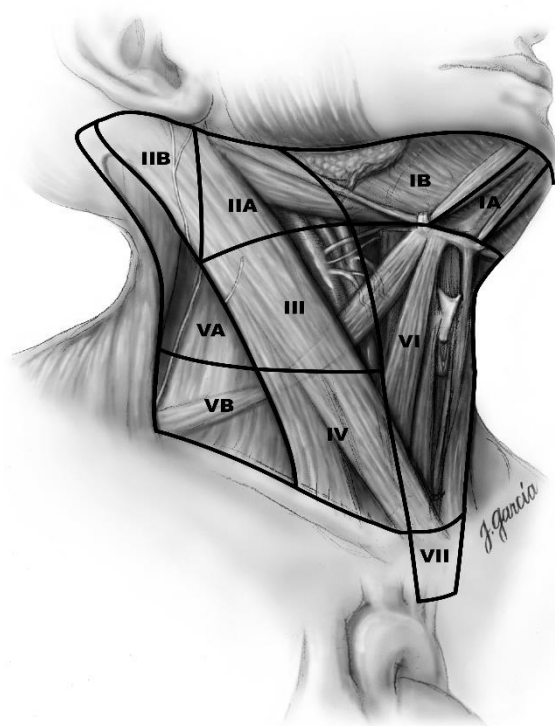


Abb. 1.6: Halslymphknotenregionen der AAO-HNS (Carty SE. et al., 2009)

Level I	Submental (A) und submandibulär (B)
Level II	Obere tiefe juguläre (kraniojuguläre) Lymphknoten: Schädelbasis bis Karotisbifurkation
Level III	Mittlere tiefe juguläre (mediojuguläre) Lymphknoten: Karotisbifurkation bis Kreuzung Musculus omohyoideus mit Vena jugularis interna
Level IV	Untere tiefe juguläre (kaudojuguläre) Lymphknoten: Kreuzung Musculus omohyoideus mit Vena jugularis interna bis Klavikula
Level V	Lymphknotengruppe im lateralen Halsdreieck , Accessoriusgruppe
Level VI	Lymphknotengruppe im vorderen Halsdreieck: parapharyngeal, retropharyngeal und prätracheal, vorderes Kompartiment
Level VII	Kraniomediastinal (bis zum Truncus Brachiocephalicus)

(Robbins KT. et al., 2002; Robbins KT. et al., 2008)

Indikationen für eine Neck Dissection im Zuge der Behandlung eines Speicheldrüsenmalignoms bestehen generell bei diesen klinisch-pathologischen Zuständen:

1. Klinisch tumorpositive Lymphknoten
2. Hoch-maligne und große (T3 oder T4) Tumoren
3. Laryngealer oder pharyngealer Tumorursprung
4. Lymphatische Invasion (L1) im Hauptpräparat (Ettl T. et al., 2012b)

Generell unterscheidet man eine *therapeutische Lymphadenektomie* – bei z. B. präoperativ durch eine Feinnadelbiopsie oder intraoperativ durch eine Schnellschnittuntersuchung nachgewiesenen Metastasen – von einer *elektiven* bzw. *prophylaktischen Neck Dissection*. Diese kommt zum Einsatz, wenn trotz einer präoperativ nicht verdächtigen N0-Situation des Halses eine Ausräumung durchgeführt wird, um das Risiko einer Metastasierung der entsprechenden Lymphbahnen auszuschalten oder noch nicht nachgewiesene Mikrometastasen zu entfernen (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011).

Je nach Umfang werden folgende Modifikationen unterschieden: Bei einer *radikalen Neck Dissection* werden alle ipsilateralen Lymphknoten aus Level I bis V (Robbins KT. et al., 2002), die durch den M. sternocleidomastoideus und M. trapezius, die tiefe Halsfaszie, den M. digastricus, die Gl. thyroidea und die Klavikula sowie nach lateral durch die Subkutis und das

Platysma begrenzt sind, entfernt. Zusätzlich erfolgt eine Resektion aller angrenzenden Weichgewebe ohne lebenswichtige Funktionen (M. sternocleidomastoideus, V. jugularis interna, Binde- und Fettgewebe der Halsgefäßscheide, M. omohyoideus, N. accessorius und Ansa cervicalis) (Schwenzer N. und Ehrenfeld M., 2011). Bei Erhaltung von mindestens einer der nicht-lymphatischen Strukturen spricht man von einer *modifiziert-radikalen Neck Dissection* (Robbins KT. et al., 2002). Eine modifiziert-radikale Lymphadenektomie ist indiziert bei Parotismalignomen mit klinisch oder radiologisch nachweisbarer Metastasierung der Halslymphknoten, high-grade-Tumoren oder einer fortgeschrittenen Größe des Primärtumors (Ettl T. et al., 2012b).

Die Ausräumung unter Schonung von mindestens einem der fünf Lymphknotenlevel, je nach Lokalisation und Ausdehnung des Primärtumors, und Belassen des M. sternocleidomastoideus, der V. jugularis interna und des N. accessorius wird als *selektive Neck Dissection* bezeichnet (Robbins KT. et al., 2002) und geht (im Vergleich zur radikalen Neck Dissection) mit einem kleineren Risiko der Gefäß- oder Nervverletzung, einer geringeren Morbidität und höheren Lebensqualität für den Patienten einher (Dhiwakar M. et al., 2011). Für die Therapie von Malignomen der Gl. submandibularis sowie der kleinen Speicheldrüsen der Mundhöhle wird eine *selektive (supraomohyoideale) Lymphadenektomie* der Level I bis III, für Neoplasien der kleinen Speicheldrüsen des Pharynx oder Larynx die Ausräumung der Level II bis V vorgeschlagen (Ettl T. et al., 2012b).

Bei einem metastatischen Befall der parapharyngealen, oberen mediastinalen, perifazialen oder paratrachealen Lymphknoten oder der Infiltration z. B. der A. carotis, des N. hypoglossus, N. vagus oder der paraspinalen Muskulatur kann eine sogenannte *extendierte Neck Dissection* – die zusätzliche Lymphadenektomie der Level VI oder VII und eine entsprechende Weichgewebeentfernung – indiziert sein (Robbins KT. et al., 2002).

Gendron KB. und Ferris RL., 2007, berichten, dass von Tumoren der Gl. parotis ausgehende Metastasen zu 53% in intra- oder periparotideale Lymphknoten, 10% in Level I, 27% in Level II, 23% in Level III, 20% in Level IV und 3% in Level V vorkommen. Tumoren der Gl. submandibularis drainieren in 59% der Fälle in Level I, zu 53% in Level II, 47% in Level III, 18% in Level IV und 6% in Level V. Tumoren der Gl. sublingualis sind selten (1%) und von Neoplasien der kleinen Speicheldrüsen oftmals schwer zu unterscheiden, weshalb für diese allein wenig Daten vorliegen. Malignome der kleinen Speicheldrüsen metastasieren in 9-16% der Fälle, für Patienten mit Tumoren der Stadien III oder IV wurde diese Rate allerdings bereits mit 65% beschrieben (Gendron KB. und Ferris RL., 2007).

1.4.3 Strahlentherapie

Eine adjuvante postoperative Bestrahlung wird grundsätzlich in folgenden Situationen empfohlen:

1. Undifferenzierte oder high-grade Malignome
2. Perineurale Invasion
3. Fortgeschrittene Tumorstadien mit Beteiligung des N. facialis oder des medialen Parotisanteils
4. Unklare bzw. positive Resektionsränder
5. Positiver N-Status
6. Adenoid-zystische Karzinome (Ettl T. et al., 2012b)

Zahlreiche Arbeiten belegen den günstigen prognostischen Einfluss einer adjuvanten Bestrahlung: Eine retrospektive Studie mit Daten von 1990 bis 2006 zeigt beispielsweise, dass bei Patienten mit fortgeschrittenem Tumorstadium, die sowohl chirurgisch als auch strahlentherapeutisch behandelt wurden, eine verbesserte lokoregionale Kontrolle erreicht werden konnte. In einer Untersuchung der Dutch Head and Neck Oncology Cooperative Group von Patienten mit T3- oder T4-Neoplasien lag die lokale Tumorfreiheit im 10 Jahres-Follow-up nach postoperativer Radiatio bei 84%, nach alleiniger chirurgischer Behandlung bei nur 18% (Feinstein TM. et al., 2011). Vielversprechende Ergebnisse erhielt man zudem aus Untersuchungen, im Verlauf derer Patienten mit Kombinationstherapien, bestehend aus einer adjuvanten Bestrahlung und Chemotherapeutika wie Carboplatin, Paclitaxel, Hydroxyurea oder Fluorouracil, behandelt wurden (Ettl T. et al., 2012b). Kleinere Studien nennen 5-Jahres-Überlebensraten von 60-72% bei einer adjuvanten Radiochemotherapie (Pederson AW. et al., 2011).

Inoperable Tumoren oder ausgedehnte Karzinome bei multimorbiden Patienten können auch primär kurativ bestrahlt werden. Allerdings liegt die generelle Heilungsrate hier bei lediglich 25% (Ettl T. et al., 2012b).

1.4.4 Chemoprävention und Antikörpertherapie

Die chemotherapeutische Behandlung von Speicheldrüsenkarzinomen kommt heute üblicherweise im Rahmen der palliativen Therapie bei vorliegender Metastasierung oder lokoregionalen Rezidiven, die nicht mehr operabel sind oder auf Bestrahlung ansprechen, zum Einsatz (Ettl T. et al., 2012b).

Aufgrund der Seltenheit maligner Speicheldrüsenneoplasien finden sich relativ wenige Studien über den therapeutischen Einsatz und Erfolg der Chemotherapie beziehungsweise ihrer Rolle vor oder nach einem operativen Eingriff und/oder einer Radiatio. Laurie SA. und Argiris A., 2007, bemängeln darüber hinaus, dass viele Publikationen, aufgrund oftmals schlecht definierter objektiver Kriterien zur Beurteilung eines Ansprechens auf eine Chemotherapie, fraglicher methodologischer Qualität, der zumeist kleinen Anzahl an Patientenfällen und deren histologischer Heterogenität, schwer miteinander vergleichbar und nur unzureichend interpretierbar seien. Die meisten Daten, in Relation zu den wenigen repräsentativen Studien, liegen für das adenoid-zystische, das Mukoepidermoid- und das Adenokarzinom vor. In klinischen Versuchen wurden z. B. Mitoxantron, Vinorelbin, Epirubicin, Paclitaxel oder Cisplatin untersucht (Laurie SA. und Argiris A., 2007).

Die Antikörpertherapie nimmt seit einigen Jahren einen sukzessiv größeren Stellenwert in der Forschung ein. Untersucht wurden biologische Wirkstoffe gegen C-KIT (Imatinib), HER2 (Trastuzumab), EGFR (Cetuximab, Gefitinib) und EGFR/HER2 (Lapatinib). Allerdings wird lediglich in Einzelfällen über das Ansprechen von Mukoepidermoid- oder Speichelgangkarzinomen auf Trastuzumab oder Lapatinib berichtet (Ettl T. et al., 2012b); Laurie SA. und Argiris A., 2007). Jaspers HC. et al., 2011, behandelten 10 Patienten mit Speichelgangkarzinomen im Sinne einer Androgen-Deprivationstherapie, wobei in fünf Fällen positive Ergebnisse wie die Stabilisierung des Krankheitsverlaufs oder eine Schmerzreduktion zu verzeichnen waren (Jaspers HC. et al., 2011).

1.5 Genetik

1.5.1 Aktuelle Forschung

Um von Beginn der Erkrankung eine optimale Therapie für den Patienten garantieren zu können, ist es von Bedeutung, Marker zu finden, die einen prognostischen Wert für einen günstigen oder ungünstigen Verlauf des Krankheitsgeschehens haben. Außerdem könnten molekulare Zielstrukturen therapeutisch angegangen werden. Der erste Schritt in der Wechselwirkung des Wachstumsfaktors mit der Zielzelle ist die Bindung an einen spezifischen Membranrezeptor. Diese Rezeptoren sind meist Rezeptoren mit Tyrosinkinaseaktivität. Durch Aktivierung dieser Faktoren wird das Zellwachstum stimuliert. (Ettl T., 2012d, Ettl T. et al., 2012a). Beim Menschen umfasst die Gruppe der epidermalen Wachstumsfaktoren (EGFR1-4 oder erbB1-4) Transmembranrezeptoren mit intrinsischer Tyrosinkinaseaktivität.

Ein Zusammenhang zwischen erhöhtem Tumorzellwachstum und erhöhter Metastasierung bei einer verstärkten Proteinexpression oder Genhochregulation der ERbB-Rezeptoren wurde u.a. beim Mammakarzinom, dem Kopf-Hals Plattenepithelkarzinom oder dem kolorektalen Karzinom gefunden (Ciardiello F. und Tortora G., 2008). Folge der Onkogenmutation ist die Anschaltung eines Signaltransduktionsweges, auch wenn kein exogenes Wachstumssignal vorliegt.

Besondere Aufmerksamkeit erweckte die Einführung der Antikörpertherapie. Durch monoklonale Antikörper (z.B. Trastuzumab, Cetuximab) oder durch kleinmolekulare Tyrosinkinaseinhibitoren (z.B. Gefitinib) können Wachstumsfaktorrezeptoren zielgerichtet blockiert und so das Tumorwachstum gestoppt werden (Ettl T., 2012d). So hat sich beim invasiven duktalem Adenokarzinom der Brust die Anwendung von Trastuzumab (Herceptin®, HER2-Blocker) etabliert, beim Kopf-Hals Plattenepithelkarzinom kommt die Anwendung von Cetuximab (gegen HER1) zunehmend zum Einsatz (Wolff AC. et al., 2007; Bonner JA. et al., 2006; Bonner JA. et al., 2010).

Auch für Adeno-, Mukoepidermoid- und Speichelgangkarzinome wurden erhöhte Expressions- und Amplifikationsraten der Rezeptortyrosinkinasen EGFR und HER2 nachgewiesen (Eveson JW. et al., 2005; Williams MD. et al., 2010; Ettl T. et al., 2012c).

Fuji K. et al., 2017, fanden beim Adenoid-zystischen Karzinom Veränderungen an den Genen MYB, MYBL1, MYBL2 und NFIB, und an deren Zielmolekülen, einschließlich MYC. Dabei zeigte sich, dass fast 90% der Adenoid-zystischen Karzinome Genveränderungen an MYB,

MYBL1 oder NFIB aufwiesen. MYB- oder MYBL1-Gensplits korrelieren mit höherer lokaler Aggressivität der Tumore und eine Überexpression von MYC kann ein Risikofaktor für ein krankheitsfreies Überleben der an einem Adenoid-zystischen Karzinom Erkrankten sein (Fuji K. et al.,2017). Ebenfalls bei Adenoid-zystischen Karzinomen vom soliden Typ, wurde eine Überexprimierung des für den Transkriptionsfaktor EN1 codierenden EN1-Gens (Engrailed homeobox 1) belegt. Dieser Genstatus zeigt eine geringeren Überlebensrate und ein höheres Risiko für Lymphknotenmetastasen (Bell D., et al., 2012). Beim Mukoepidermoidkarzinom (MEC), der häufigsten Malignität der Speicheldrüsen im oberen Aerodigestivtrakt und Tracheobronchialbaum, gibt es eine vielfältige zelluläre Heterogenität, einschließlich epidermoider, intermediärer und Mucin produzierender Zellen. Trotz dieser strukturellen und zellulären Heterogenität ist das MEC durch eine spezifische Translokation t (11; 19) (q12; p13) eindeutig charakterisiert, was zu einer Fusion zwischen den MECT1- und den MAML2-Genen führt. Obwohl die Häufigkeit dieser Fusion im MEC variiert, ist allgemein anerkannt, dass mehr als 50% dieser Einheit das MECT1-MAML2 manifestieren. Fusions-positive Fälle zeigten ein signifikant besseres Überleben als Fusions-negative Fälle, was nahelegt, dass MECT1-MAML2 ein spezifischer prognostischer molekularer Marker im MEC ist (Bell D. und El-Naggar AK.,2013). In diesem Zusammenhang zeigen Fusions-positive MECs stabilere Genome und ein besseres klinisches Verhalten, während Fusions-negative MECs eine ausgeprägtere genomische Instabilität zeigen und durch relativ aggressives Tumorwachstum gekennzeichnet sind (Bell D. und El-Naggar AK.,2013).

Auch Fehr A. et al.,2017, haben beim Mukoepidermoidkarzinom eine Fusion zwischen MECT1 und MAML2 beschrieben (Fehr A. et al.,2008). Die CRTC-Familie umfasst 3 menschliche Gene: CRTC1 (alias MECT1), CRTC2 bei 1q21 und CRTC3 bei 15q26; MECT1 hat 32% Homologie mit den beiden letztgenannten Genen (Iourgenko V. et al.,2003). In einer Studie von 101 MECs haben Nakayama T. et al.,2009, MECT1-MAML2- und CRTC3-MAML2-Fusionstranskripte in 34 bzw. 6% der Fälle entdeckt. Die zwei Fusionen schlossen sich gegenseitig aus, und CRTC2-MAML2-Fusionen wurden in keinem MEC-Fall gefunden (Nakayama T. et al.,2009).

Dieses Fusionstranskript kann die Transkription von Angriffspunkten im Notch-Signalweg aktivieren und wurde in 38% bis 81% der MECs der Speicheldrüse nachgewiesen (Verdorfer I. et al.,2009; Tirado Y.et al.,2007; Tonon G. et al.,2003; Martins C. et al.,2004; Behboudi A et al.,2006). Der Notch-Signalweg ist ein Signaltransduktionsweg, durch den Zellen auf äußere Signale reagieren können. Der Signalweg ist nach seinem Rezeptor „Notch“ benannt, welcher

den membranständigen Liganden „Delta“ auf der Oberfläche einer anderen Zelle bindet. Notch ist ein Transmembranprotein mit nur einer Transmembrandomäne und einer großen extrazellulären Domäne. Es konnte gezeigt werden, dass eine fehlregulierte Notch-Signalübertragung die Ursache für die Pathogenese anderer Malignitäten ist. Das MECT1-MAML2-Transkript kann das Notch-Ziel-Gen Hes-1 in Abwesenheit des Notch-Liganden aktivieren (Kaye FJ,2006). Das MECT1-MAML2-Transkript kann auch CREB-induzierbare Gene aktivieren, die die Zellproliferation und -differenzierung regulieren (O'Neill ID.,2009, Kaye Fj.,2006). CREB (cAMP response element-binding protein) ist ein Transkriptionsfaktor, welcher für die Initiation der RNA-Polymerase bei der Transkription von Bedeutung ist.. CREB bildet den Endpunkt einer Signaltransduktionskaskade, das heißt, eine Zelle kann durch ein Signal von außen angeregt werden, individuelle Gene zu aktivieren.

Das Vorhandensein des Fusionstranskripts kann in niedrig- und hochgradigen MECs gefunden werden. Fusions-positive Patienten haben eine signifikant bessere Prognose mit weniger Metastasen, höherem krankheitsspezifischem und Gesamtüberleben und einer reduzierten Lokalrezidivrate (Tirado et al.,2007; Behboudi et al.,2006; Seethala et al.,2010; Nakayama T. et al.,2009).

Zudem wurde in MECs eine Überexpression des epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR) und menschlichem epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor 2 (HER2) erforscht. Die EGFR- und HER2- Überexpression war in einer Minderheit der MECs vorhanden und war mit einer höheren Metastasierungsrate und einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert (Ettl T. et al.,2012; Ettl T. et al.,2008).

Das Mamma analoge sekretorische Karzinom (MASC) ist ein relativ neuer Speicheldrüsentumor, der erstmals 2010 erkannt wurde und histologisch dem sekretorischen Brustkarzinom ähnelt (Skalova A. et al.,2010). Es handelt sich um einen infiltrativ wachsenden Tumor, der in mikrozystischen und tubulären Mustern wächst. Seit dieser Definition wurden viele Tumore, die zuvor als Azinuszellkarzinom eingeordnet wurden, nun als MASCs klassifiziert (Simpson RH. et al.,2014). Durch Immunhistochemie kann das MASC von anderen Speicheldrüsentumoren durch seine starke Positivität für S100, Mammaglobin, Zytokeratin und Vimentin unterschieden werden (Fonseca FP. et al.,2015). Klinisch kann MASC in jedem Alter auftreten und hat eine leichte Dominanz beim männlichen Geschlecht (Simpson RH. et al.,2014). Das genetische Merkmal dieses Tumors, ähnlich wie sein Pendant in der Brust, ist eine Translokation zwischen der ets- Variante 6 (ETV6) und der neurotrophen Tyrosinkinase, Rezeptor, Typ 3 (NTRK3). Diese t (12; 15) (p13; q25) Translokation produziert ein

Fusionsprodukt, das den Transkriptionsregulator ETV6 enthält, der mit der Membranrezeptorkinase NTRK3 fusioniert ist, die die Zellproliferation und das Überleben aktiviert (Skalova A. et al.,2010). Obwohl die genaue Funktion dieses Fusionsprodukts noch nicht bekannt ist, kann es mit der hohen Expression von Signalwandler und Aktivator des Transkriptionsmoleküls 5a (STAT5a) in MASCs zusammenhängen. Das Fusionsprodukt, eine chimäre Tyrosinkinase, hat die Fähigkeit, sowohl den Ratten-Sarkom (Ras) -Mitogen-aktivierten Protein (MAP) -Kinase (Ras-MAP) -Signalweg als auch den PI3K-Akt-Signalweg zu aktivieren. Eine Fallserie von 14 japanischen Patienten mit MASC-Patienten zeigte, dass, obwohl alle eine ETV6-Spaltung hatten, nur 43% das Fusionstranskript hatten, was nahelegt, dass EVT6 mit Nicht-NTRK3-Genen fusionieren kann (Ito Y. et al.,2015). Das Transkript hat ein vielversprechendes pharmazeutisches Potenzial, da einige ETV6-NTRK3-positive Leukämien gut auf Tyrosin-Inhibitoren angesprochen haben (Bishop JA.,2013). Eine Arbeit von Yin LX. und Ha PK. von 2016 (siehe Tab.1.4) zeigt gemeinsame zytogenetische und epigenetische Veränderungen an verschiedenen Subtypen von Speicheldrüsentumoren, ebenso wie Onkogene und Tumorsuppressorgene (TSGs), die eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Krankheit spielen können (Yin LX. und Ha PK., 2016).

Tab.1.4: Wichtige Genveränderungen bei Speicheldrüsentumoren, modifiziert nach Yin LX. und Ha PK. (Yin LX. und Ha PK.,2016)

Tumortyp	Genetische Veränderung	Gene	Rolle in der Tumorentstehung	
Mukoepitheloidkarzinom MEC	Translokation, Fusion Transkript	MECT1-MAML2	Aktivierung des Notch Zielgens Hes-1 in Abw. des Notch Liganden. Aktivierung de CREB induzierten Gene, die Zellproliferation und Differenzierung regulieren	
		Veränderung der Kopienzahl	CRTC3-MAML2 HER2, EGFR	genaue Funktion noch unbekannt Wachstumsfaktoren, Überexprimierung assoziiert mit weniger Metastasen und besseren Überleben
	Epigenetik	LYN, MOS, PLAG	Versch. Onkogene, genaue Rolle in MEC unbekannt	
		CDKN2A/p16	Tumorsuppressorgene, Regulation Zellzyklus, Deletion/ Hypermethylierung assoziiert mit schlechterer Überlebensprognose	
	Adenoidzyst. Karzinom	Translokation, Fusion Transkript	MYB-NFIB	Onkogen, Zellproliferation, Apoptose, Differenzierung
		Epigenetische Veränderungen	APC, Mint1, PGP9, RAR-β, Timp3	Versch. Tumorsuppressorgene, hypermethyliert in ACC
p27			Zellzyklusregulation, hypermethyliert in ACC führt zu Downregulation und Unterbrechung des Zellzyklus Prognostische Rolle unklar- wird in dieser Arbeit untersucht	
EN1			Homeobox Gen hypermethyliert in ACC, korreliert mit histologischem Tumorgrad und Überlebenswahrscheinlichkeit	
AQ1			Transmembranprotein für H ₂ O-Transport, hypermethyliert in ACC Hypermethylierung assoziiert mit besserer Überlebensprognose	
SBSN			eingebunden in epidermaler Diff. verankerungsunabh. Wachstum, hypomethyl. in ACC, erhöhtes Rezidivrisiko	

	Deletion/ Verlust der Kopienzahl	12q12-q13 1p32-36 22q12- q13,8,16p 17q,18	Hohes Vorkommen der Tumorsuppressorgene diesen Loci exakte Funktion in ACC unbekannt
		Hotspot 6q24.1- q25.1 incl. PLAG1, LATS1	Tumorsuppressorgene, exakte Rolle in ACC unbekannt
	Hochregulierung der Kopienzahl	c-kit	Transmembran Tyrosinkinase-Rezeptor Überexpression einhergehend mit schlechterem Tumorgrad
		EGFR	Wachstumsfaktor, Überexpression einhergehend mit schlechterem histolog. Grad
Speichel- gang- karzinom	Aneuploidy/ up-Regulation	HER2	Wachstumsfaktor, Überexpression in SDC führt zu erhöhten Rezidivgefahr, erhöhte Metastasenbildung und schlechterer Überlebensprognose
		p53	spielt eine Rolle in der Genomstabilität Überexpression in SDC führt zu erhöhten Rezidivgefahr, erhöhte Metastasenbildung und schlechterer Überlebensprognose
		AR	Androgenrezeptor(AR)-negative Tumore sind aggressiver als AR-positive Tumore
Mamma analoges Speicheldrüsen- Karzinom	Translokation	ETV6- NTRK3	Das Fusionsprodukt ist eine chimäre Tyrosinkinase mit der Fähigkeit den RAS-MAP Pathway und dem PI3K Pathway zu aktivieren Rolle für die Prognose unklar
Hyalinisierendes Klarzell Ca	Translokation	EWSR1- ATF	exakte Funktion unbekannt
Karzinom aus pleomorphen Adenom	Umgestaltung	PLAG1, HMGA2	Transkriptionsfaktoren, die sich einer Vielfalt von Umlagerungen unterziehen können Die Auswirkungen der Umlagerungen sind unbekannt

Da sich diese Arbeit mit der Bedeutung des Tumorsuppressorgens FHIT und des Wachstumsfaktors p27 für die Metastasierung und Prognose von Speicheldrüsenkarzinomen beschäftigt, sollen diese im Folgenden genauer betrachtet und erläutert werden.

1.5.2 FHIT

Das FHIT (Fragile histidine triad), befindet sich auf dem Chromosom 3 und ist ein Tumorsuppressorgen, das die Fragmente FRA3B und FRA16D an den Chromosomen 3p14.2 bzw. 16q23.3 umfasst. Tumorsuppressorgene regulieren den Zellzyklus, indem sie bei irreversiblen Schaden in der Proliferation der Zelle die Apoptose einleiten. Sie wirken als Gegenspieler zu Onkogenen. Im Fall der Karzinogese wandeln sich Proto-Onkogene, die Proliferation und Zelldifferenzierung positiv regulieren, zu Onkogenen, wodurch eine unkontrollierte Synthese von Proteinen und Zellvermehrung eingeleitet wird (Bier JC.,2011). Sollen Tumorsuppressorgene die Tumorentstehung begünstigen, so muss entweder eine Mutation oder ein Verlust des Gens vorliegen. Die Folge ist eine sogenannte „loss of heterozygosity“ (Zhang L. und Rosin MP.,2001). Durch Analyse solcher LOHs konnten mehrere Tumorsuppressorgene entdeckt werden (Ah-See KW. et al., 1994; Fearon ER.,1997). Eines davon ist das in dieser Arbeit untersuchte FHIT-Gen. Es ist an chromosomalen Veränderungen verschiedener menschlicher Malignome beteiligt wie z. B von Mammakarzinomen, Lungenkarzinomen, Mukoepidermoidkarzinomen und Adenoidzystischen Karzinomen der Speicheldrüsen (Wistuba II. et al., 2000; Wistuba II. et al., 2001; Dincer N. et al., 2010). Es besteht aus 146 Aminosäuren. Dabei handelt es sich um das menschliche Homolog des spaltbaren Hefeproteins Schizosaccaromyces Pombe, eine Diadenosine 5',5-P₁P₄-tetraphosphathydrolase (Ohta M.et al., 1996). Der FHIT Substrat Komplex ist als Signalmolekül an der Regulation der p53 unabhängigen Apoptose und der Zell-Zyklus Kontrolle beteiligt (Sard L. et al., 1999; Askari MR. und Vo-Dinh T., 2004). Roz L. et al. zeigten 2002, dass eine Restitution der FHIT Expression zu einer Induktion der Apoptose und zu einer Hemmung der Tumorentstehung bei Lungenkarzinomzelllinien in vitro führte (Roz L. et al.,2002). L. Ji et al. zeigte dies 1999 in vivo (L. Ji et al.,1999). Bei FHIT-Knock-Out Mäusen wurde festgestellt, dass diese anfällig für spontanes Tumorwachstum waren. (Zanesi N. et al., 2005).

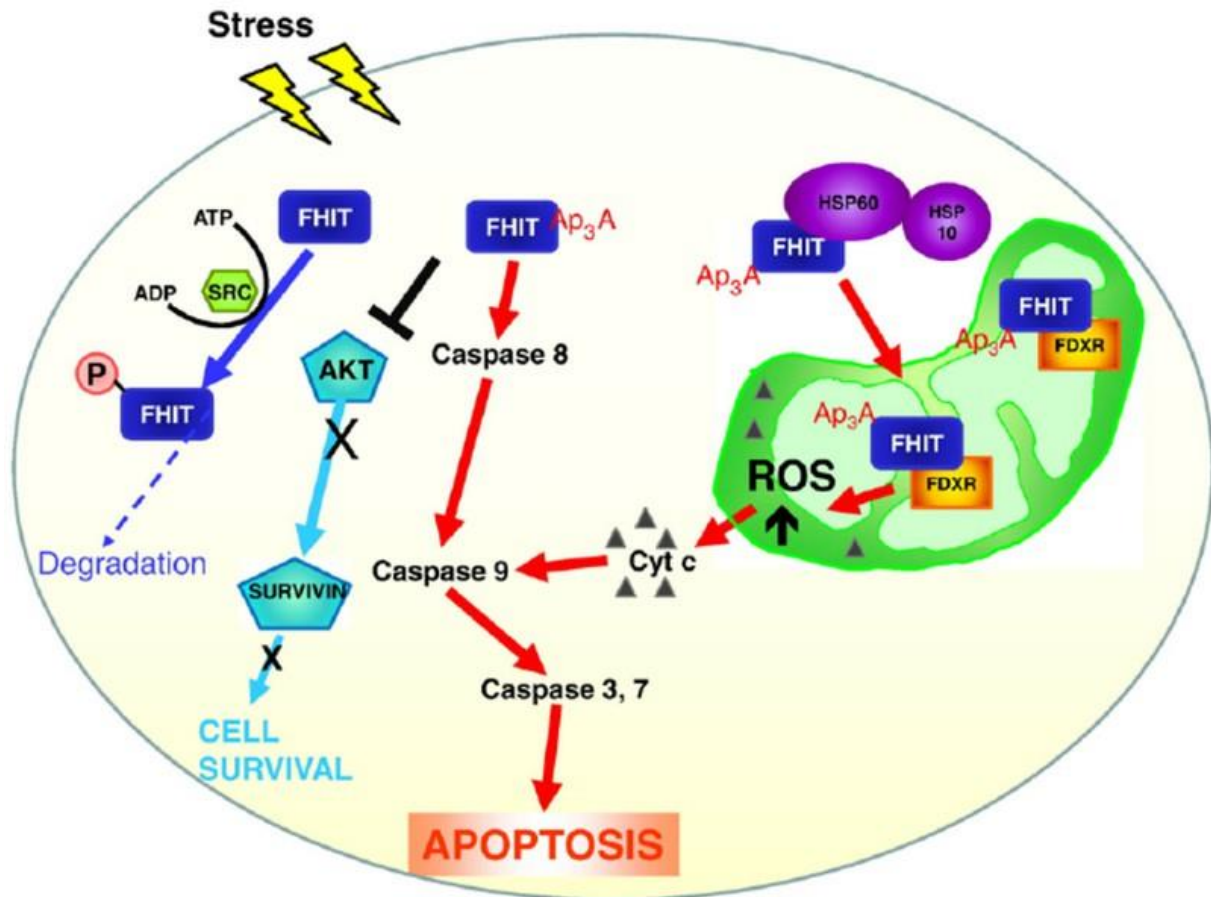


Abb.1.7: Funktionsweise von FHIT, Mitochondrien und Tumor (Martin J. et al.,2011)

1.5.3 p27

Eine präzise Regulation der Zellteilung ist für das Wachstum und die Zell-Homöostase wichtig. Dabei wird genau gesteuert, wann und wie oft sich Zellen teilen dürfen. Proteinkinasen, die Cyclin- abhängigen Kinasen (CDKS), aktivieren die Zellteilung. Durch eine Hemmung dieser CDKS kann die Zellteilung gebremst werden. Das CDK Inhibitor Protein p27 spielt dabei eine zentrale Rolle (Hengst L. und Dohmesen C.,2009). Es kontrolliert den Übergang von G0 zur G1- Phase des Zellzyklus und verhindert diesen, wenn es vermehrt gebildet wird. Die p27 Konzentration ist maximal in G0 Zellen und fällt ab sobald die Zelle in den Zellzyklus eintritt und ist am niedrigsten während der Synthese -Phase (Toyoshima H. und Hunter T.,1994).

Eine weitere Funktion von p27 ist ein Einfluss auf die Zellmigration. Diese ist für die Invasion und Metastasierung von Tumorzellen wichtig. Besonders zytoplasmatisches p27 kann CDK unabhängige Zellmigration beeinflussen (Hengst L. und Dohmesen C.,2009). So inhibiert im

Zytoplasma lokalisiertes p27 in Fibrosarkomzellen und normalen Fibroblasten die Migration durch Binden an das Protein Stathmin (Berton S. et al., 2009).

Zudem nimmt p27 Einfluss auf die Apoptose. Einerseits führt die Spaltung von p27 durch Caspasen zu einer Steigerung der CDK2 Aktivität, was zu einer Förderung der Apoptose führt, andererseits schützt p27 normales Gewebe vor einer exzessiven Apoptose im Rahmen einer Entzündungsreaktion (Ophascharoensuk V. et al., 1998).

Somit ist die p27 Expression ein Marker für die klinische Entwicklung von Tumoren und deren Prognose. Eine reduzierte p27 Expression wurde bei einer Reihe von Tumoren gezeigt (Catzavelos C. et al., 1997; Sgambato A. et al., 1997; Fredersdorf S. et al., 1997; Guo Y. et al., 1997; Ohashi Y. et al., 1999; Masciullo V. et al., 1999; Esposito V. et al., 1997; Tsihlias I. et al., 1998).

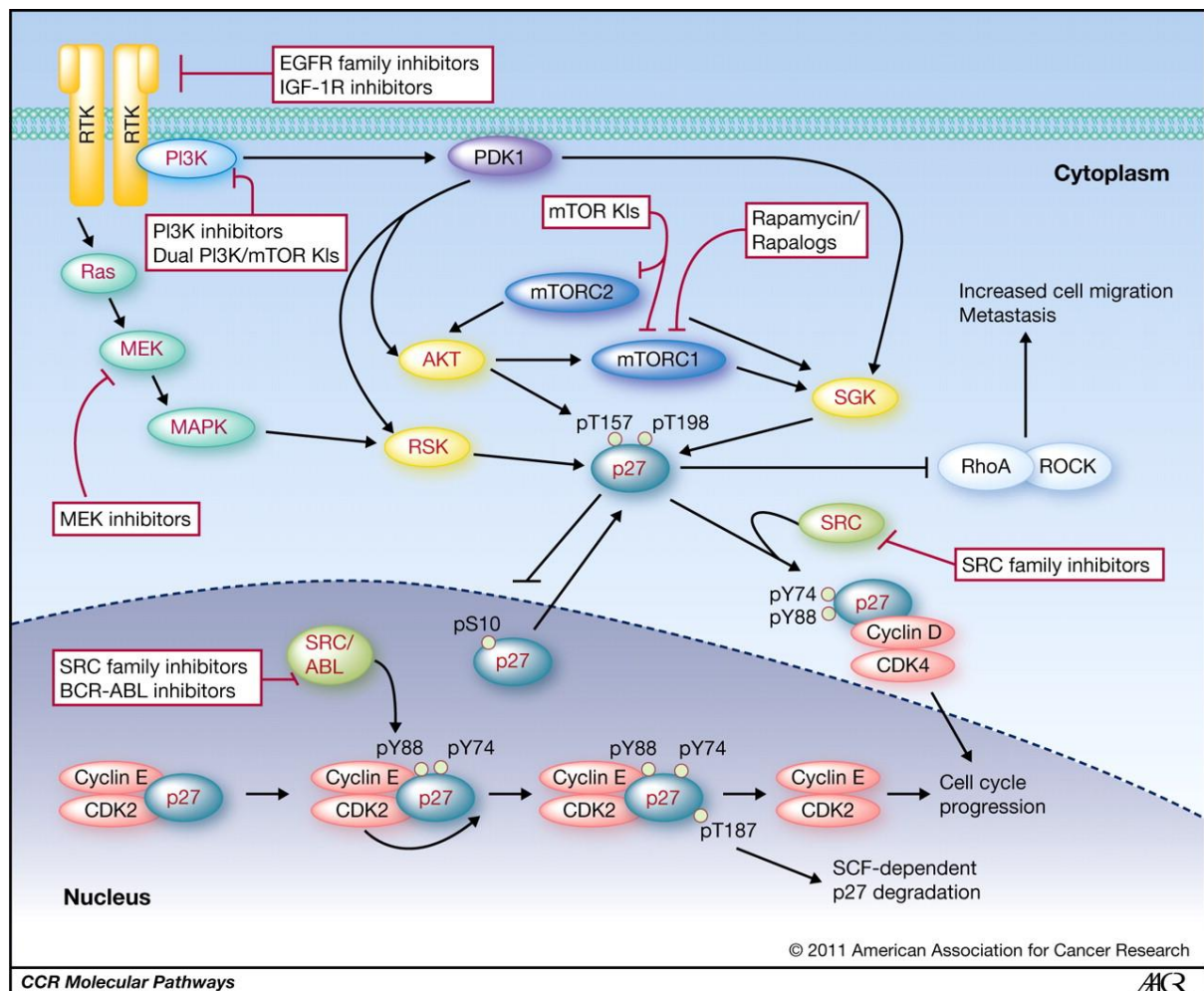


Abb.1.8: p27 -Signalregulation (Wander SA. et al., 2011)

Die schematische Darstellung zeigt die Regulation und Funktion von p27. Im Zellkern bindet p27 an Cyclin E-CDK2 und verhindert dessen G1-S-Transit. Nach SRC / ABL-vermittelter Tyrosinphosphorylierung und Cyclin-E-CDK2-vermittelter T187-Phosphorylierung wird nukleäres p27 für den SCFSKP2-abhängigen Abbau verwendet, was Zellzyklusprogression erlaubt. Eine S10-Phosphorylierung fördert den Austritt aus dem Nucleus; während im Zytoplasma p27 mehrere Rollen spielen kann. Die onkogene Signaltransduktion über PI3K / PDK1 oder Ras / MAPK führt zur Hyperaktivierung mehrerer AGC-Familien-Kinasen (einschließlich AKT, SGK und RSK), die alle die C-terminale Phosphorylierung von p27 bei T157 und T198 vermitteln. Diese Phosphorylierungsereignisse kooperieren, um p27 innerhalb des Zytoplasmas zu sezernieren und zu stabilisieren, wo es die Zellproliferation (über die Cyclin-D-CDK4-Assemblierung) und die Zellmotilität (über Inhibierung der RhoA / ROCK-Signalisierung) fördert. In der Abbildung sind potenzielle Standorte gezielter therapeutischer Intervention hervorgehoben (Wander SA. et al.,2011).

2 Fragestellung

Im Rahmen der vorliegenden klinisch-pathologischen Dissertation sollen folgende Aufgaben durchgeführt werden:

1. Retrospektive Analyse der klinischen Daten von Patienten mit primären Speicheldrüsenkarzinomen, die zwischen 1993 und 2006 in der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer und Gesichtschirurgie der Universität Regensburg und im Zeitraum von 1992-2007 in der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer und Gesichtschirurgie der Universität Erlangen behandelt wurden
2. Anfertigung neuer standardisierter Hämatoxylin-Eosin Färbungen sämtlicher Gewebeproben der betroffenen Patienten sowie Nachuntersuchung und gegebenenfalls Neuklassifikation der Diagnosen entsprechend der aktuellen WHO 2005.
3. Durchführung der immunhistochemischen Färbungen FHIT und p27.

Daraus ergaben sich folgende Fragen:

1. Wie wirken sich klinische Parameter, der histopathologische Subtyp und der Malignitätsgrad auf die Prognose bei Speicheldrüsenkarzinomen aus?
2. Welches immunhistochemische Expressionsmuster zeigen die verschiedenen Entitäten?
3. Welche prognostische Bedeutung besitzen die immunhistochemischen Marker FHIT und p27 bei Speicheldrüsenkarzinomen im Allgemeinen und im Vergleich zu anderen klinisch- pathologischen Parametern?

3 Patienten und Methoden

3.1 Patienten

Die für diese Arbeit zur Untersuchung herangezogenen Daten stammen von insgesamt 259 Patienten, die in der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie Regensburg im Zeitraum 1993-2006, sowie in den Kliniken für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie und Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde des Universitätsklinikums Erlangen im Zeitraum 1992-2007 aufgrund eines primären Speicheldrüsenkarzinoms behandelt wurden.

3.2 Datenerhebung

Nach Sichtung der Krankenakten der betroffenen Patienten wurden die anamnestischen, diagnostischen und therapeutischen Daten retrospektiv hinsichtlich Geschlecht, Alter, Tumorlokalisation, Tumorgröße, Lymphknotenbefall, Fernmetastasierung, Therapie einschließlich Radiatio- oder/und Chemotherapie, Resektionsstatus, Auftreten eines Rezidivs und tumorspezifisches Überleben ausgewertet. Bei fehlenden Informationen und Rückfragen wurden die behandelnden Hausärzte konsultiert, oder es wurde mit den betroffenen Patienten selbst sowie deren Angehörigen Rücksprache gehalten. Das Tumorstadium der Patienten wurde gemäß der TNM-Klassifikation der UICC von 2009 (Sobin LH. et al., 2009) ermittelt (vgl. Tab. 1.2.). Die Einteilung der Malignome wurde nach erfolgter chirurgischer Therapie und histopathologischer Begutachtung vorgenommen. Entscheidend war die Diagnose des pathologischen pTNM-Stadium. Bei fehlender histopathologischer Untersuchung wurde das klinische cTNM-Stadium übernommen. Inoperable Fernmetastasen und Primärtumore wurden als makroskopischer Residualtumor R2 betrachtet. Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit lag bei 4,7 Jahren (Minimum 50 Tage, Maximum 16 Jahre).

3.3 Histologie und Klassifikation

Nachdem die in Paraffin eingebetteten Gewebeproben der Patienten aus dem Archiv des Instituts für Pathologie ausgewählt worden waren, wurden neue standardisierte Hämatoxylin-Eosin Schnitte angefertigt. Diese wurden von zwei Fachärzten für Pathologie begutachtet und entsprechend der aktuellen WHO-Klassifikation (Barnes L. et al., 2005) neu diagnostiziert und klassifiziert (Tab. 1.1) (Ettl T. et al., 2008; Ettl T. et al., 2012a).

Zur Beurteilung des Malignitätsgrades kam ein dreigeteiltes System zur Anwendung (Thekildsen MH. et al., 1998). Azinuszellkarzinome, Basalzelladenokarzinome, epitheliale-myoeitheliale Karzinome, Zystadenokarzinome und polymorphe niedrig-maligne Karzinome wurden in die Kategorie *low-grade* (G1) eingeteilt (Ausnahme: entdifferenzierte Karzinomvarianten (G3)). Speichelgang-, Plattenepithel-, onkozytäre, undifferenzierte und großzellige Karzinome, sowie primäre maligne Mischtumore wurden fortwährend als *high-grade*-Tumore (G3) eingestuft. Die Beurteilung bei Mukoepidermoidkarzinomen basierte auf den Richtlinien der aktuellen WHO-Klassifikation (Barnes L. et al., 2005).

Das Adenoid-zystische Karzinom wurde nach seiner Architektur in eine tubuläre (= Grad 2), eine kribriforme (= 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 (Ettl T. et al., 2012 a). Den restlichen Entitäten wurde der für sie in der Literatur (Barnes L. et al., 2005; Leivo I., 2006) beschriebene Malignitätsgrad zugeteilt.

3.4 Multiblock

Zur Herstellung der Tissue-Microarrays (TMA) wurden ausgestanzte Zylinder mit 2,0 mm Durchmesser aus den formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebelöcke ausgestanzt. Zuvor war von jedem Tumorpräparat ein aktueller HE-Schnitt angefertigt worden. Die tumorrepräsentative Region wurde mit einem Fineliner lichtmikroskopisch auf dem Objektträger markiert und diese Markierung wurde dann auf den entsprechenden Paraffinblock übertragen (Ettl T., 2009; Baader K., 2013). Mit dieser Methode konnten bis zu 60 Proben auf einem Objektträger untergebracht werden und mittels Immunhistologie untersucht werden.

Vorteil ist hierbei der geringe Materialverbrauch und die damit verbundene Kostenersparnis bei gleichzeitig großer Anzahl der erhaltenen Datensätze. Die Vorteile und Funktionalität dieser TMA Methode wurde erstmals in einer Studie von Kononen J. et al. beschrieben (Kononen J. et al.,1998).

3.5 Immunhistochemie

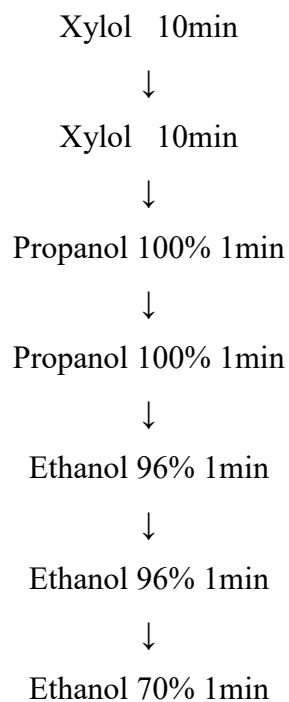
Durch die Immunhistochemie können Proteine oder andere Strukturen mit Hilfe von markierten Antikörpern sichtbar gemacht werden. Sie dient zur Identifikation und Klassifizierung von Tumorzellen, die bestimmte Antigene exprimieren. So können morphologisch gleich erscheinende Tumore, die sich aber in ihrem Wachstums- oder Absiedelungsverhalten (Aggressivität, Metastasen) oder in ihrer Therapieantwort unterscheiden, zugeordnet werden. Der Nachweis beruht auf der Affinität von Antikörpern zu einer bestimmten Gewebeeigenschaft (Epitop) als Antigen-Antikörper-Reaktion. Im Idealfall kommt es zu einer spezifischen und starken Bindung zwischen Antikörper und Epitop. Der Antikörper ist mit einem Detektionssystem gekoppelt, das sein Vorhandensein im Präparat sichtbar macht (Lang G.,2013). So kann man die nicht bindende Seite des Antikörpers wiederum als Bindungsstelle für einen weiteren Antikörper nutzen, der mit Substanzen konjugiert ist, die man zur Detektion verwenden kann (Ettl T.,2009). Es gibt eine Reihe von Verfahren, die sich hinsichtlich der Detektionsreagentien oder der Anzahl der Detektionsschritte (direkte oder indirekte Methode) unterscheiden (Boenisch T., 2006; Welsch U.,2002). Für diese Arbeit wurde aus der Gruppe der Immunperoxidasefärbungen die Streptavidin-Biotin Methode (engl.: Streptavidin-Biotin-Complex, SABC) an in Paraffin eingebettetem Material angewandt. Mit Hilfe des NexES-Autostainer-Systems der Firma Ventana (Ventana Medical Systems, Illkirch, Frankreich) wurden die Färbungen mit den Antikörpern gegen FHIT und p27 durchgeführt. Im Einzelnen wurden folgende Antikörper verwendet:

Anti FHIT polyklonaler Kaninchenantikörper, Atlas Antibodies, Bromma, Schweden
Verdünnung 1:10, pH :6

p27 Ab-1 monoklonaler Mausantikörper, Thermo Fisher Scientific, Fremont CA, USA,
Verdünnung 1:100, pH:7,4

3.5.1. Entparaffinierung

Das hier angewendete Färbeprotokoll für die Fluoreszenz in Situ Hybridisierung ist das Standardverfahren des pathologischen Instituts des Universitätsklinikums Regensburg (Baader K.,2013). Die auf den Objektträger aufgebrauchten Präparate müssen zur besseren Kontrastdarstellung eingefärbt werden. Da die meisten der gebräuchlichen Färbelösungen wässrige Lösungen sind, müssen die Gewebeproben wieder entparaffiniert werden, um die Antigene durch geeignete Verfahren freizulegen. Nach Einlegen der Schnitte in ein warmes Wasserbad wurden sie auf SuperFrost® Plus-Objektträger aufgezogen und mindestens 30 Minuten bei 72°C im Brutschrank inkubiert. Zur vollständigen Entparaffinierung und Dehydrierung wurden die Präparate, ausgehend von Xylol, durch eine absteigende Alkoholreihe geführt:



Anschließend wurden die Präparate für je 2 min mit Millipore- Wasser gewaschen und bis zur Weiterbehandlung in diesem belassen.

3.5.2 Vorbehandlung

Die Präparate für FHIT und p27 wurden mittels Mikrowellenverfahren vorbehandelt. Dazu wurden sie in eine mit Citratpuffer (pH-Wert=7,1) gefüllte Küvette gestellt und schnellstmöglich bis zum Kochen erhitzt und für 10 min inkubiert. Danach wurden die Präparate langsam auf Raumtemperatur abgekühlt. Nach diesem Vorgehen wurden die Gewebeschnitte in destilliertem Wasser gewaschen und für die Immunhistologie bereitgestellt.

3.5.3. Immunfärbung und Detektion

Streptavidin ist ein Protein, das von Bakterien der Spezies *Streptomyces avidinii* produziert wird. Das aus vier identischen Protein-Untereinheiten aufgebaute Eiweiß besitzt eine sehr hohe Affinität jeweils ein Molekül des Vitamins Biotin zu binden. Die Streptavidin-Biotin-Bindung ist eine der stärksten bekannten nichtkovalenten biologischen Bindungen.

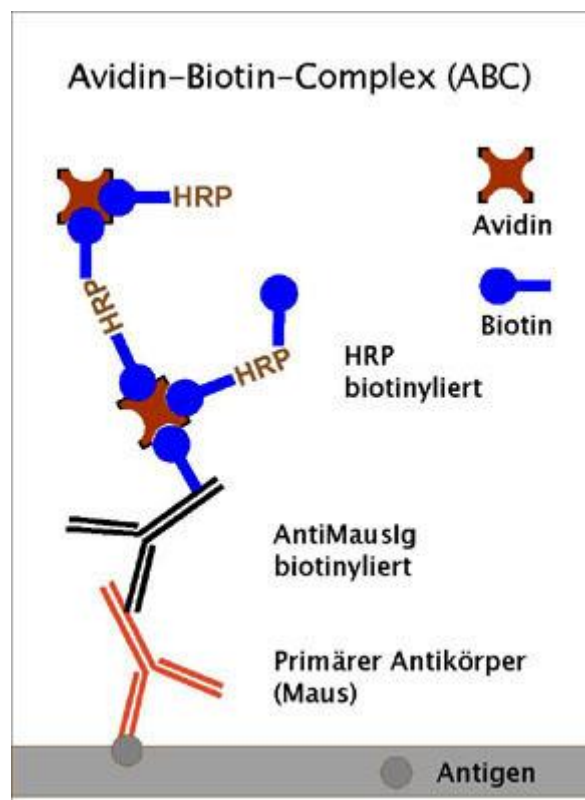


Abb.3.1: Die (Strept)avidin-Biotin-Methode ((S)ABC)

Die Streptavidin-Biotin-Methode nutzt die starke Affinität von Streptavidin für das Vitamin Biotin zur Bildung von Komplexen aus enzymmarkierten Streptavidin-Biotin-Komplexen mit biotinylierten Sekundärantikörpern (SABC-Methode). Als Enzym wird häufig Meerrettichperoxidase eingesetzt. Die Durchführung beinhaltet die Applikation eines Primärantikörpers, eines biotinylierten Brückenantikörpers und des Peroxidase-konjugierten Streptavidins. Zur Sichtbarmachung wird eine Substrat-Chromogenlösung verwendet, wobei an der Stelle des gesuchten Antigens ein Präzipitat entsteht (Boenisch T., 2006). Als Färbereagenz wird Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB) eingesetzt, welches ein braunes Färberegebnis liefert. Nach Abschluss der Reaktion färbt man die Präparate kurz gegen (hier mit Hämalalaun), damit nicht nur die Antikörperkomplexe, sondern auch die histologischen Strukturen erkennbar werden (Ettl T., 2009).

Das Protokoll der FHIT und p27-Immunhistochemie erfolgt nach der Labeled- Streptavidin-Biotin Methode (LSAB), und wird halbautomatisch durchgeführt. Dazu steht das NexES IHC Färbemodul der Firma Ventana zur Verfügung, ein computer- und bordgesteuertes Gerät zur immunhistochemischen Färbung von Gewebeschnitten. Das Färbeprotokoll wurde analog der Arbeit von Ettl T., 2009, übernommen. Das Färbeprotokoll war bis auf den eingesetzten Primärantikörper und dessen Inkubationszeit für alle durchgeführten Färbungen identisch (Ettl T.,2009).

Färbeprotokoll (Ettl T.,2009):

1. Waschpuffer auf 41,0°C erwärmen
2. Objektträger waschen
3. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen (Anm.: Coverslip ist ein reaktionsfähiges, leichtes Beschichtungsöl, welches 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 (FHIT und p27)
13. Objektträger waschen
14. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
15. 1 Tropfen BIOTIN-Ig auftragen und für 8 min inkubieren
16. Objektträger waschen
17. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
18. 1 Tropfen SA-HRP auftragen und für 8 min inkubieren
19. Objektträger waschen
20. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
21. Anwendung auslassen und für 2 min inkubieren
22. 1 Tropfen DAB und 1 Tropfen H₂O₂ auftragen und für 8 min inkubieren
23. Objektträger waschen
24. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
25. 1 Tropfen COPPER auftragen und für 4 min inkubieren
26. Objektträger waschen
27. Objektträger-Volumen anpassen, dann Coverslip auftragen
28. 1 Tropfen HEMATOXYLIN (Gegenfärbung) auftragen und für 4 min inkubieren
29. Objektträger waschen

Anschließend Waschen der Schnitte in aufsteigender Alkoholreihe: 70% und 96% Ethanol, 100% Propanol und Konservieren der Präparate mit Deckgläsern und Entellan

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.
NexES IHC Färbemodul	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, Edermühle
Entellan	Merck, Darmstadt
Gewebeeinbettautomat	Shandon GmbH, Frankfurt a.M.
Glasküvette	DakoCytomation, Dänemark
Hämalaun: Hämatoxylin 2g Aqua dest. 2l Natriumjodat Aluminiumkaliumsulfat 100g Chloralhydrat Zitronensäure-Monohydrat	Merck Darmstadt
Heizplatte	Ika Labortechnik, Staufen i.Br.
Liquid Coverslip	Ventana Medical Systems, Frankfurt a.M.
Metallständer	Wagner & Munz, München
Mikrowelle	Philips, Schweden
Objektträger 25*75*1mm Super Frost®Plus	Mezel-Gläser, Braunschweig
PBS-Lösung: NaCl 8,00g Na ₂ HPO ₄ 1,44g KCl 0,20g KH ₂ PO ₄ 0,24g Millipor- Wasser ad 1,00l	
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

Es wurden sowohl bei FHIT als auch bei p27 die gefärbten Zellen nach Färbintensität Grad 1-3 untersucht, wobei Gewebe mit einer Grad 1 Färbung eine schwache Färbung, Grad 2 eine mittlere Farbintensität und Grad 3 eine hohe Farbintensität aufwies. Ebenfalls wurde bei allen Geweben der prozentuale Anteil der gefärbten Zellen pro Hauptgesichtsfeld (HPF, high-power field) ermittelt. Aus diesen beiden Werten wurde dann der Quick -Wert berechnet:

Quick- Wert = prozentuale Färbung x Farbintensität

Bei nach FHIT eingefärbten Geweben wurde ein Quick-Wert ab 100 als positiv gewertet. Bei p27 wurde ein Quickwert von 150 als Grenzwert festgelegt. Bei den Färbungen von FHIT handelte es sich sowohl im Tumorgewebe als auch im Normalgewebe um Kernfärbungen. Bezüglich p27 wurden beim Normalgewebe azinäre und duktale Färbungen unterschieden und der höhere Wert für weitere Berechnungen herangezogen. Am Tumorgewebe konnte für p27 nicht in azinär und duktal gefärbt unterschieden werden, da sich die Gewebestrukturen stark verändert darstellten.

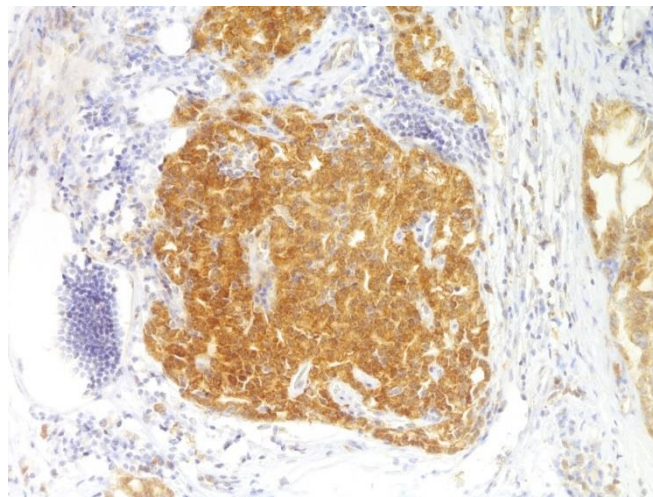


Abb.3.2: Azinuszell-Ca(x200) FHIT Färbung 100% Färbintensität 3

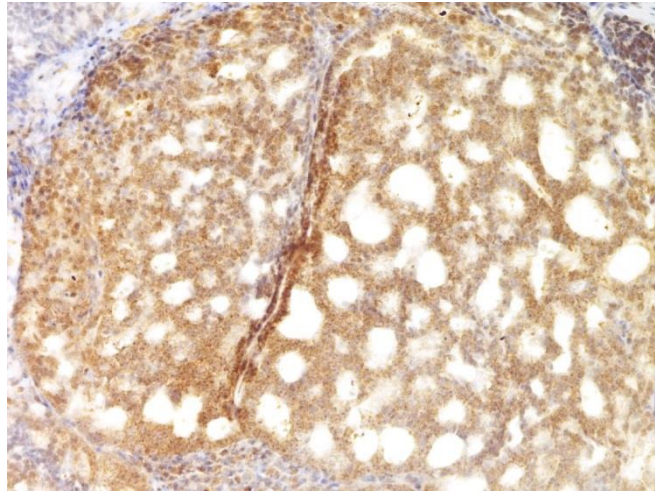


Abb.3.3: Azinuszell-Ca (x200) FHIT Färbung 100% Färbeintensität 2

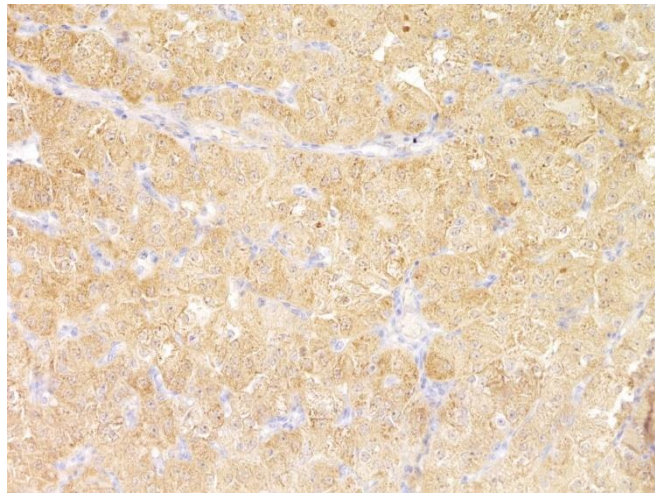


Abb.3.4: Azinuszell-Ca (x200) FHIT Färbung 100% Färbeintensität 1

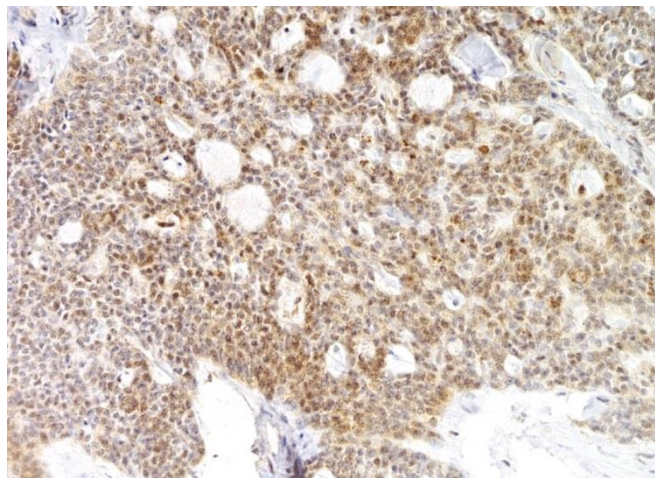


Abb.3.5: Azinuszell-CA (x200) FHIT Färbung 50% Färbeintensität 1

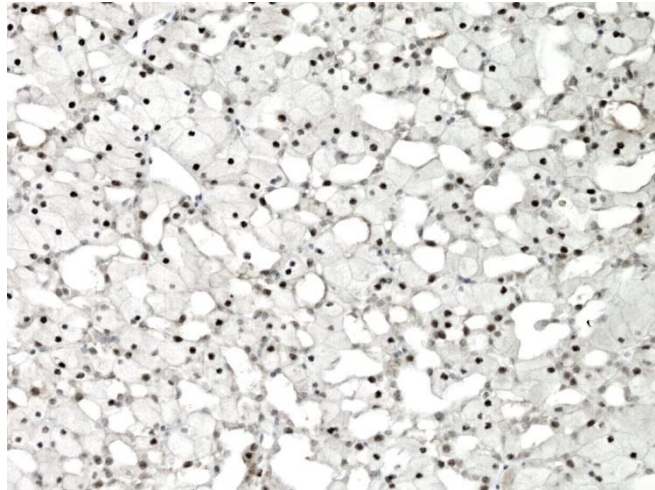


Abb.3.6: Azinuszell-Ca(x200) FHIT Färbung 0%

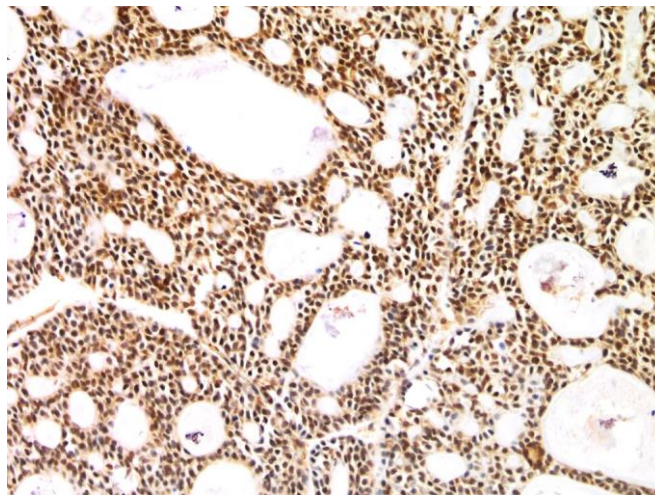


Abb.3.7: Adenoidzystisches-Ca(x200) p27 Färbung 100%, Färbeintensität 3

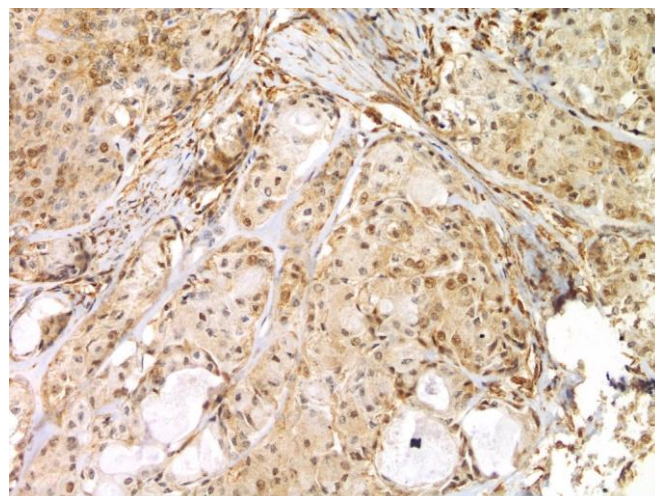


Abb.3.8: Mukoepidermoid-Ca(x200) p27 Färbung 50%, Färbeintensität 2

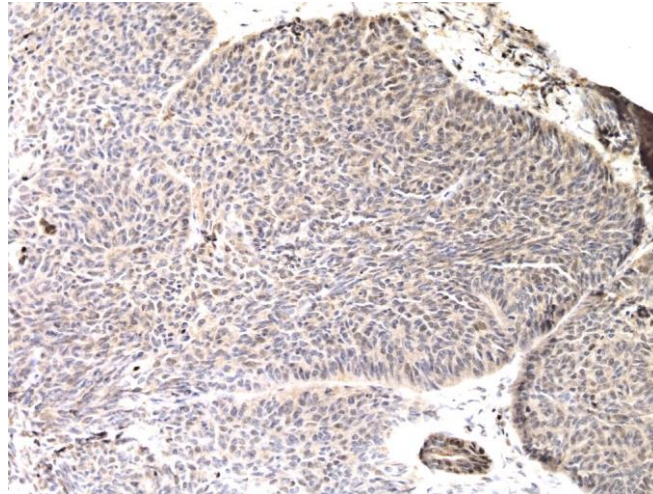


Abb.3.9: Adenoidzystisches-Ca(x200) p27 Färbung 0%

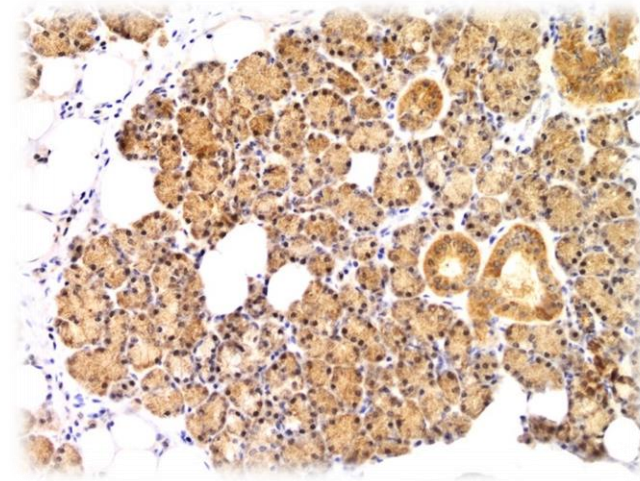


Abb.3.10: Normalgewebe (x200) FHIT duktal und azinär 100%, Färbeintensität 2

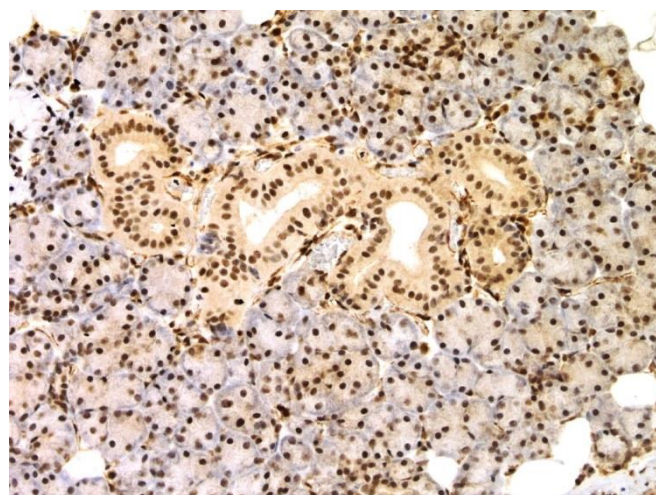


Abb.3.11: Normalgewebe (x200) p27 duktal 90%, Färbeint. 3, azinär 80%, Färbeint.2

3.8. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS, Version 24 (SPSS, Erkrath, Deutschland). Assoziative Beziehungen wurden mittels Fisher Exakt-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. 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

Bei 259 untersuchten Patienten trat mit einem Anteil von 17,4 Prozent das Adenoid-zystische Karzinom (n=45) am häufigsten auf, gefolgt vom Mukoepidermoidkarzinom (n=39) mit 15,1 Prozent. 13,9 Prozent der untersuchten Präparate zeigten ein Azinuszellkarzinom (n=36). Das Adenokarzinom NOS (n=31), das Speichelgangkarzinom (n=25) und das Plattenepithelkarzinom (n=23) traten ebenfalls häufig auf.

Tab.4.1: Verteilung der Tumorentitäten im Patientenkollektiv

Tumortyp	Häufigkeit Prozent	
	Häufigkeit	Prozent
Adenoid-zystisches Karzinom	45	17,4
Mukoepidermoidkarzinom	39	15,1
Azinuszellkarzinom	36	13,9
Adenokarzinom NOS	31	12,0
Speichelgangkarzinom	25	9,7
Plattenepithelkarzinom	23	8,9
Myoepithelialkarzinom	18	6,9
Polymorphes low-grade Karz.	12	4,6
Baselzell Adenokarzinom	7	2,7
Onkozytäres Karzinom	5	1,9
Epithelial myoepithel. Karz.	4	1,5
Maligner Mischtumor	4	1,5
Undifferenziertes Karzinom	4	1,5
Rhabdoides Karzinom	3	1,2

Zyst-Adenokarzinom	2	0,8
Riesenzellkarzinom	1	0,4
Gesamt	259	100,0

Tab.4.2: Verwendete Abkürzungen

Adenoid-zystisches Karzinom	ACC
Mukoepidermoidkarzinom	MEC
Azinuszellkarzinom	ACCC
Adenokarzinom	ADC
Speichelgangkarzinom	SDC
Plattenepithelkarzinom	PEC
Myoepitheliales Karzinom	MYEC
Polymorphes low-grade Karzinom	PLGC
Onkozytäres Karzinom	OCC
Basalzelladenokarzinom	BCAC
Ephiteliales myoepitheliales Karzinom	EMYEC
primärer maligner Mischtumor	PMMT
Undifferenziertes Karzinom	UDC
Zystadenokarzinom	CAC
Großzelliges Karzinom	GZK

Eine Auswertung erfolgte hinsichtlich der in Tab.4.3 angegebenen Parameter.

Tab.4.3: Klinisch Histologische Parameter im Fallzahlenvergleich der Tumortypen

	ACC	MEC	ACCC	ADC	SDC	PEC	MYEC	PLGC	Andere	Gesamt
Gesamt	45	39	36	31	25	23	18	12	30	259
Geschlecht										
weiblich	29	25	22	12	12	3	10	4	16	133
männlich	16	14	14	19	13	20	8	8	14	126
Alter										
>70	15	9	8	11	13	17	6	3	13	95
≤70	30	30	28	20	12	6	12	9	17	164
Lokalisation										
Gl. sublingualis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
kleine Speicheldrüsen	14	11	2	3	1	0	1	8	0	40
Gl. submandibularis	11	4	2	4	2	1	5	0	6	35
Gl. parotis	19	24	32	24	22	22	12	4	24	183
T-Status										
T1	11	14	15	10	5	3	2	4	7	71
T2	15	15	12	8	8	7	6	4	9	84
T3	12	6	8	8	4	8	7	2	9	64
T4	5	4	1	4	8	4	3	2	5	36
N-Status										
N0	34	29	32	16	8	13	14	8	23	177
N1	4	5	3	2	4	5	1	4	3	31
N2	3	4	0	12	13	4	3	0	4	43
N3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
M-Status										
0	37	34	35	23	22	21	15	11	29	227
1	7	4	1	8	3	1	3	1	1	29
Grading										
G1	30	25	3	2	0	0	4	12	11	87
G2	0	3	32	4	0	0	6	0	0	45
G3	6	11	10	25	25	23	8	0	19	127

Stadium										
1	16	15	9	5	3	2	2	3	6	61
2	9	11	11	2	2	6	5	3	7	56
3	9	7	11	6	3	7	6	4	7	60
4	2	6	13	18	17	7	5	2	10	80
Therapie										
Operation	18	21	13	10	6	10	10	7	12	107
Operation und Radiatio	18	18	32	21	19	13	8	5	18	152
Neck dissection	23	28	26	27	23	16	13	6	19	181
Residualtumor										
R0	24	37	33	19	20	16	14	9	24	196
R1	16	0	3	8	4	5	2	3	4	45
R2	4	2	0	3	1	2	2	0	1	15
Rezidiv										
ja	15	6	7	9	6	7	3	2	7	62
nein	28	31	29	19	18	14	14	10	22	185

4.1.2. Altersverteilung und Geschlechtsverteilung

Die Geschlechtsverteilung im Gesamtkollektiv (Tab.4.3) war mit 133 weiblichen und 126 männlichen Patienten relativ ausgeglichen. Mit 64,4% beim Adenoid-zystischen Karzinom, 64,1% beim Mukoepidermoidkarzinom und 61,1% beim Azinuszellkarzinom waren Frauen bei diesen drei Tumoren etwas stärker vertreten, während beim Adenokarzinom mit 61,3 % und beim polymorphen low grade Adenokarzinom mit 66,7% Männer leicht dominierten. Das Plattenepithelkarzinom konnte mit deutlicher Mehrheit (87%) dem männlichen Geschlecht zugeordnet werden.

Das Alter der Patienten war beim Plattenepithelkarzinom im Mittelwert (73,5) deutlich höher als bei anderen Tumoren. Zum Zeitpunkt der Diagnose waren 73,9 % der Patienten mit Plattenepithelkarzinom älter als 70 Jahre, wohingegen beim Mukoepidermoid Karzinom 23,1% und beim Azinuszellkarzinom lediglich 22,2% der Patienten über 70 Jahre alt waren

($p \leq 0,002$).

Tab. 4.4: Alters- und Geschlechtsverteilung

Tumortyp	N	Mittelwert	Minimum	Maximum	Standardabweichung
ACC	45	59,6	30	98	16,1
MEC	39	50,9	11	94	22,0
ACCC	36	53,0	29	89	16,2
ADC	31	62,2	21	86	16,5
SDC	25	67,2	34	91	15,0
PEC	23	73,5	15	94	16,4
MYEC	18	62,6	34	88	13,7
PLGC	12	61,0	39	99	17,3
Andere	30	63,7	31	88	15,6
Insgesamt	259	60,4	11	99	18,0

4.1.3. Lokalisation

Bei den untersuchten Tumoren handelte es sich in 183 Fällen um Tumore der Glandula Parotis. 40 Tumore waren in den kleinen Speicheldrüsen lokalisiert und 35 in der Glandula submandibularis ($p < 0,001$).

Lediglich ein Tumor war in der Glandula sublingualis lokalisiert (Abb.4.1).

Prozentual gesehen traten die meisten Tumorarten in der Glandula Parotis auf: 96% der Plattenepithelkarzinome, 89% aller Azinuszellkarzinome, 88% der Speicheldrüsenkarzinome, 77% der Adenokarzinome, 67% der Myoepithelialkarzinome, 62% der Mukoepidermoidkarzinome, 42% der Adenoid- zystischen Karzinome, 33% der polymorphen niedriggrad differenzierten Adenokarzinome und 24 % der restlichen Entitäten.

In der Glandula submandibularis waren 28% der Myoepithelialkarzinome und 24 % der Adenoid- zystischen Karzinome lokalisiert, sowie 20 % der Anderen.

67% der Polymorphen low-grade Adenokarzinome waren in den kleinen Speicheldrüsen gelegen, genauso wie 31% der Adenoid-zystischen Karzinome und 28% der Mukoepidermoidkarzinome.

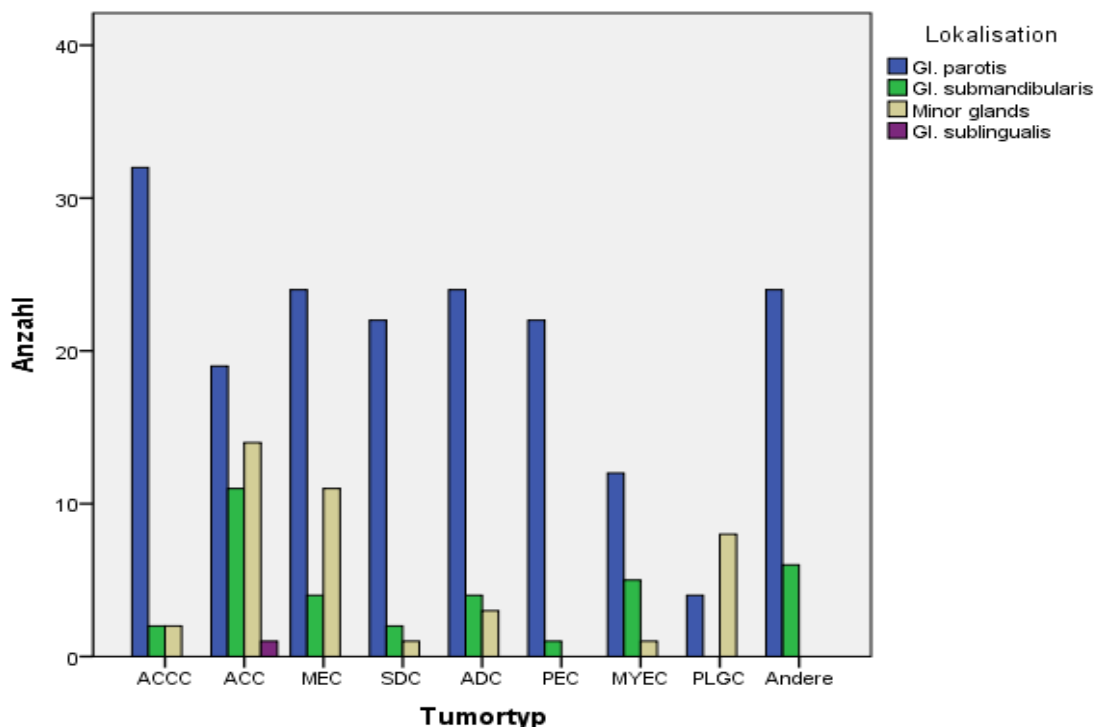


Abb.4.1: Lokalisation der Entitäten

4.1.4. TNM-Klassifikation und Tumorstadium

Die Stadieneinteilung der resezierten Tumore erfolgte nach histopathologischer Befundung entsprechend der TNM -Klassifikation der UICC (2009).

Tumorgröße (T-Status)

Bei 255 Patienten wurde das T-Stadium ausgewertet.

27,8 % wurden dem T1 Stadium, 32,9% dem T2, 25,1%, dem T3 und nur 14,1% dem T4 Stadium bezüglich des Gesamtkollektivs von 255 Patienten zugeordnet (Tab.4.5).

Tab.4.5: T-Stadium Häufigkeiten

Stadium	Häufigkeit	Prozent
T1	71	27,8
T2	84	32,9
T3	64	25,1
T4	36	14,1
Gesamt	255	100

Lymphknotenmetastasen (N-Status)

252 Patienten wurden hinsichtlich der Lymphknotenmetastasierung ausgewertet. Insgesamt zeigten sich bei 30,2 % der untersuchten Patienten befallene Lymphknoten.

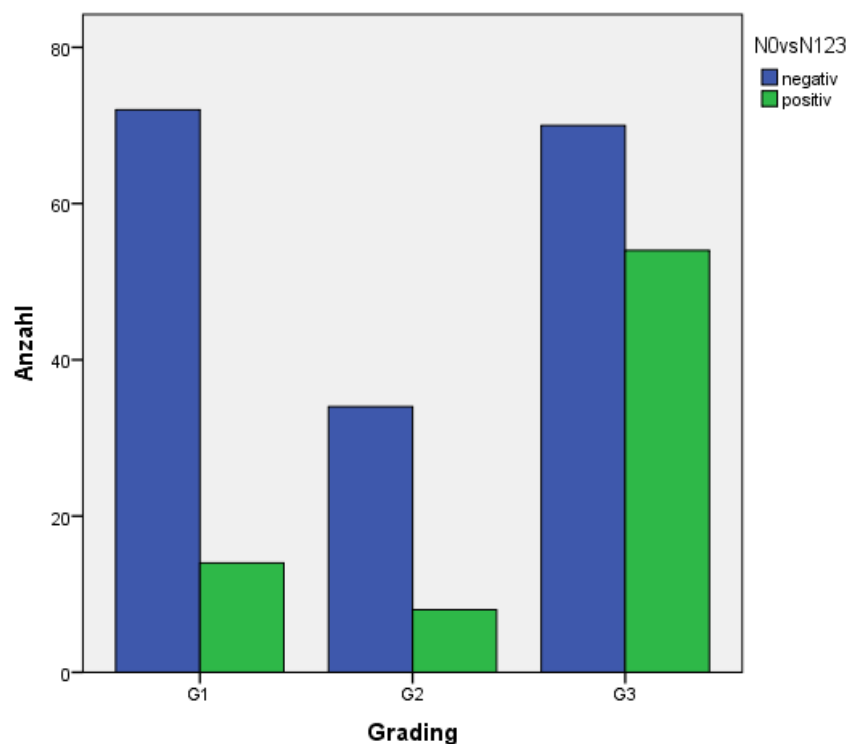
68% der Speichelgangkarzinome, 46,7 % der Adenokarzinome und 40,9% der Plattenepithelkarzinome zeigten Lymphknotenmetastasen, während beim Azinuszellkarzinom nur 8,6 % der Fälle befallene Lymphknoten aufwiesen ($p < 0,001$).

Von den Patienten mit Tumorgröße T1 und T2 hatten lediglich 23,2% Lymphknotenmetastasen. Im Gegensatz dazu hatten Patienten mit T3 und T4 Tumorgröße zu 41,2 % Lymphknotenmetastasen ($p=0,002$) (Tab. 4.6).

Tab.4.6: Kreuztabelle T-Status und N-Status

T-Status	N-status		Gesamt
	negativ	positiv	
T1-T2	119	36	155
T3-T4	57	40	97
Gesamt	176	76	252

Noch deutlicher assoziiert war der Malignitätsgrad und die Lymphknotenmetastasierung ($p < 0,001$). Während bei Malignitätsgrad 1 nur 19,4% und bei Grad 2 nur 23,5% der Tumore Lymphknotenmetastasen gebildet hatten, waren es bei den Grad 3 Tumoren 77,1% (Abb.4.2).

**Abb.4.2:** Lymphknotenmetastasen bezogen zum Grading

Fernmetastasierung

Bei 11,3% der 256 ausgewerteten Fälle zeigte sich eine Fernmetastasierung. 25,8% der Adenokarzinome NOS bildeten Fernmetastasen, was den Höchstwert bei den untersuchten Tumoren darstellte. An zweiter Stelle lag mit 16,7 % das Myoepitheliale Karzinom, gefolgt vom Adenoid- zystischen Karzinom mit 15,9 %. Am wenigsten Fernmetastasen bildete mit 2,8% das Azinuszellkarzinom.

Gesamtstadium UICC

Von insgesamt 259 Fällen wurden die Daten von 257 Patienten bezüglich des Gesamtstadiums ausgewertet. 61 Tumore (23,7%) befanden sich im I Stadium, 56 (21,8%) im II Stadium, 60 (23,3%) im III Stadium und 80 (31,1%) im IV Stadium (Abb.4.3).

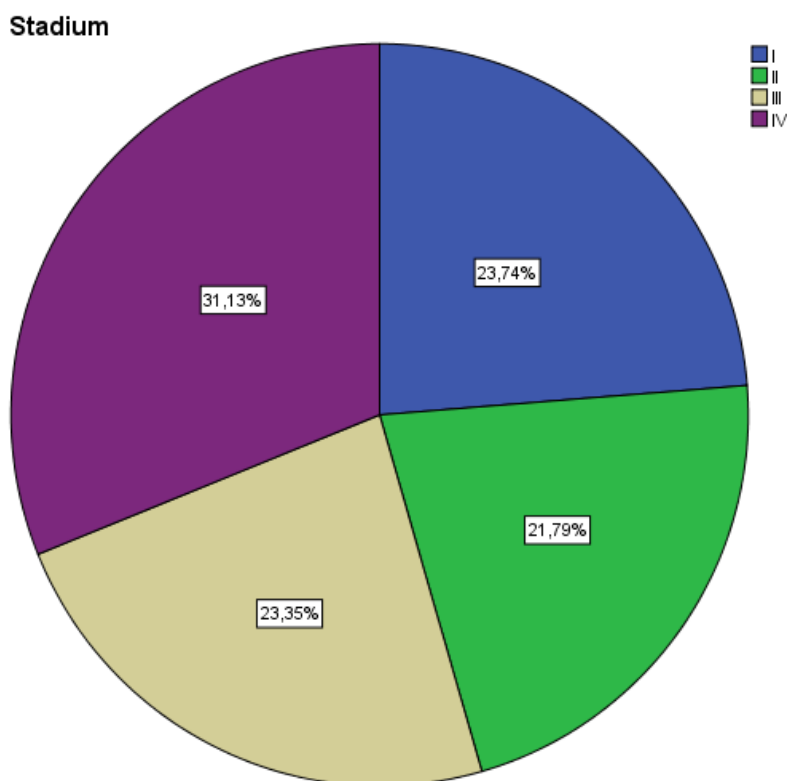


Abb.4.3: Stadienverteilung im Gesamtkollektiv

Dabei war ein deutlicher Unterschied bei der Verteilung zwischen den verschiedenen Entitäten zu sehen. 69,4% der Azinuszellkarzinome und 66,7% der Mukoepidermoidkarzinome befanden sich im Stadium I oder II. Dem gegenüber waren 80% der Speichelgangkarzinome und 77,4% der Adenokarzinome NOS sowie 63,6 % der Plattenepithelkarzinome im Stadium III oder IV ($p < 0,001$).

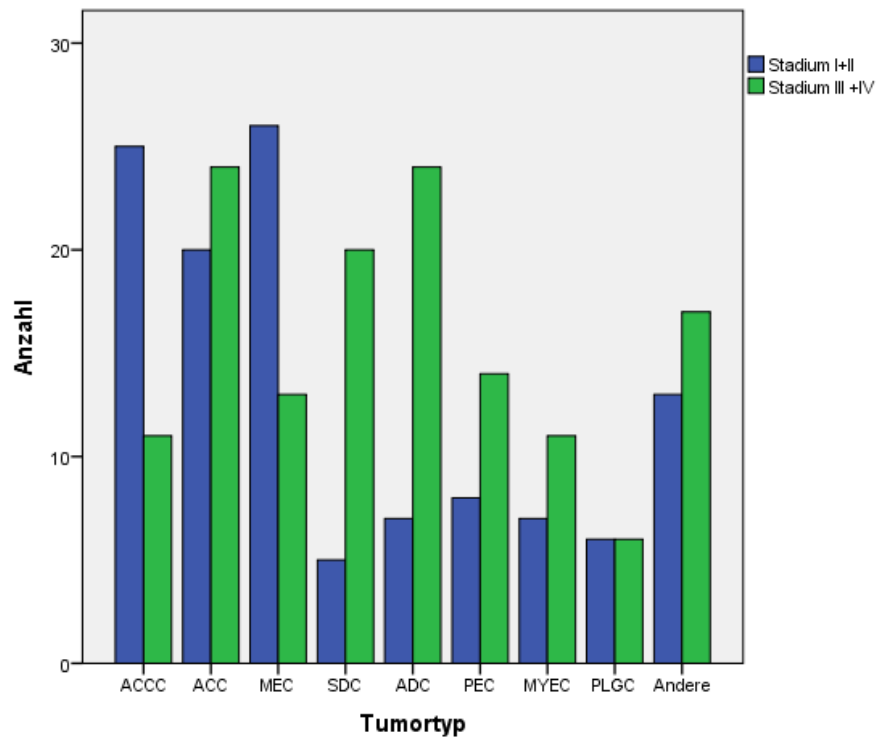


Abb. 4.4: Tumorstadium bezogen auf die Tumorentität

4.1.5. Grading

Von den insgesamt 259 Tumoren wurden 33,6% als niedrig-maligne (G1), 17,4% als mittelmäßig-maligne (G2) und 49% als hoch-maligne (G3) eingeteilt. Während die niedrig-malignen Tumore bezogen auf das Gesamtkollektiv mit 21,4 % eher dem Stadium I und II zugeordnet werden konnten, waren die hoch-malignen Tumore mit 34,24 % eher im Stadium III und IV zu finden ($p < 0,001$) (Abb.4.5).

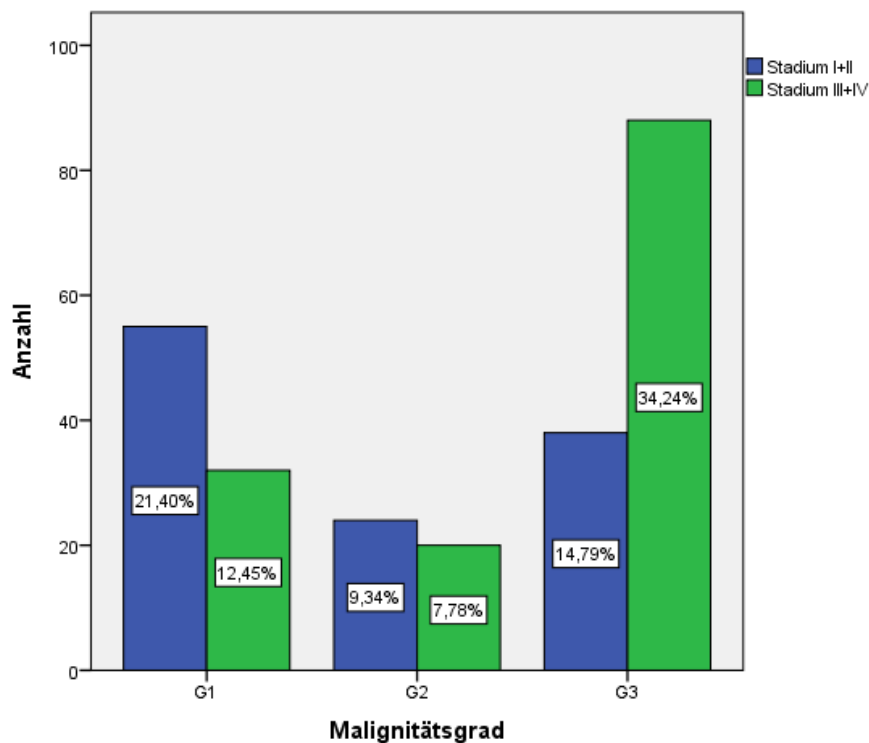


Abb.4.5: Zusammenhang zwischen Malignitätsgrad und Tumorstadium (UICC)

Auffallend war, dass bei den niedrig-malignen Tumoren (G1) lediglich 14 (16,3%) und bei den mittelmäßig- malignen Tumoren (G2) nur 8 (19%) eine Lymphknotenbeteiligung aufwiesen. Demgegenüber wurde bei den hoch-malignen Tumoren (G3) mit 54 (43,5%) ein deutlich erhöhter Lymphknotenbefall festgestellt.

Demnach konnten 71,1% aller tumorpositiven Lymphknoten der Gruppe der hoch-malignen Tumore (G3) zugewiesen werden ($p < 0,001$) (Abb.4.6).

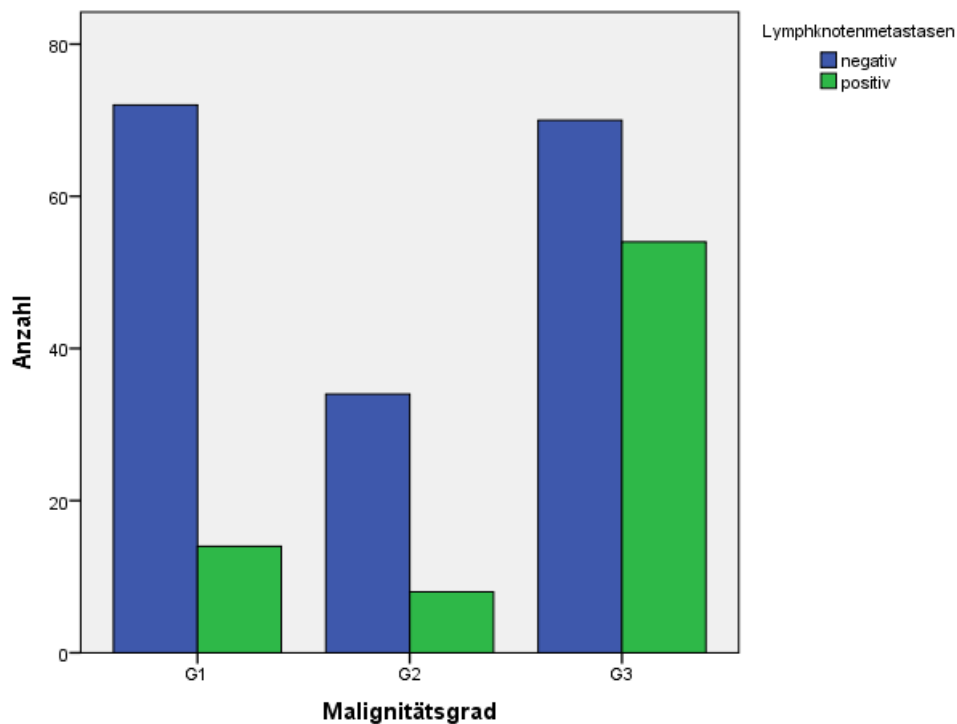


Abb.4.6: Zusammenhang zwischen Malignitätsgrad und Lymphknotenmetastasen

4.1.6. Therapie

Alle 259 Patienten wurden chirurgisch behandelt. 152 (58,7%) bekamen zusätzlich zur chirurgischen Therapie eine Radiotherapie. Bei 196 Patienten konnte der Tumor ohne mikroskopischen Residualbefund entfernt werden ($R=0$), 45 Patienten hatten nach chirurgischem Eingriff einen mikroskopischen Residualbefund ($R=1$) und nur bei 15 Patienten war ein makroskopischer Tumorrest ($R=2$) vorhanden. Von den Patienten mit positiven Residualtumor befanden sich 81,7% im Stadium III oder IV und nur 18,3% im Stadium I oder II, während sich von den Patienten ohne Residualtumor nur 45,4 % im Stadium III und IV befanden und 54,6% im I oder II Stadium. ($p<0,001$) (Tab.4.7).

Tab.4.7: Tumorstadien und Residualtumore

Tumorstadium	Residualtumor		Gesamt
	R0	R1+2	
Stadium I+II	106	11	117
Stadium III+IV	88	49	137
Gesamt	194	60	254

Eine Neck Dissection wurde bei 181 Patienten durchgeführt. 54% der Tumore, die mit einer Lymphknotenentfernung einhergingen konnten high-grade-Tumoren zugeordnet werden, 14,4% waren intermediate-grade Tumore und 30,9% low -grade -Tumore (Tab.4.2).

Bei den Tumoren, die im Stadium III oder IV diagnostiziert wurden, erfolgte bei 75% auch eine Lymphknotenentfernung. Bei den Tumoren im Stadium I oder II wurde bei 65,5% der Tumore eine Lymphknotenentfernung durchgeführt. Eine Strahlentherapie erhielten 149 Patienten, davon bekamen 45 Patienten zusätzlich eine Chemotherapie. Insgesamt bekamen 46 Patienten eine Chemotherapie, da ein Patient ausschließlich eine Chemotherapie erhielt. Von den 46 Patienten die eine Chemotherapie erhielten, wurden bei 37 eine Lymphknotenentfernung durchgeführt. 69 der Patienten mit Lymphknotenentfernung wurden weder radiotherapiert, noch bekamen sie eine Chemotherapie.

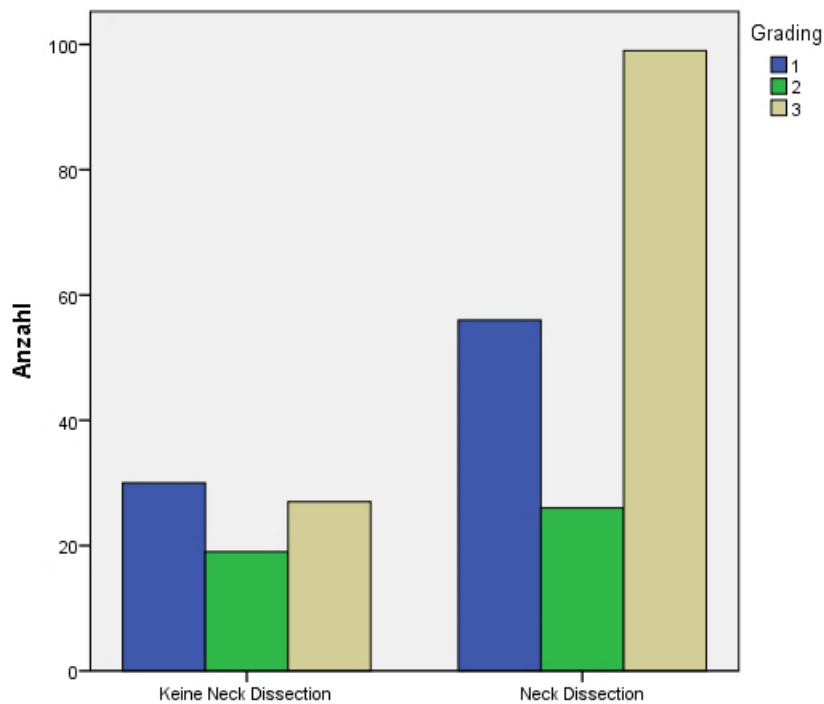


Abb. 4.7: Zusammenhang zwischen Grading und Neck Dissection

4.1.7. Rezidive

In 62 Fällen (23,9%) von insgesamt 259 kam es zu einem Rezidiv. Es konnte keine Entitäten spezifische Signifikanz bezüglich der Entwicklung von Rezidiven festgestellt werden. Deutlich signifikant ($p < 0,001$) war jedoch der Zusammenhang von Tumorstadium und Rezidiv Bildung. 43 (69,4%) der Tumore mit Rezidiv befanden sich im III oder IV Tumorstadium und lediglich 19 (30,6%) im Stadium I oder II (Abb.4.8). Ebenfalls nicht signifikant waren Grading, Alter des Patienten und Lymphknotenbeteiligung mit dem Auftreten eines Rezidivs assoziiert.

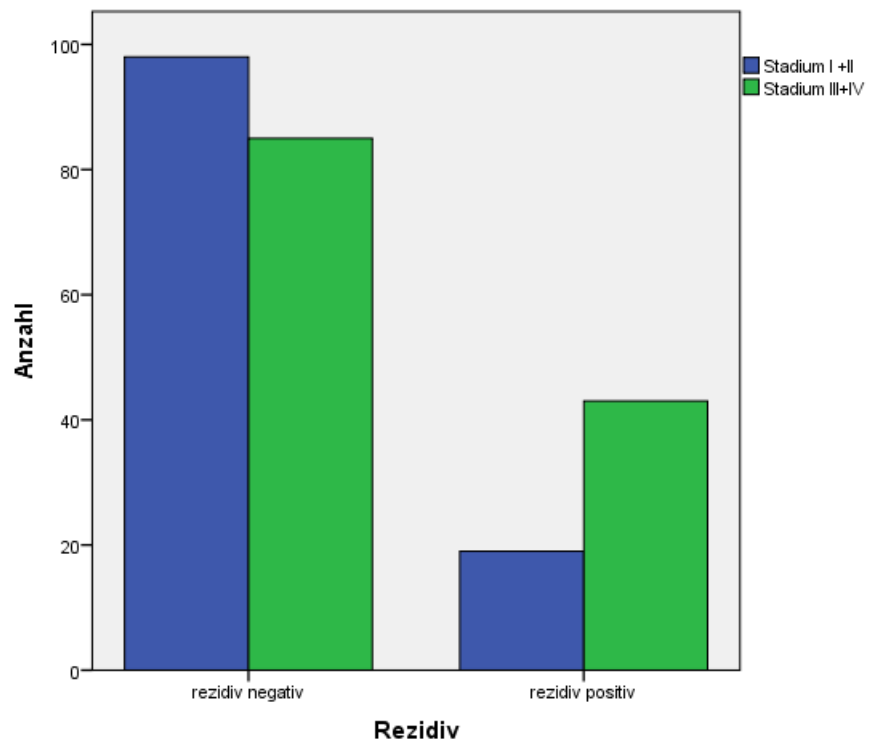


Abb.4.8: Zusammenhang Tumorstadium und Rezidivbildung

4.2. Deskriptive Analyse immunhistochemischer Faktoren

Alle 259 Tumore wurden immunhistochemisch für FHIT und p27 angefärbt. Davon konnten 225 Tumore nach FHIT ausgewertet werden und 242 Tumore nach p27. Die übrigen Gewebeschnitte konnten nicht zur Auswertung herangezogen werden, da sie vom Objektträger abgeschwommen, oder aus anderen Gründen nicht verwertbar waren. Von 61 Tumoren war neben dem Tumorschnitt auch ein Gewebeschnitt des dazu gehörigen Normalgewebes vorhanden, welcher ebenfalls bezüglich der Tumormarker FHIT und p27 eingefärbt und ausgewertet wurde.

4.2.1 FHIT

Die Gewebeschnitte der Tumore wurden auf prozentuale Häufigkeit der gefärbten Zellen und Färbeintensität (I, II oder III) untersucht, dabei wurde die Expression von FHIT bei den Gewebeschnitten mit einem Quick-Wert >100 als positiv angenommen. Der Quick -Wert wurde aus dem prozentualen Anteil der gefärbten Zellen und ihrer Färbeintensität ermittelt.

Quick-Wert = Prozent der gefärbten Zellen x Färbeintensität

Der Vergleich der Färbung zwischen Normalgewebe und Tumorgewebe zeigte einen deutlichen Unterschied beim gemittelten Färbegrad. Der Quick-Mittelwert der Tumorgewebe lag bei 94,1, während die Gewebeschnitte vom Normalgewebe mit dem Mittelwert 213,7 eine deutliche ausgeprägtere Färbung aufwiesen (Tab 4.8.).

Tab 4.8: Mittelwerte des Färbegrades (Quick-Wert)

	FHIT Normalgewebe	FHIT Tumorgewebe
Mittelwert	213,7	94,1
N	54	49
Maximum	300,00	210,00

Im Gesamtkollektiv zeigten 105 (46,7%) der Tumore eine positive FHIT Expression und 120 (53,3%) eine negative Expression. Bei den unter anderen Tumoren zusammengefassten Entitäten war die Expression zu 42,3% positiv, dies entspricht in etwa der Verteilung im Gesamtkollektiv. 72,7% der Azinuszellkarzinome und 68,8% der Mukoepidermoidkarzinom zeigten einen positiven Färbegrad, während 100% der Plattenepithelkarzinome, 75% der polymorphen niedriggradigen Adenokarzinome und 68,2 der Speichelgangkarzinome mit einem negativen Färbegrad einhergingen. (Tab.4.9)

Tab.4.9: Expression von FHIT bezogen auf die verschiedenen Entitäten

	FHIT		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Adenoid-zystisches Karzinom	21	17	38
Azinuszellkarzinom	9	24	33
Mukoepidermoidkarzinom	10	22	32
Adenokarzinom NOS	16	14	30
Duktales Speicheldrüsen Karzinom	15	7	22
Plattenepithelkarzinom	19	0	19
Myoepitheliales Karzinom	9	8	17
Polym. niedriggr. Adenokarzinom	6	2	8
Andere	15	11	26
Gesamt	120	105	225

Klinisch pathologische Parameter und FHIT Expression

Signifikante Unterschiede in der FHIT Expression konnten beim Malignitätsgrad ($p=0,02$), beim T-Status ($p=0,019$) und beim Gesamtstadium ($p=0,011$) festgestellt werden.

Unter den 112 bewerteten Tumoren mit Malignitätsgrad I (G1) oder II (G2) wurde bei 54,5% ($n=61$) Tumoren eine FHIT Expression festgestellt, während 45,5% ($n=51$) Tumore keine FHIT Expression aufwiesen. Von den 113 Tumoren mit einem Malignitätsgrad III (G3) waren lediglich 38,9% ($n=44$) FHIT positiv, dagegen 61,1% ($n=69$) FHIT negativ ($p=0,02$).

Ebenso konnte eine Assoziation zwischen der FHIT Expression und der TumorgroÙe nachgewiesen werden.

53% ($n=72$) der Tumore im T-Stadium I und II zeigten eine positive FHIT Expression, dem gegenüber zeigten die Tumore im T-Stadium III und IV nur in 37,2% ($n=32$) Fällen einen positiven Färbegrad ($p=0,019$).

Bezüglich des Gesamtstadiums zeigte sich FHIT bei den Tumoren im Stadium I und II in 56,3% exprimiert, im Stadium III und IV lag die Expressionsrate hingegen nur bei 39,2 % ($p=0,011$). Der Zusammenhang zwischen dem Vorliegen eines Residualtumors und der FHIT Expression konnte ebenfalls als leicht signifikant gewertet werden ($p=0,047$).

Keine statistisch relevante Signifikanz konnte bei der Assoziation zwischen FHIT, dem Alter ($p=0,112$), dem N-Stadium ($p=0,207$), dem M-Stadium ($p=0,239$) oder dem Auftreten eines Rezidives ($p=0,656$) dargelegt werden (Tab.4.10).

Tab.4.10: FHIT Expression und Pathologische Parameter

	FHIT	
	negativ	positiv
Malignitätsgrad		
G1+G2	51	61
G3	69	44
gesamt	120	105
Alter		
<70	70	72
≥70	50	33
gesamt	120	105
T-Stadium		
T1-T2	63	72
T3-T4	54	32
gesamt	117	104
N-Stadium		
N0	77	77
N1-N3	38	26
gesamt	115	103
M- Stadium		
M0	102	96
M1	16	9
gesamt	118	105
Gesamtstadium		
I-II	45	58
III-IV	73	47
gesamt	118	105
Residualtumor		
R0	85	86
R1+R2	34	18

gesamt	119	104
Rezidiv		
Nein	82	76
Ja	31	25
gesamt	113	101

Signifikante Zusammenhänge wurden fett gedruckt

Eine deutliche Signifikanz war bei der Assoziation der FHIT Expression mit dem Geschlecht zu sehen (Abb.4.9) ($p=0,001$). Unter den Männern zeigten 35,5% der Tumore eine starke FHIT Expression, bei den weiblichen Tumorpatienten lag die FHIT Expression mit 56,8% der Tumore weitaus höher.

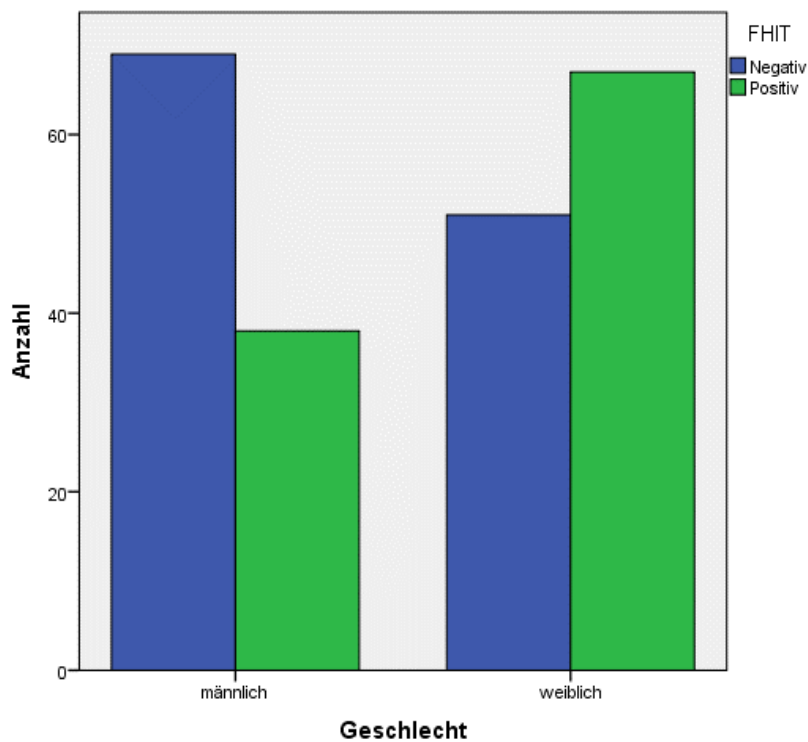


Abb.4.9: FHIT Expression und Geschlecht

4.2.2 p27

Wie bei FHIT beschrieben wurden die auf p27 gefärbten Gewebeschnitte auf den prozentualen Anteil der gefärbten Zellen pro high power field, also pro Hauptgesichtsfeld, und nach Farbintensität (I, II, III) der gefärbten Zellen untersucht. Die Expression von p27 wurde ab einem Quick -Wert > 150 als positiv gewertet, wobei der Quick-Wert sich wie bereits für FHIT beschrieben aus dem prozentualen Anteil der gefärbten Zellen und ihrer Farbintensität zusammensetzt.

Beim gemittelten Färbegrad zeigte sich nur ein geringer nicht signifikanter Unterschied zwischen Normalgewebe und Tumorgewebe (Tab.4.11).

Tab.4.11: Mittelwerte des Färbegrades (Quick -Wert)

	p27 Normalgewebe	p27 Tumorgewebe
Mittelwert	242,7	187,1
N	48	45
Maximum	300	300

Bei 172 (70,2%) Tumore konnte eine starke p27 Expression (p27 positiv) festgestellt werden, 70 (28,9%) der 242 Tumore wiesen dagegen eine schwache oder fehlende p27 Expression (p27 negativ) auf. Die unter „andere Tumore“ zusammengefassten Gewebeschnitte zeigten mit 67,9% (n=19) positiv gefärbten Tumoren eine ähnliche prozentuale Verteilung wie im Gesamtkollektiv.

Während sich die meisten Tumore mit einer maximalen Abweichung von 7% im Bereich der prozentualen Verteilung des Gesamtkollektivs befanden, wichen das Plattenepithelkarzinom mit 50% positiver p27 Färbungen und das duktales Speicheldrüsenkarzinom mit 47,6% positiver Färbungen deutlich von der durchschnittlichen Verteilung ab (Tab.4.12) ($p = 0,002$).

Tab.4.12: Expression von p27 bezogen auf die verschiedenen Entitäten

	p27		Gesamt
	Negativ	Positiv	
Adenoid-zystisches Karzinom	2	42	44
Mukoepidermoidkarzinom	13	24	37
Azinuszellkarzinom	8	27	35
Adenokarzinom NOS	7	20	27
Plattenepithelkarzinom	11	11	22
Duktales Speicheldrüsen Karzinom	11	10	21
Myoepitheliales Karzinom	6	12	18
Polym. niedriggr. Adenokarzinom	3	7	10
Andere	9	19	28
Gesamt	70	172	242

Klinisch pathologische Parameter und p27 Expression

Bei der p27 Expression konnte eine deutliche Signifikanz beim Tumortyp ($p=0,002$) und beim Grading ($p\leq 0,001$) festgestellt werden. Ebenfalls waren Unterschiede bei der Expression von p27 zwischen der Gruppe der Patienten über dem Alter von 70 Jahre und unter dem Alter von 70 Jahren zu erkennen ($p= 0,035$).

126 Tumore wurden bezüglich ihres Malignitätsgrades als G1 oder G2 klassifiziert, davon waren 103 p27 positiv, was einem prozentualen Wert von 81,7 % entspricht. Von den 116 Tumoren im G3 Stadium waren 59,5 % p27 positiv.

Hinsichtlich des Alters zeigte sich folgendes Bild: Von 156 Tumoren bei Patienten unter 70 Jahren waren 75,6 % p27 positiv. Bei Patienten im Alter von 70 und älter waren 62,8% p27 positiv. 75,2 % der Malignitäten der Größe T1-T2 und 65,6% der Tumore der Größe T3-T4 waren p27 positiv ($p= 0,11$).

Bezüglich des Nodalstatus wurden 124 Tumore (74,6%) im N0 Status als p27 positiv eingeteilt. Beim Status N1-N3 waren 44 (63,8%) positiv ($p= 0,091$).

Keine Signifikanz bei der Expression von p27 wurde beim T- Stadium ($p= 0,11$), dem

Nodalstatus (p= 0,091), beim M-Status (p= 0,926), beim Gesamtstadium (p= 0,186), beim Verbleib eines Residualtumors (p=0,29) und bei der Rezidiv Bildung (p=0,821) festgestellt. Auch bezogen auf das Geschlecht waren nur geringe Unterschiede zwischen den Geschlechtern zu sehen (p = 0,096).

Tab.4.13: p27 Expression und pathologische Parameter

	p 27	
	negativ	positiv
Malignitätsgrad		
G1+G2	23	103
G3	47	69
gesamt	70	172
Alter		
<70	38	118
≥70	32	54
gesamt	70	172
T-Stadium		
T1-T2	36	109
T3-T4	32	61
gesamt	68	170
N-Stadium		
N0	42	124
N1-N3	25	44
gesamt	67	168
M-Stadium		
M0	61	151
M1	8	19
gesamt	69	170
Gesamtstadium		
I-II	27	83
III-IV	42	88

gesamt	69	171
Residualtumor		
R0	50	134
R1+R2	19	36
gesamt	69	170
Rezidiv		
Nein	49	122
Ja	16	43
gesamt	65	165

Signifikante Zusammenhänge fett gedruckt

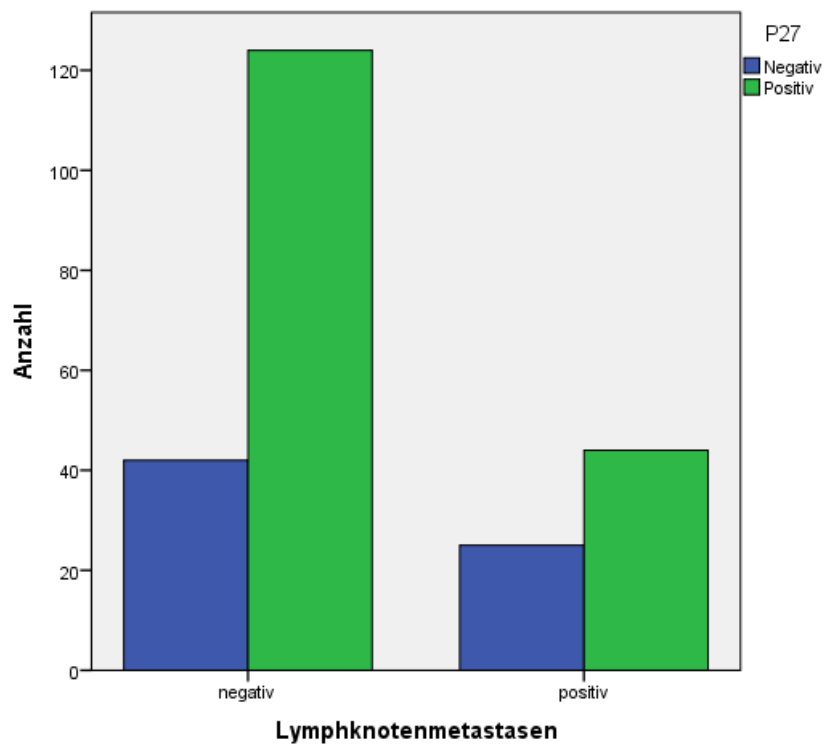


Abb. 4.10: p27 Expression und Lymphknotenmetastasen

Korrelationsanalyse zwischen FHIT und p27

Die lineare Korrelation wurde nach der Einteilung von Cohen wie folgt festgelegt: $r = 0,20$ schwacher Effekt, $r = 0,30$ mittlerer Effekt, $r = 0,50$ starker Effekt. (Cohen J.,1992). Damit entspricht der zwischen FHIT und p27 gefundene Korrelationskoeffizient $r = 0,283$ einem schwachen bis mittleren positiven Effekt, das heißt FHIT und p27 korrelieren nur schwach miteinander. Der Anteil der gemeinsamen Varianz beträgt 8,0%. Es liegt ein schwacher bis mittelstarker positiv linearer Zusammenhang zwischen FHIT und p27 vor ($p < 0,001$).

4.3 Überleben und Prognose

Der durchschnittliche Beobachtungszeitraum der Patienten lag bei 5,25 Jahren, wobei der kürzeste Zeitraum bei 16 Tagen und der längste Beobachtungszeitraum bei 24,95 Jahren lag. Das Tumorspezifische Überleben im Gesamtkollektiv für fünf Jahre betrug 74,1% (5J-TSÜ) und für 10 Jahre 67,6% (10J-TSÜ) (Abb.4.11).

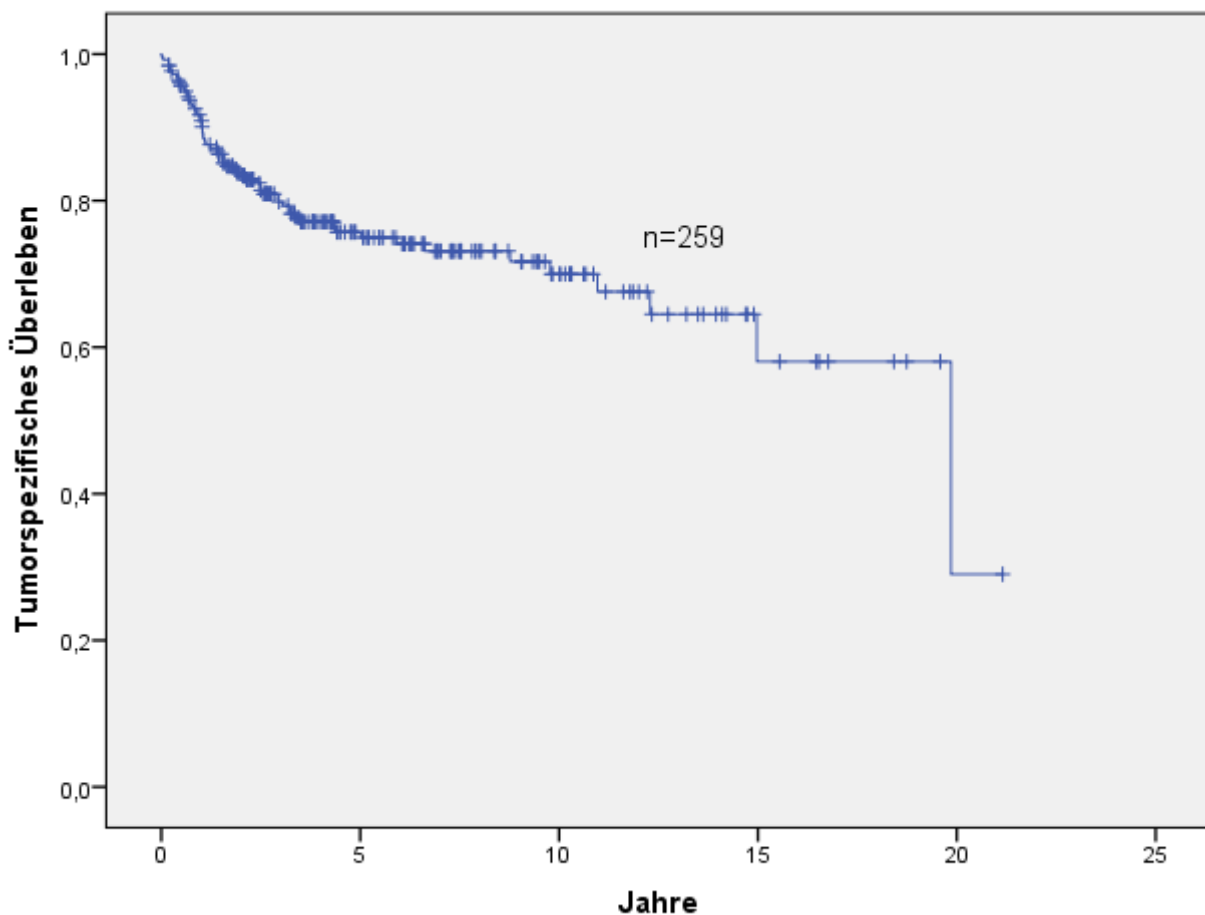


Abb.4.11: Tumorspezifisches Überleben im Gesamtkollektiv

Eine Darstellung der 5- und 10 - Jahres Überlebenswahrscheinlichkeit bezogen auf die Tumorentität und verschiedene klinisch pathologische Parameter wird in Tabelle 4.14 aufgeführt.

Tab.4.14: Überlebensanalyse bezogen auf klinisch-pathologische Parameter

	N	TSÜ % 5 Jahre	TSÜ % 10 Jahre	p-wert (log rank)
Entität				0,008
ACC	45	83	69	
MEC	39	76	76	
ACCC	36	96	88	
ADC	31	57	57	
SDC	25	55	-	
PEC	23	61	61	
MYEC	18	69	69	
PLGC	12	86	86	
Andere	30	75	57	
gesamt	259	74	68	
Geschlecht				0,228
Männlich	126	73	67	
weiblich	133	75	69	
Malignitätsgrad				0,000
G1+G2	132	92	89	
G3	127	55	44	
Lokalisation				0,248
Gl. parotis	183	70,8	66,1	
Gl. submandibularis	35	75,2	65,8	
Gl. sublingualis	1	-	-	
Kleine Speicheldr.	40	86,2	79,0	
Alter				0,000
<70	164	84	77	
≥70	95	55	46	
T-Stadium				0,000
T1-T2	155	85	79	

T3-T4	100	55	46	
N-Stadium				0,000
N0	176	84	76	
N1-N3	76	49	47	
M-Stadium				0,000
M0	227	81,8	76,8	
M1	29	24,8	19,9	
Gesamtstadium				0,000
I-II	117	90	88	
III-IV	140	59	49	
Residualtumor				0,000
R0	196	82	74	
R1+R2	60	49	49	
Rezidiv				0,000
Nein	185	89	85	
Ja	62	49	41	

4.3.1 Tumorentitäten

Der Tumor mit der schlechtesten Überlebensprognose war hierbei das Speichelgangkarzinom (5-J-TSÜ: 55%), gefolgt vom Adenokarzinom NOS (5-J-TSÜ: 57%) und dem Plattenepithelkarzinom (5-J-TSÜ: 61%). Die besten Prognosen hatten Patienten mit Azinuszellkarzinom (5-J-TSÜ:96%) und polymorphem low-grade Adenokarzinom (5-J-TSÜ: 86%) (Abb.4.12).

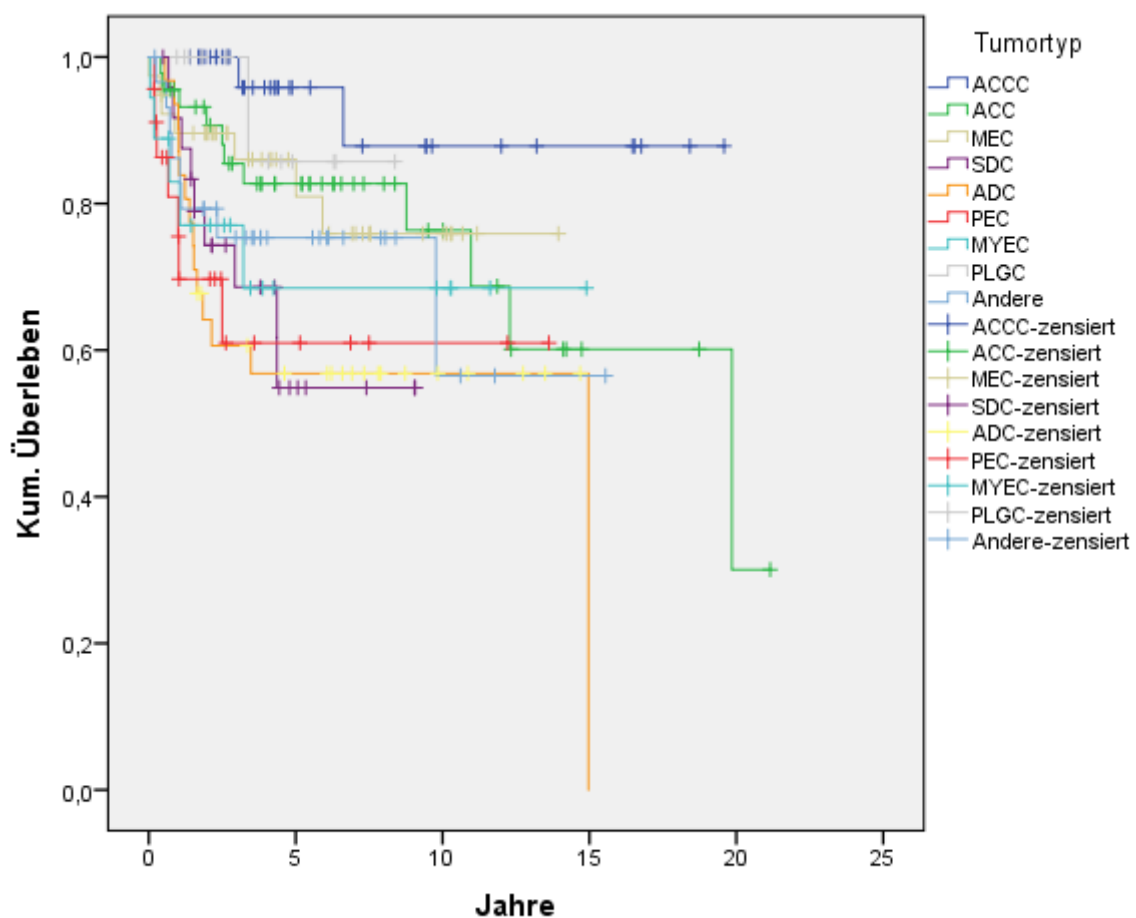


Abb.4.12: Überlebensprognose der einzelnen Entitäten

4.3.2 Geschlecht und Alter

Nicht signifikant waren die Unterschiede der Überlebensprognosen bezogen auf die Geschlechterverteilung.

Bezüglich des Alters der Patienten konnten hingegen bei der 5-Jahres TSÜ unterschiedliche Verläufe festgestellt werden. So hatten Patienten deren Alter bei Tumordiagnose unter 70 Jahre lag mit 83,9 % eine deutlich bessere Prognose als Patienten die älter als 70 Jahre waren, hier war die 5-Jahres TSÜ lediglich bei 55,2 %.

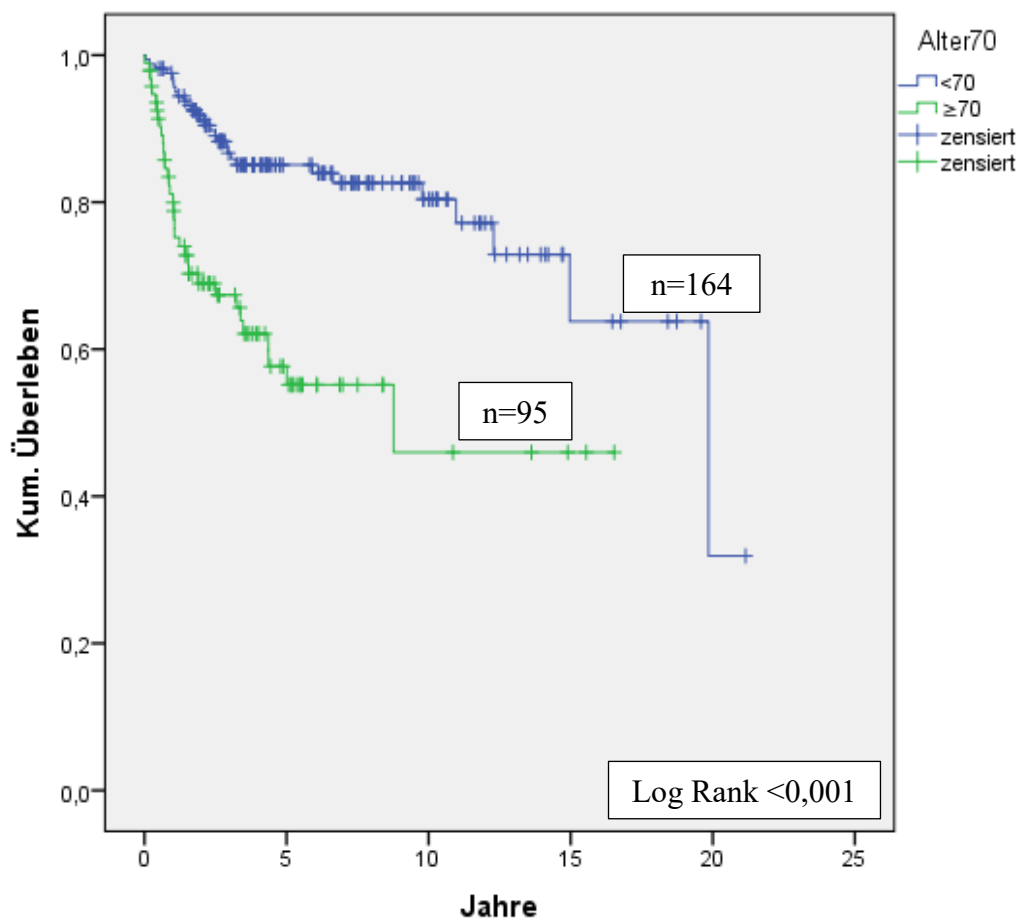


Abb.4.13: Alter und TSÜ

4.3.3 Grading

Deutliche Differenzen waren jedoch zwischen den Malignitätsgraden zu sehen. Während Patienten mit niedrig- (G1) und mäßig- (G2) malignen Tumoren eine 5-Jahres Überlebenswahrscheinlichkeit von 92% aufwiesen, war diese bei den hoch-malignen Tumoren (G3) auf 55% reduziert. (Abb.4.14).

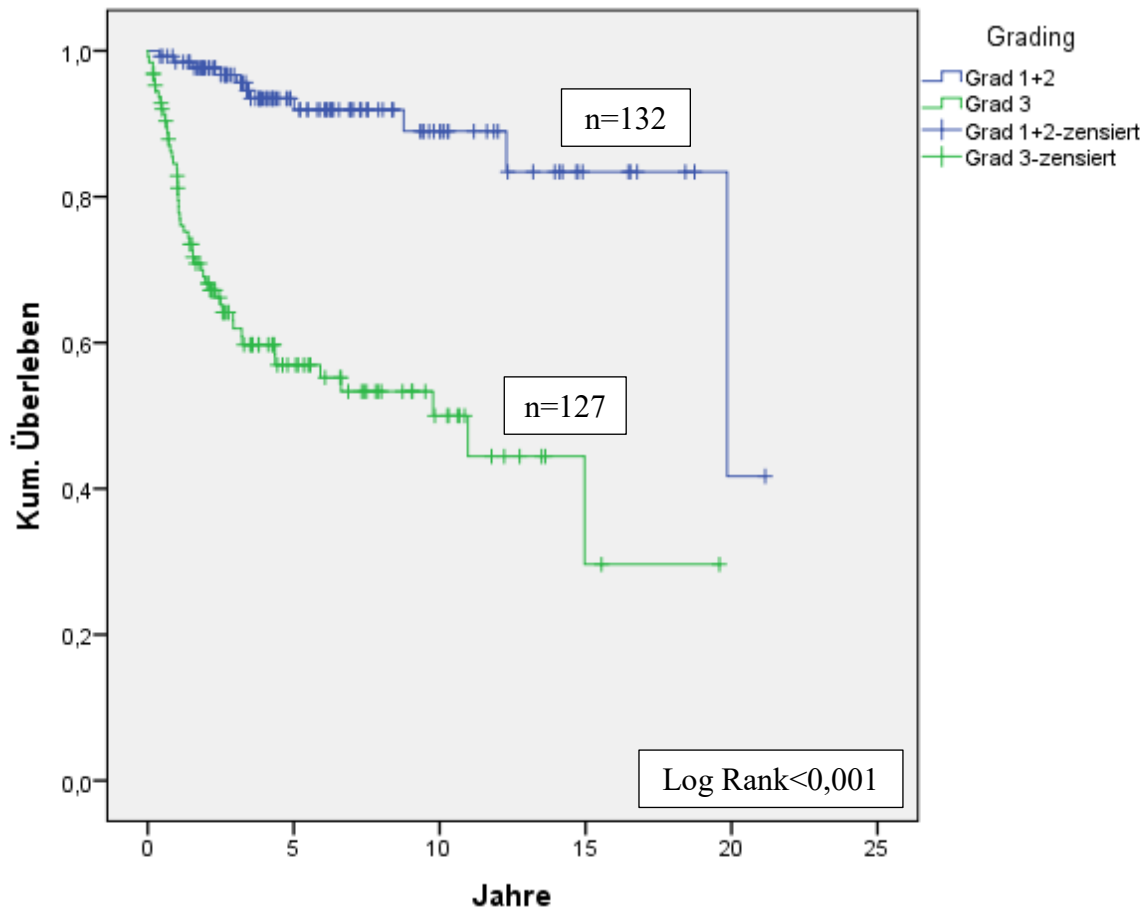


Abb.4.14: Grading und TSÜ

4.3.4. Tumorlokalisation

Karzinome der Glandula parotis (n= 183) zeigten eine 5-J TSÜ von 70,8%. Für Tumore der Glandula submandibularis (n=35) lag dieser Wert bei 75,2% und für Malignome der kleinen Speicheldrüsen (n=40) bei 86,2%. Das Karzinom, das in der Glandula sublingualis (n=1) lokalisiert war, schied nach weniger als fünf Jahren aus der Beobachtung aus.

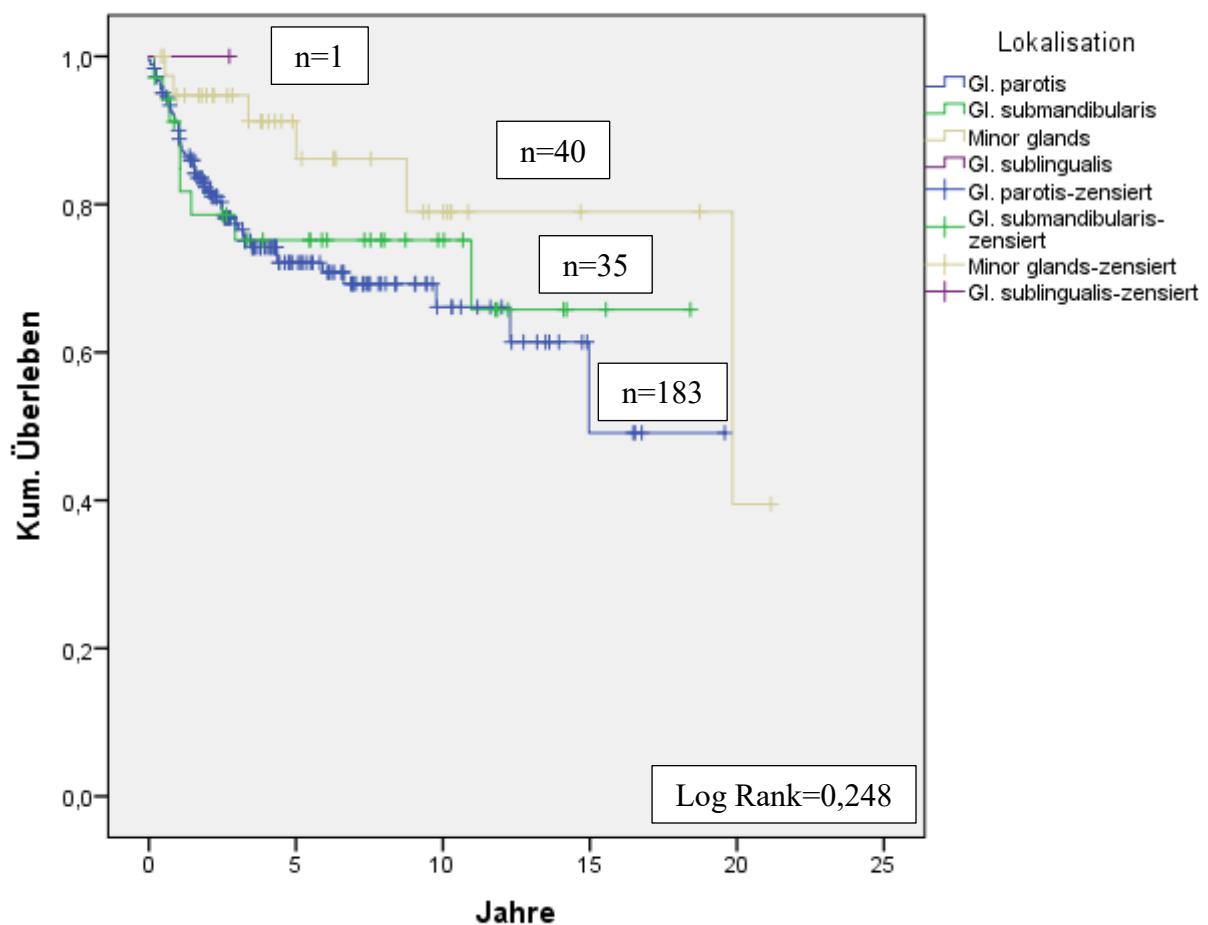


Abb.4.15: Tumorlokalisation und TSÜ

4.3.5 TNM -Status

Für die Tumorgöße (T), das Auftreten von Metastasen (M) und die Lymphknotenbeteiligung (N) zeigte sich bezogen auf die TSÜ eine deutliche Signifikanz ($p < 0,000$). Patienten im T3 Stadium hatten eine 5- Jahres TSÜ von 57,4% und im T4 Stadium nur noch 51,3%, dem gegenüber hatten Patienten im T1 Stadium eine 5-Jahres TSÜ von 89% und im T2 Stadium von 80%. (Abb.4.16).

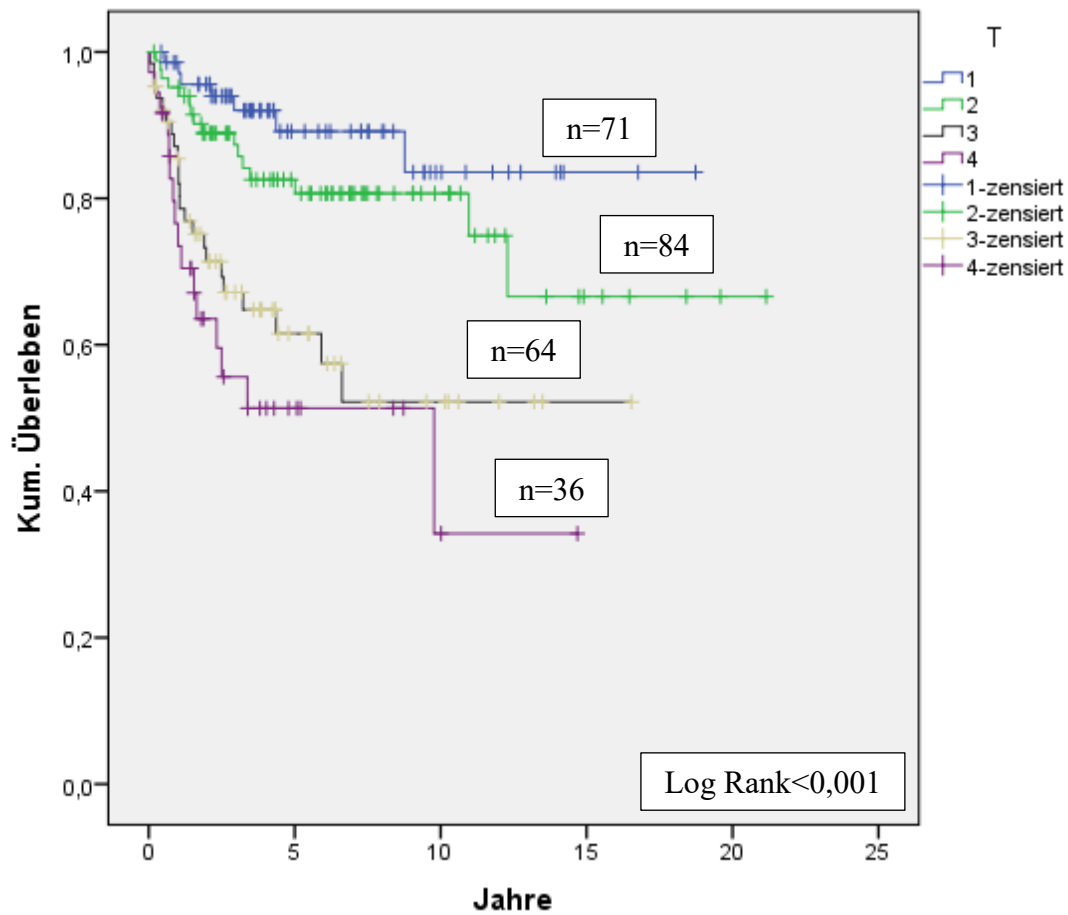


Abb.4.16: T-Stadium und TSÜ

Bei der Betrachtung des Lymphknotenstatus zeigte sich bei N2- Befall eine deutlich schlechtere 5-Jahres -TSÜ von 28,6% im Gegensatz zum N1-Befall (5-Jahres-TSÜ von 75,1 %).

Die beste Prognose hatten Patienten, bei denen keine regionalen Lymphknotenmetastasen nachweisbar waren (NO-Status) mit einer 83,9% 5-Jahres-Überlebensrate.

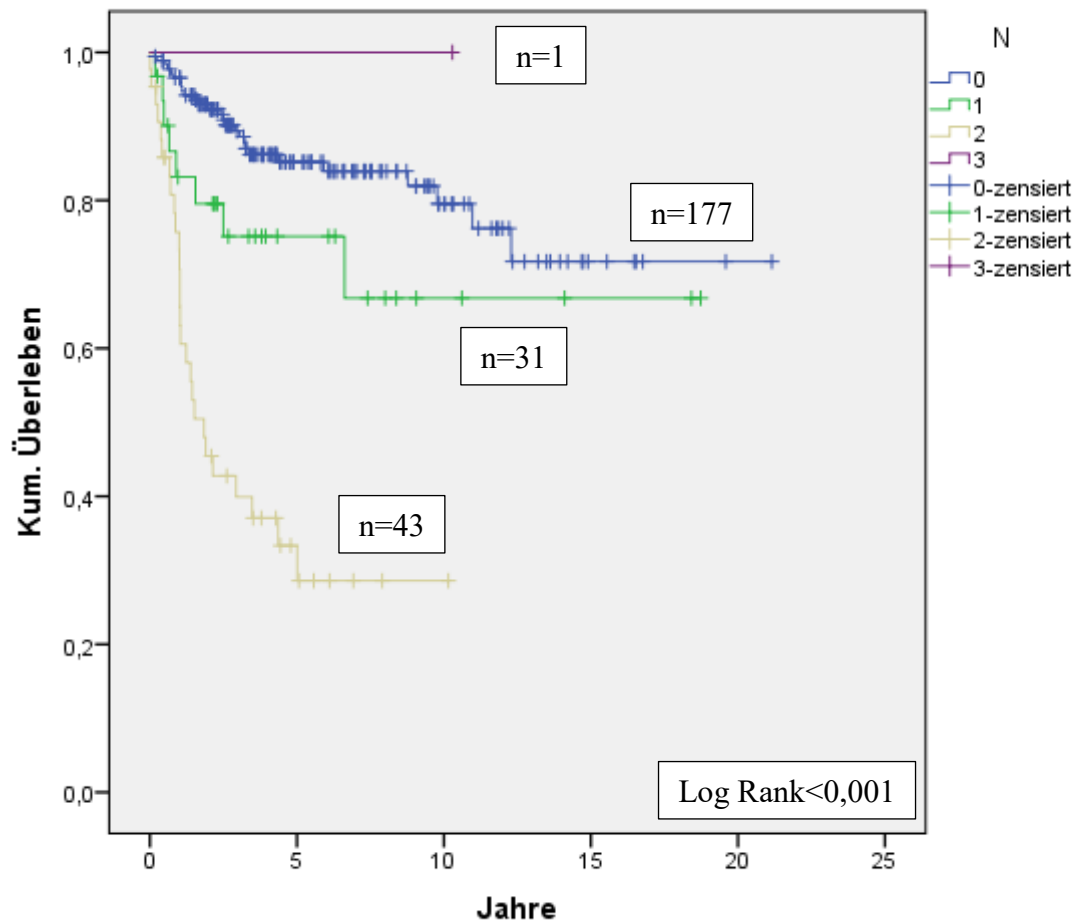


Abb.4.17: Nodalstatus und TSÜ

Die Erkrankten ohne Fernmetastasen (M0) hatten eine 5-Jahres Überlebensrate von 81,8% im Vergleich zu Patienten mit Metastasen (M1), die lediglich eine 5-Jahres TSÜ von 24,8% aufwiesen.

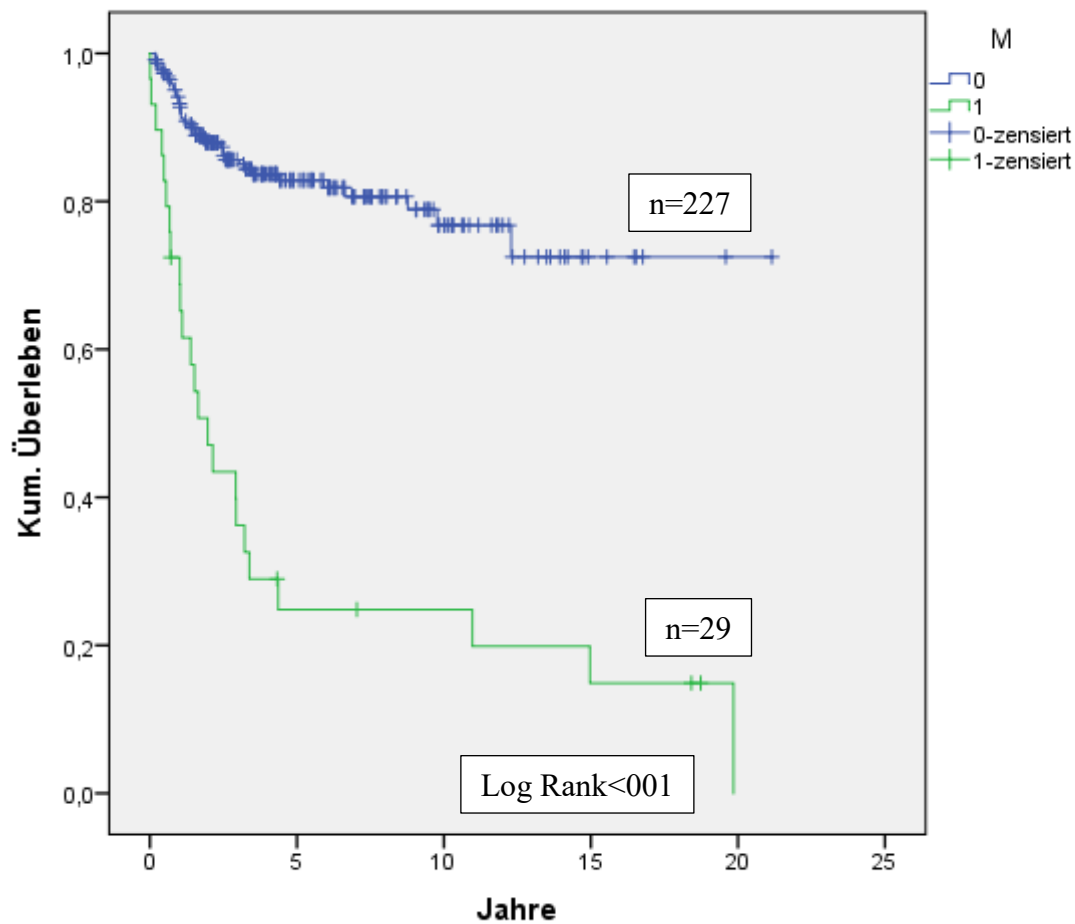


Abb.4.18: Metastasen und TSÜ

Betrachtet man die Stadieneinteilung der Tumore auf Grundlage der TNM - Klassifikation, so zeigte sich bei Stadium 1 und 2 eine annähernd gleiche 5- Jahresüberlebensrate von 91% bei Stadium 1 und 90,6 % bei Stadium 2. Stadium 3 hatte 74,1% und Stadium 4 nur noch 48,1 % 5-Jahres TSÜ.

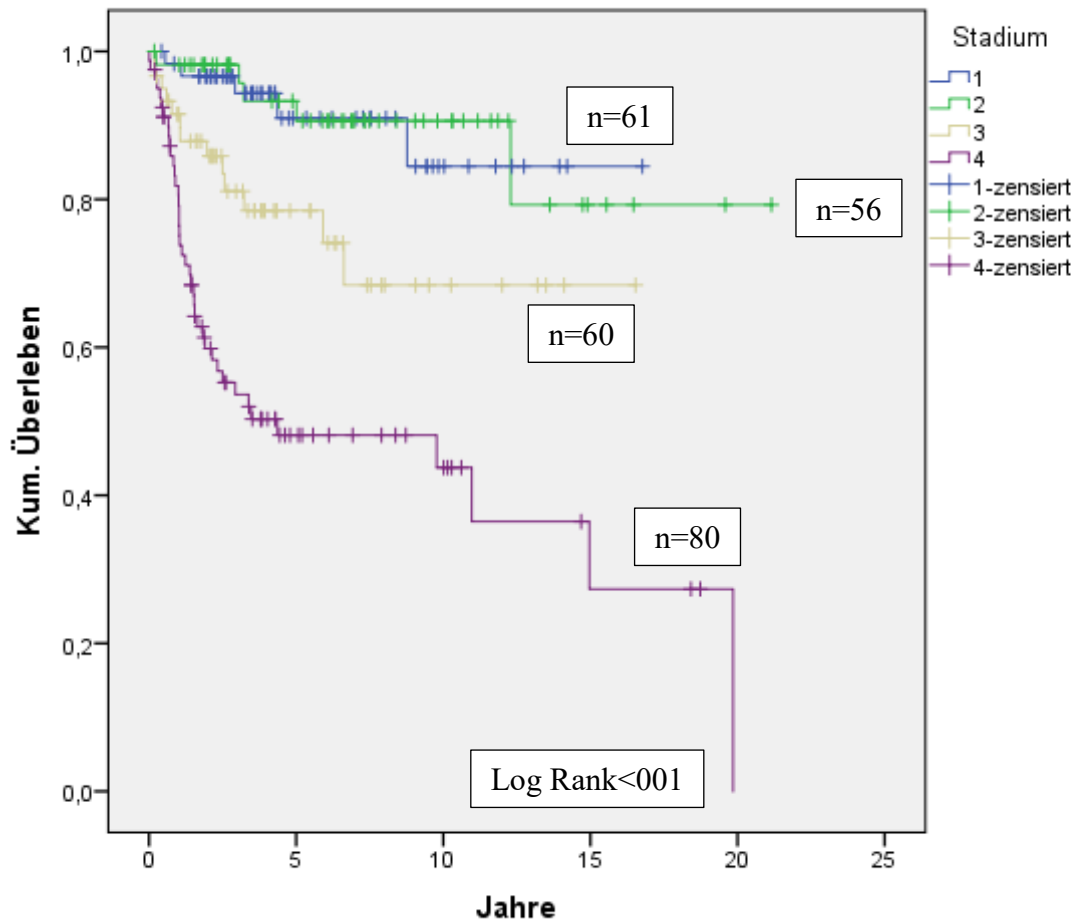


Abb.4.19: Gesamtstadium und TSÜ

4.3.6 Therapie und Resektionsstatus

Es zeigte sich für die Prognose des Tumorleidens von großer Bedeutung, ob der Tumor bei operativen Maßnahmen vollständig entfernt werden konnte. So lag eine besonders ungünstige Prognose bei Belassen eines makroskopisch nachweisbaren Resttumors (R2) nach chirurgischer Therapie vor. Die davon betroffenen Personen hatten lediglich eine 5- Jahres TSÜ von 7,4%. Patienten mit mikroskopisch nachweisbarem Residualtumor R1 nach OP hatten eine 5-Jahres TSÜ von 62,5 %.

Erwartungsgemäß am besten schnitt die Gruppe mit Resektion im gesunden umliegenden Gewebe (R0), also ohne Belassen eines Resttumors, mit 81,9% 5-Jahresüberlebenschancen ab.

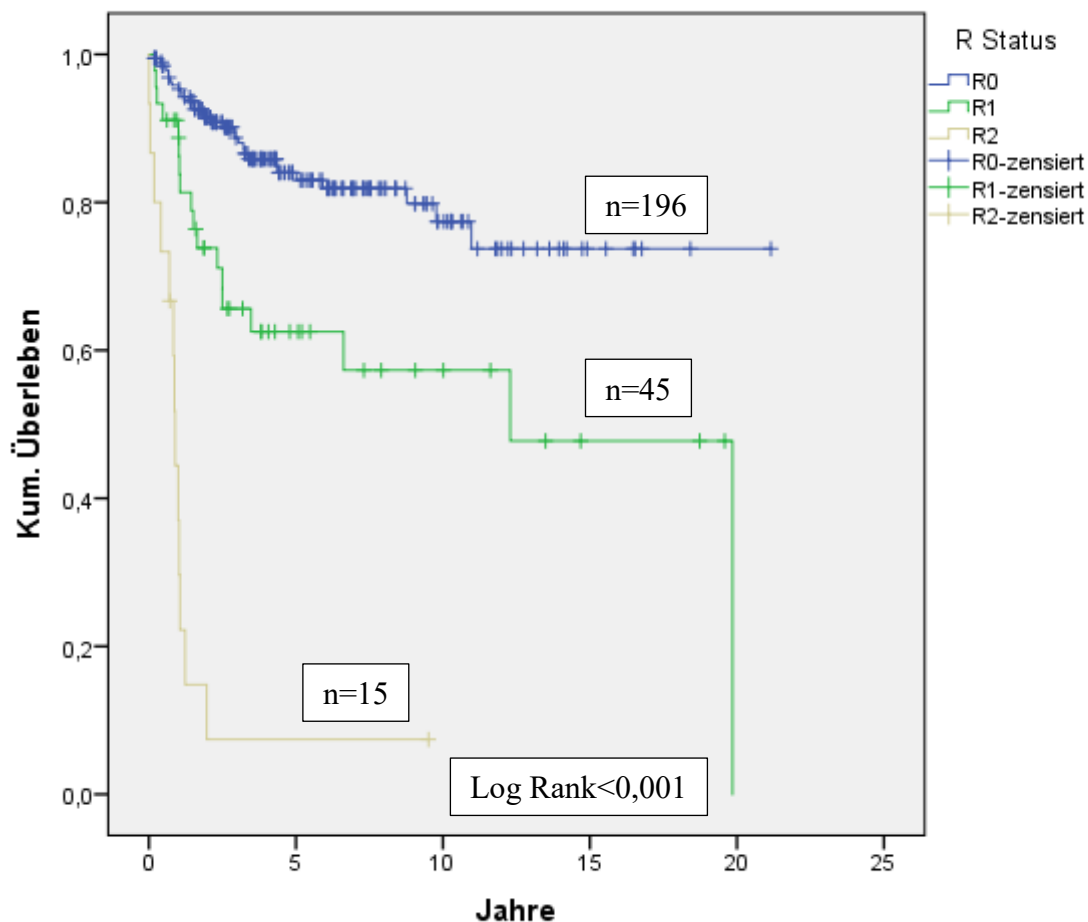


Abb. 4.20: R-Status und TSÜ

4.3.7 Rezidive

Bei den Tumoren mit Rezidiv Bildung (n=48,9) zeigte sich eine 5-Jahres-TSÜ von 48,9% und eine 10-Jahres -TSÜ von 40,8%.

Deutlich bessere Prognosen wiesen die Tumore ohne Rezidiv Bildung auf. Hier lag die 5-Jahres -TSÜ bei 89,1% und die 10-Jahres TSÜ bei 85,2% (p<0,001).

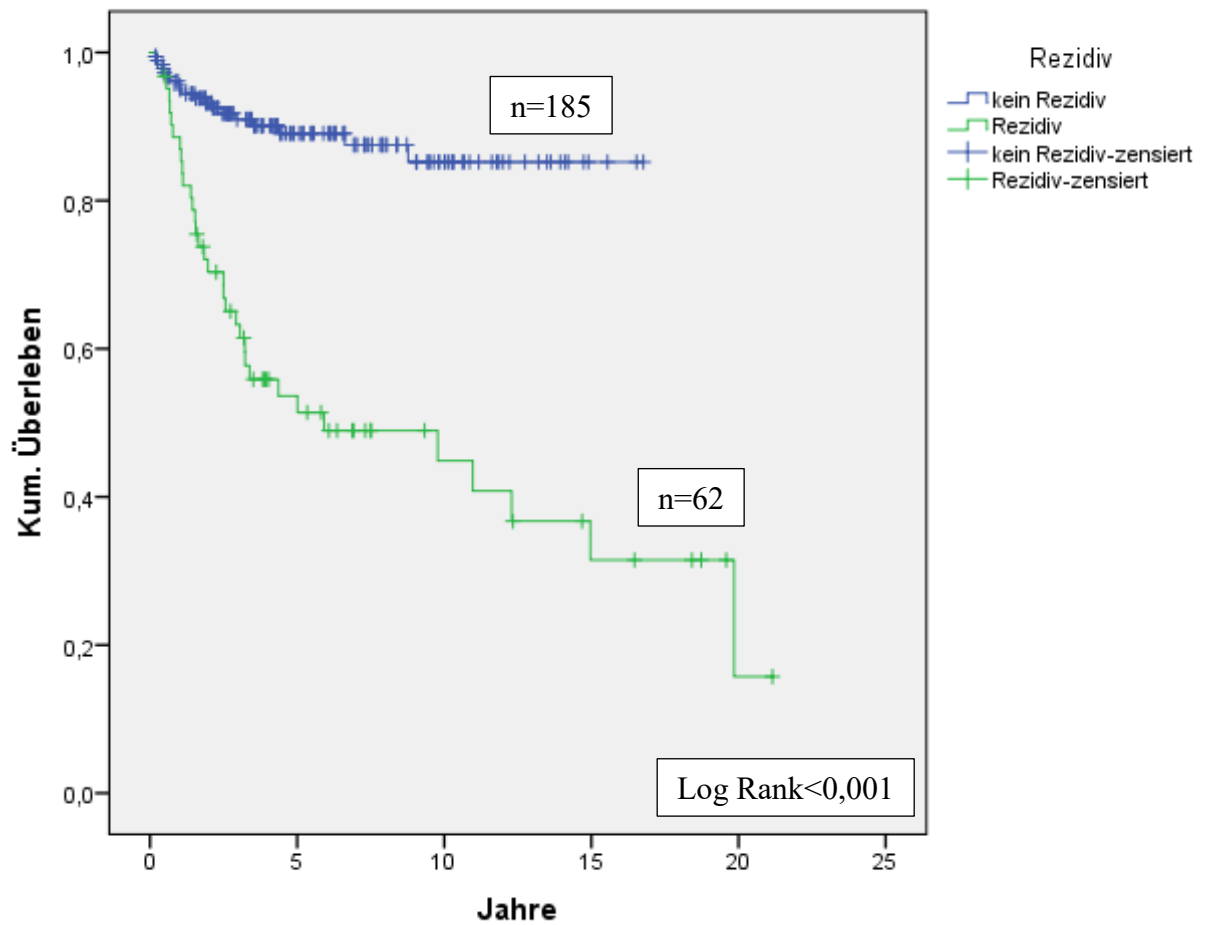


Abb.4.21: Rezidiv und TSÜ

4.4. Univariate Überlebensanalyse: Genstatus

4.4.1 FHIT

Auch hinsichtlich der FHIT-Expression bezogen auf die 5- und 10- Jahresüberlebensrate ließen sich signifikante Unterschiede feststellen:

Während die 5-Jahresüberlebensrate bei starker FHIT Expression 81,8% betrug, lag diese bei schwacher oder fehlender Expression bei 68,4%. Die 10-Jahresüberlebensrate lag bei FHIT-positiven Tumoren bei 78,1% und bei FHIT-negativen bei nur 55,7% (p-wert = 0,003).

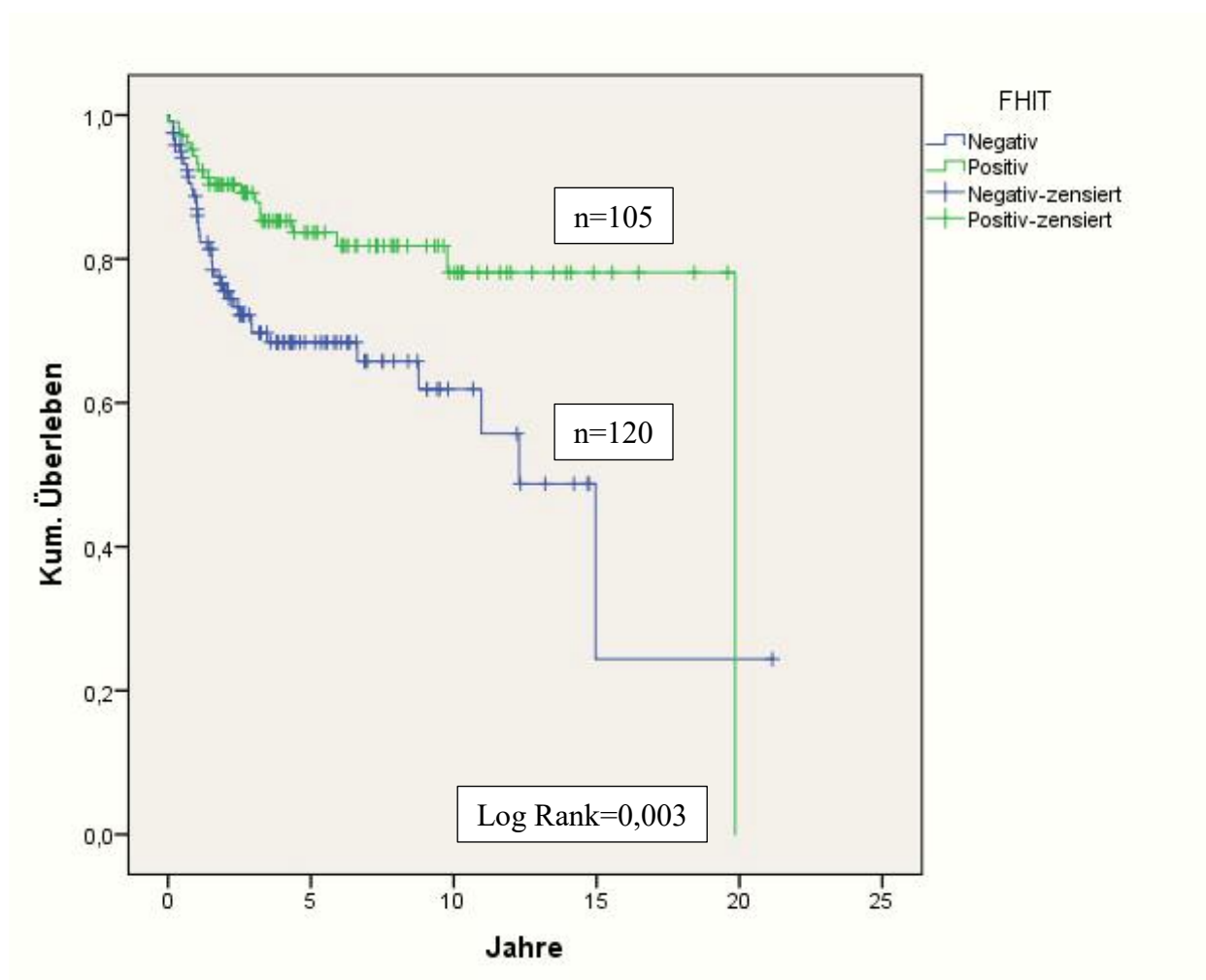


Abb.4.22: FHIT und TSÜ

4.4.2 p27

Bei hoher p27 Expression lag die tumorspezifische 5-Jahresüberlebensrate bei 78,9%, für 10 Jahre bei 72%.

Dem gegenüber war bei p27-negativen Tumoren die Überlebensrate deutlich schlechter. Hier war die 5 -Jahres- TSÜ lediglich bei 61,1% und die 10- Jahres- TSÜ bei nur 56,8% ($p < 0,001$).

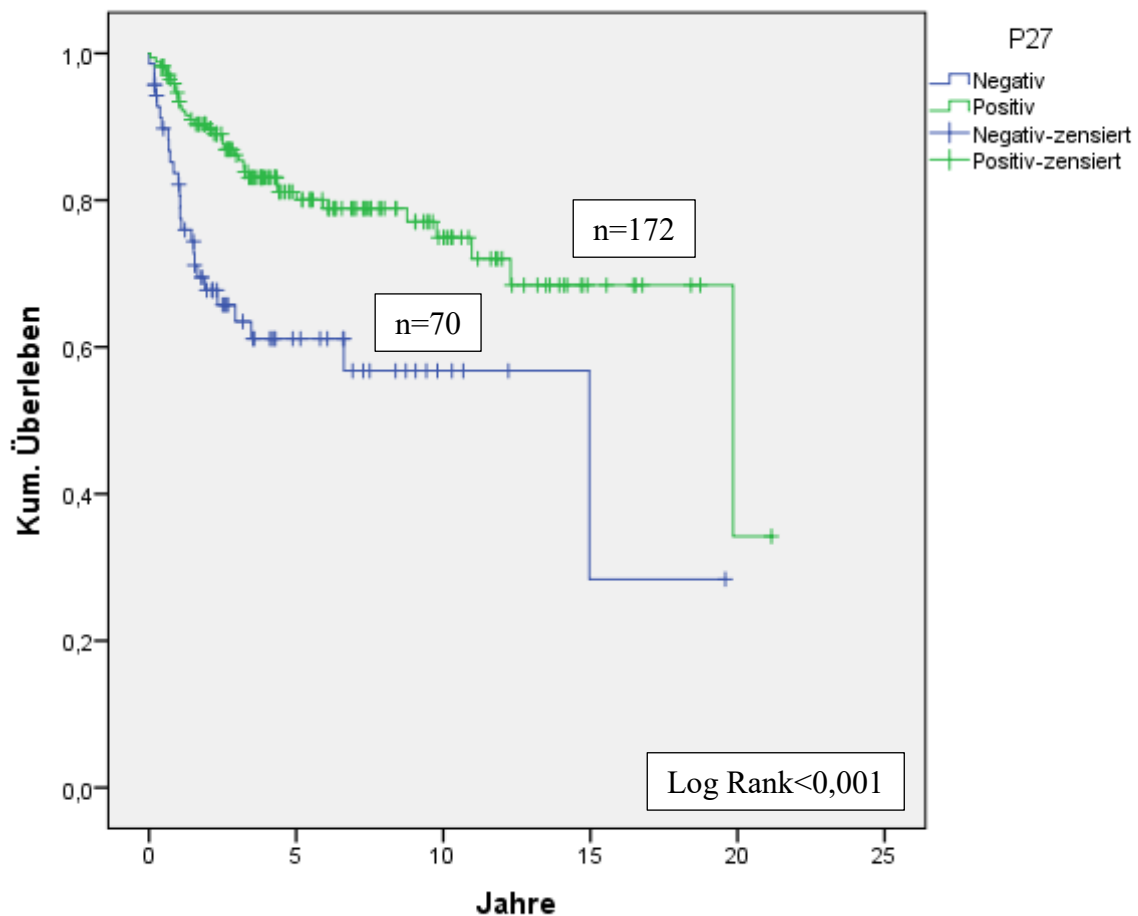


Abb.4.23: p27 und TSÜ

4.5 Multivariate Überlebensanalyse

Tab.4.15: Multivariate Zusammenhänge

Parameter	Codierung	Signifikanz	Odds Ratio	95% Konfidenzintervall
Alter	≤ 70 J. vs. > 70 J.	0,003	2,471	1,352-4,514
Grading	G1 + G2 vs. G3 + G4	<0,001	4,583	2,057-10,215
T-Status	T1 + T2 vs. T3 + T4	0,045	1,890	1,013-3,526
N-Status	N0 vs. N1 + N2 + N3	<0,001	2,905	1,596-5,287
Residualtumor	R0 vs. R1 + R2	0,001	2,804	1,506-5,222
FHIT	positiv vs. negativ	0,267	0,684	0,350-1,337
p27	positiv vs. negativ	0,200	0,659	0,348-1,247

Die Ergebnisse der multivariaten Analyse zeigen, dass ein hoher Malignitätsgrad (G3 und G4) der schlechteste unabhängige Prognosefaktor mit einem ca. 4,6 - fachen höheren Risiko an der Tumorerkrankung zu versterben ist ($p < 0,001$). Betrachtet man das Signifikanzniveau in absteigender Reihenfolge, so wurde das Überleben durch positiven Lymphknotenbefall ($p < 0,001$), durch das Belassen eines Residualtumors (R1+ R2) ($p = 0,001$), durch das Alter ($p = 0,003$ bei ≥ 70 Jahren) und die fortgeschrittene Tumorgroße T3+T4 ($p = 0,045$) negativ beeinflusst.

Keine signifikanten Zusammenhänge in der multivariaten Überlebensanalyse ließen sich bei der FHIT und der p27 Expression finden.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methodik

Speicheldrüsenmalignome kommen in vielen Subtypen vor. So sind in der histologischen Klassifikation nach WHO (2005) 24 Subtypen gelistet. Hinsichtlich des ohnehin seltenen Auftretens der Speicheldrüsenkarzinome sind für bestimmte Subtypen nur wenige Patientenfälle gelistet. Deswegen befassen sich die meisten Arbeiten mit den häufiger auftretenden Formen wie z.B. dem Adenoid-zystischem Karzinom (Godge P. et al.,2012; Min R. et al.,2012), dem Azinuszellkarzinom (Breen JT. et al.,2012; Schwarz S. et al.,2012) oder dem Mukoepidermoidkarzinom (Liyanage RL. et al.,2013; Schwarz S. et al.,2011a).

Andere Studien untersuchen zwar mehrere Subtypen (Suzuki S. et al.,2012; Akrish S. et al.,2012; Oliviera LR. et al.,2011) jedoch lag die Fallzahl lediglich zwischen 47 - 63 Fällen, wodurch die Aussagekraft eingeschränkt wird. Studien mit höherem Patientenkollektiv und somit repräsentativeren Ergebnissen liegen u.a. von Wang YL. et al., vor, der 289 Fälle maligner Speicheldrüsentumore in China auswertete (Wang YL. et al.,2012). 221 Fälle beinhaltete eine Studie von Lawal AO. et al. und in Südbrasilien wurde von Fonseca FP. et al. eine Arbeit mit 493 untersuchten Fällen durchgeführt (Lawal AO. et al., 2013; Fonseca FP. et al., 2012).

Insgesamt wurde in dieser Studie ein Patientenkollektiv von 259 Fällen ausgewertet. Die Daten wurden multizentrisch gewonnen. Dadurch ergibt sich eine durchaus aussagekräftige Anzahl von Fällen. Dabei traten 16 verschiedene Tumorunterformen nach WHO auf (Barnes L. et al., 2005). Neben dem Gesamtkollektiv untersucht die vorliegende Arbeit die 8 häufigsten Entitäten. Davon war das Adenoid- zystische Karzinom mit 45 Fällen, was einer Prozentzahl von 17,4 % der Gesamtfälle entspricht, am häufigsten vertreten. Das polymorphe low-grade Adenokarzinom mit 12 Fällen (4,6%) war der achthäufigste Subtyp und somit derjenige mit dem niedrigsten Fallwert der einzeln ausgewerteten Tumorunterformen. Alle anderen Entitäten mit einer niedrigeren Fallzahl wurden unter dem Begriff „Andere“ zusammengefasst. Dies waren insgesamt 30 Fälle bzw. 11,6%.

Zur Untersuchung der Tumorgewebe wurden Tissue Microarrays (TMA) angefertigt. Diese Methode ist in der Routine weit verbreitet und relativ kostengünstig, da eine Vielzahl an Gewebeproben auf einem Objektträger fixiert werden können. Zudem können die gewonnenen Präparate einfach gelagert werden. Die Auswertung erfolgt an einem gewöhnlichen laborüblichen Lichtmikroskop und ist leicht nachvollziehbar und kontrollierbar (Abrahamo-

Machado LF. et al.,2013).

Ein Nachteil ist, dass bei dieser Methode, um möglichst viele Proben auf einen Objektträger zu bringen, häufig Gewebeproben von nicht mehr als 0,6mm Durchmesser ausgestanzt werden. Dadurch kann vor allem in heterogenen Tumorregionen eine nicht ausreichende Menge erkrankter Zellen erfasst sein (Abrahamo- Machado LF. et al.,2013; McKenna SJ. et al.,2013). Dieser Tatsache Rechnung tragend wurden in der vorliegenden Studie Stenzen von 2 mm verwendet. Dieser erhöhte Durchmesser führt zu besseren repräsentativen Ergebnissen, wie Arbeiten von Santos-Garcia A. et al. und Paiva- Fonesca F. et al. zeigten (Santos-Garcia A. et al.,2006; Paiva- Fonesca F. et al.,2013).

Suboptimal ist auch die unterschiedliche Sensitivität und Spezifität der verwendeten Antikörper und die subjektive Auswertung der Präparate unter dem Mikroskop.

Um die Präparate standardisiert herzustellen, wurde in dieser Arbeit ein computergesteuerter Färbeautomat verwendet, was zu hochwertigen und reproduzierbaren Färbungen führte.

Beachtung sollte die inhomogene Zusammensetzung der untersuchten Patientengruppe finden. Zum einen handelt es sich dabei um zahlreiche Subgruppen verschiedener Speicheldrüsenkarzinome in unterschiedlichen Fallzahlen, zum anderen stellt auch hinsichtlich der Alters- und Geschlechtsverteilung die Zusammensetzung des Patientenkollektivs keine einheitliche Gruppe dar. Möglicherweise könnte eine Veränderung des untersuchten Patientengutes einen Einfluss auf die Prognoseergebnisse der untersuchten Parameter FHIT und p27 haben.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Deskriptive Analyse: Klinisch-pathologische Parameter

5.2.1.1 Tumorhistologie

Das Patientenkollektiv umfasste insgesamt 259 Fälle, die durch histopathologische Untersuchung 16 verschiedenen Entitäten zugeordnet wurden.

Das Adenoid-zystische Karzinom trat mit 17,4% am häufigsten auf. Dieser Wert liegt in der Mitte der in der Literatur angegebenen 10-25% (Peel RL. und Seethala RR.,2007). Vergleicht man andere Studien, so ist diese Tumorform ebenfalls die häufigste Entität, wenn auch mit höherer prozentualer Verteilung (30% bei De Oliveira FA. et al., 2009; 42,1% bei Lawal AO. et al.,2013; 30% bei Tian Z. et al.,2010). Lediglich bei Wang YL. et al. erkrankten mehr Patienten an einem Mukoepidermoidkarzinom (24,6%) als an einem Adenoid-zystischem Karzinom (18%) (Wang YL. et al.,2012).

In dieser Arbeit war das Mukoepidermoidkarzinom mit 15,1% der zweithäufigste Tumor und lag somit etwas unter der in der Literatur angegebene Inzidenz von 20-35% (Peel RL. und Seethala RR.,2007; Neville B. et al., 2009). Mit 13,9 % Anteil liegt das Azinuszellkarzinom im mittleren Bereich des literarischen Häufigkeitswert von 12-17% (Di Palma S. et al., 2006). Wurde diese Tumorform in älteren Arbeiten noch mit einem Anteil von bis zu 20% beschrieben (Ellis GL. und Auclair PL., 1996) so werden bestimmte Malignitäten heute eher anderen Subtypen zugeordnet wie z.B. dem Speicheldrangkarzinom oder dem polymorphen low-grade Adenokarzinom (Auclair P. und Van der Wal JE., 2005). Dies zeigt die Schwierigkeit der Vergleichbarkeit verschiedener Studien hinsichtlich eines bestimmten Subtypus der Speicheldrüsentumore. Ähnliches gilt für das Adenokarzinom NOS, welches mit 12% seltener als in der Literatur beschrieben (17%) auftrat (Auclair P. und Van der Wal JE., 2005).

Dieser höhere Wert kam zustande, da in früheren Studien Tumorentitäten dem Adenokarzinom NOS zugeordnet wurden, welche heute eigene Untereinheiten darstellen wie zum Beispiel das duktales Adenokarzinom (Ettl T. et al.,2007). Dieses hat einen Anteil von 9,7 % in der vorliegenden Arbeit. Ähnliche Werte finden sich bei Wang YL. et al. mit 9,3% (Wang YL. et al., 2012), während in früheren Arbeiten niedrigere Werte zu finden waren (Tian Z. et al., 2010 mit 0,3% und Li LJ. et al., 2008, mit 0,5%).

Das Plattenepithelkarzinom trat mit 8,9 % häufiger auf wie mit 2-5% in der Literatur

beschrieben (Ellis GL. und Auclair PL.,1996). Bei der Diagnose eines primären Plattenepithelkarzinoms der Speicheldrüsen sollte generell an eine Metastase, z. B. eines Plattenepithelkarzinoms der Haut, gedacht werden. Um dies auszuschließen wurden in der vorliegenden Arbeit Fälle erst dann als primäre Plattenepithelkarzinome benannt, wenn ein anderweitig lokalisierter Primärtumor mit Hilfe von Staging-Untersuchungen (inklusive CT-Hals, Röntgen-Thorax, gegebenenfalls PET-CT) ausgeschlossen werden konnte.

Das Myoepitheliale Karzinom war beim untersuchten Patientengut mit 6,9 % (Anzahl 12 Patienten) deutlich häufiger vertreten als die beschriebene Inzidenz von 0,1 bis 0,45% (Vilar-González S. et al., 2015; Wakasaki T. et al., 2016). Ein Grund dafür könnte sein, dass der Subtyp des Karzinom aus pleomorphen Adenom zwar nach wie vor als eigene Entität geführt wird, es jedoch Bestrebungen gibt diese Tumore anhand des im Adenom entstandenen Subtyps zu klassifizieren, da dieser therapie- und prognoseentscheidend ist (Ettl T.,2015; Lewis JE. et al.,2001; Weiler C. et al.,2010).

Das polymorphe low grade Adenokarzinom kam in 4,6% der untersuchten Patientenfälle vor. Die Inzidenz wird mit etwa 10% der Speicheldrüsenmalignome angegeben (Barnes L. et al., 2005; Verma P. et al., 2014; Hellquist HB. und Skalova A.,2014).

5.2.1.2 Lokalisation, Geschlechts- und Altersverteilung

Die untersuchten Tumore waren zu 70,6% in der Glandula parotidea, zu 15,4 % in den kleinen Speicheldrüsen, zu 13,5 % in der Gl. submandibularis und nur zu 0,4% in der Glandula sublingualis (nur 1 Patientenfall) gelegen. Ein ähnliches Verteilungsmuster gibt die WHO für die Karzinome der Ohrspeicheldrüse (64-80%), der Glandulae minores (9-23%) und der Glandula sublingualis (1%) an. Bei den Tumoren der Glandula submandibularis werden in der Literatur Werte von 7-11 % gefunden (Eveson JW. et al.,2005; Luukkaa H. et al,2005), während im untersuchten Patientengut 13,5% der Fälle lokalisiert waren.

In den kleinen Speicheldrüsen treten bevorzugt das Adenoid - zystische Karzinom und das Mukoepidermoidkarzinom auf. Beide Entitäten zusammen machen 25 von 40 Fällen aus, was einem Prozentsatz von 62,5 % der dort befindlichen Fälle entspricht (14 ACC = 35% und 11 MEC = 27,5%). Weitere 20% der Tumore in den Glandulae minores waren polymorphe low-grade Adenokarzinome (8 Fälle von insgesamt 12). Das häufigste Karzinom der Gl. parotis war das Azinuszellkarzinom mit 17,5 % Anteil an den in dieser Drüse lokalisierten Entitäten. In der Glandula submandibularis handelte es sich bei 31,4% um ein Adenoid-zystisches Karzinom.

Das Speichelgangkarzinom trat bei insgesamt 25 untersuchten Patienten auf. Davon war es in 22 Fällen (88%) in der Gl. parotis gelegen, in nur 2 Fällen in der Gl. submandibularis (8%) und nur einmal in den kleinen Speicheldrüsen (4%).

Abweichend davon zeigt die Literatur Werte für die Lokalisation des Speichelgangkarzinoms von 78% in der Gl. Parotis, 12% in der Gl. submandibularis und 10% in den kleinen Speicheldrüsen (Peel RL. und Seethala RR., 2007).

Plattenepithelkarzinome traten bis auf einen Fall, der in der Glandula submandibularis vorkam, ausschließlich in der Glandula parotis (95,7%) auf.

In der Arbeit von Lewis JE. und Olsen KD., 2005, lagen 80% der Plattenepithelkarzinome in der Gl. parotis und 20% in der Gl. submandibularis (Lewis JE. und Olsen KD., 2005).

133 Frauen und 126 Männer waren in dieser Untersuchung erkrankt. Somit zeigte sich mit 51,4 % eine nur leicht erhöhte Erkrankungsrate bei den Frauen. Dies wird auch in der Literatur beschrieben (Eveson JW. et al., 2005; Tian Z. et al., 2010; Oliveira LR. et al., 2011). Jedoch finden sich auch Studien, in denen das männliche Geschlecht überwiegt (52,3% bei Wang YL. et al., 2012; 57,2% bei Li LJ. et al., 2008). Dabei zeigen sich deutliche tumorspezifische Unterschiede. 87 % der Plattenepithelkarzinome traten bei Männern auf.

Das Adenoid- zystische Karzinom, das Mukoepidermoidkarzinom und das Azinuszellkarzinom traten gehäuft bei Frauen auf, das Adenokarzinom NOS und das polymorphe low-grade Adenokarzinom eher bei Männern. Beim Speichelgangkarzinom waren Frauen und Männer ähnlich oft erkrankt. Dies ist nicht im Einklang zu Di Palma S. et al., 2006, die von einem Überwiegen des männlichen Geschlechts im Verhältnis von 3: 1 ausgehen (Di Palma S. et al., 2006) und zur WHO, die dieses mit 4: 1 angeben (Brandwein-Gensler MS et al., 2005).

Laut WHO liegt das durchschnittliche Alter bei Erkrankung an einem Speicheldrüsenmalignom bei 47 Jahren (Eveson JW. et al., 2005). Beim untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich mit einem durchschnittlichen Erkrankungsalter von 60,4 Jahren eine deutlich höherer Wert. Auch bei anderen Arbeiten lag das mittlere Alter unter diesem Wert. Bei Li LJ. et al. lag es bei 45,2 Jahren, bei Wang YL. et al. bei 54 Jahren und bei Oliveira LR. et al. bei 55,3 Jahren (Li LJ. et al., 2008; Wang YL. et al., 2012; Oliveira LR., 2011). Therkildsen MH. et al. arbeitete mit einem Patientenkollektiv mit einem Durchschnittsalter von 60 Jahren, was dem in dieser Arbeit entspricht (Therkildsen MH. et al., 1998). Das Dänische Krebsregister mit 952 Speicheldrüsenkarzinomen gibt ein Durchschnittsalter von 62 Jahren an (Bjørndal K. et al., 2011). Mit einem Mittelwert von 73,5 Jahren erkrankten Patienten am spätesten an einem Plattenepithelkarzinom. Mit 50,9 Jahren waren die Patienten, die unter einem

Mukoepidermoidkarzinom litten, am jüngsten. Dieser Trend zeigt sich auch in den Angaben der WHO, die das Durchschnittsalter für diese Tumorform mit 45 Jahren angibt (Goode RK. und El-Naggar AK.,2005). Der mittlere Alterswert für das Speichelgangkarzinom lag mit 67,2 Jahren in dieser Studie höher als in den Angaben der WHO, die einen mittleren Alterswert von 50 Jahren angibt (Brandwein- Gensler MS. et al.,2005) und von Jaehne M. et al. mit 62,5 Jahren (Jaehne M.et al.,2005).

5.2.1.3 Grading

Ist der Aussagekraft und der Bedeutung des Gradings ein hoher Stellenwert zu eigen oder nicht? Diese Frage wird in der Literatur unterschiedlich beantwortet. Es gibt aufgrund der großen Vielfalt an strukturellen und zytologischen Differenzierungsformen kein allgemein gültiges Gradingssystem für alle Speicheldrüsentumore (Ettl T.,2009). Anwendung findet zum einen die Klassifikation des Armed Forces Institute of Pathology (AFIP), die den Blickwinkel auf Eigenschaften wie Mitoseaktivität und perineurale Infiltration richtet, zum anderen eine modifizierte Variante nach Brandwein mit zusätzlichen Merkmalen wie Knochen – und lymphovaskulärer Infiltration (Bai S. et al., 2013; Seethala RR., 2009). Das Problem dabei zeigt sich am Beispiel des Mukoepidermoidkarzinoms. Wurde diese Tumorform laut AFIP Klassifikation, die auch durch die WHO Anwendung findet, in niedrig-maligne (G1) eingeteilt, so wurde knapp die Hälfte aller Mukoepidermoidkarzinom bei der nach Brandwein modifizierten Methode als G2 oder G3 eingeteilt (Goode RK. et al.,2005; Ach S.,2014). Einige Entitäten wie z. B. das Speichelgangkarzinom gehen üblicherweise mit hoher Malignität einher, während andere, beispielsweise das polymorphe niedrig-maligne Adenokarzinom, in der Regel als gering maligne zu werten sind. So bezweifelt Seethala RR.,2009, die generelle Notwendigkeit der Tumorgraduierung, da es sowohl high-grade Varianten der ursprünglich niedrig-malignen Neoplasien als auch low-grade Modifikationen von typischerweise hoch-malignen Tumoren gibt (Seethala RR.,2009; Baader K., 2013).

Es lassen sich jedoch auch Arbeitsgruppen finden, die der Aussagekraft und der Vergleichbarkeit der Tumore und deren Prognose aufgrund des Gradings eine Bedeutung zumessen (Schwarz- Furlan S., 2011).

In der Literatur kommt sowohl ein zwei- (low-grade, high-grade) als auch dreigeteiltes Graduierungssystem (low-, intermediate-, high-grade) zur Anwendung (Baader K.,2013).

Das in dieser Arbeit untersuchte Patientengut wurde mit Hilfe eines dreigliedrigen Systems,

modifiziert nach Therkildsen, analysiert (Therkildsen MH. et al., 1998).

33,6 % waren gut (G1), 17,4% mittelmäßig und 49% schlecht (G3) differenziert. Mahmood U. et al. fanden bei 2170 untersuchten Patienten einen Anteil von 51% im G3 Stadium, bei Oliveira LR. et al. lag dieser Wert mit 52,4 % ebenfalls im Bereich des eigenen untersuchten Patientenkollektives (Mahmood U. et al.,2011; Oliveira LR. et al.,2011). Andere vergleichbare Studien zeigen ebenfalls einen Wert zwischen 47-51% (Zbaren P. et al.,2003; Lima RA. et al.,2005).

16% der Azinuszellkarzinome und 17% der Mukoepidermoidkarzinome wurden dem G3 Stadium zugeteilt. Seethala fand für das Azinuszellkarzinom eher einen niedrigen Malignitätsgrad, jedoch häufig Lymphknotenmetastasen (Seethala RR.,2011). Letzteres zeigte sich im vorliegenden Patientenkollektiv jedoch nicht, da 83% dem N0 Status zugeordnet wurden. 71% der Adenoid-zystischen Karzinome fanden sich im G1 Stadium.

64% der Mukoepidermoidkarzinome waren im G1 Stadium, was den in der Literatur angegebenen Werten von über 75% nicht ganz entspricht (Löning T. und Jäkel KT., 2004).

80% der Adenokarzinome NOS wurden dem G3 Stadium zugeordnet. Therkildsen MH. et al. fanden hierzu einen Wert von 51,7% (Therkildsen MH. et al.,1998). Sämtliche Speichelgangkarzinome und auch alle Plattenepithelkarzinome wurden dem G3 Stadium zugeteilt. Alle polymorphen low-grade Adenokarzinome fallen in das G1 Stadium.

5.2.1.4 TNM-Klassifikation

Bei den ausgewerteten Tumoren zeigte sich bei 30,2 % ein Befall der Lymphknoten. Dieser Wert liegt nahe den in ähnlichen Studien ausgewerteten Zahlen. So fanden Pacheco-Ojeda L. et al. in ihrem Patientenkollektiv bei 26% einen positiven Nodalbefund. Zbaren P. et al. gaben einen Wert von 18-28% an (Pacheco-Ojeda L. et al.,2000; Zbaren P. et al.,2003).

Während Patienten mit den Tumorgrößen T1 und T2 lediglich in 23,2% der Fälle Lymphknotenmetastasen aufwiesen, waren es bei den Größen T3 und T4 mit 41,2% nahezu doppelt so viele. Dieser Zusammenhang wird durch Literaturangaben bestätigt (Wang YL. et al.,2012).

Eine deutliche Assoziation gab es auch zwischen Malignitätsgrad und Lymphknotenmetastasierung. Waren bei Grad 1 nur 19,4% und bei Grad 2 nur 23,5% der Tumore mit Lymphknotenbefall vergesellschaftet, so waren es bei Grad 3 77,1%. Dies deckt sich mit Ergebnissen vergleichbarer Studien (Brandwein MS. et al.,2002; Feinstein TM. et

al.,2011).

Mit 68% zeigten Speicheldrüsenkarzinome am häufigsten einen pos. N-Status. Diese frühzeitige Tendenz zur Metastasierung ist bekannt und wird mit 59-80% angegeben (Barnes L. et al.,1994; Seifert G.,1997; Jaehne M. et al.,2005; Piao S. et al.,2012). Hierauf folgt das Adenokarzinom NOS mit 46,7% und das Plattenepithelkarzinom mit 40,9%, während beim Azinuszellkarzinom nur in 8,6 % der Fälle positive Lymphknoten auftraten. Zu Fernmetastasierungen kam es in 11,3% der Fälle, was in etwa der von YU und MA ermittelten Quote (11,1%) entspricht (Yu GY. und Ma DY., 1987). Ähnliche Werte finden sich bei Oliveira LR. et al. mit 9,5% (Oliveira LR. et al.,2011). Den Höchstwert dabei bildete mit 25,8% der Fälle das Adenokarzinom NOS, gefolgt vom Myoepitheliale Karzinom mit 16,7% und dem Adenoid -zystischen Karzinom mit 15,9%. Analog zum Lymphknotenbefall zeigte das Azinuszellkarzinom mit 2,8% die niedrigste Rate an Fernmetastasen.

Betrachtet man die Einteilung in ein Gesamtstadium nach UICC, so befanden sich 69,4% der Azinuszellkarzinome und 66,7% der Mukoepidermoidkarzinom im Stadium I bzw. II. Demgegenüber waren 80% der Speicheldrüsenkarzinome und 77,4% der Adenokarzinome NOS im Stadium III oder IV.

5.2.1.5 Therapie und Residualtumor

Die operative vollständige Entfernung von Speicheldrüsenmalignomen mit ausreichend Sicherheitsabstand und indikationsbezogener zusätzlicher Radiatio gilt als Standardtherapie dieser Erkrankungen (Licitra L. et al.,2003; Schwenzer N. und Ehrenfeld M.,2011).

So wurden im eigenen Patientenkollektiv von 259 Patienten 107 operiert und adjuvant einer Radiatio unterzogen, was einem prozentualen Anteil von 41% entspricht. Demgegenüber wurden 152 Erkrankte nur operiert, was einen Anteil von 59% der untersuchten Patientenfälle darstellt. Der Wert für eine Kombinationstherapie aus Operation und postoperativer Bestrahlung lag bei Oliveira LR. et al. mit 50,8% etwas höher (Oliveira LR. et al.,2011), in anderen Studien gibt es vergleichbare Ergebnisse (Pacheco-Ojeda L. et al.,2000).

Die Notwendigkeit einer Lymphknotenausräumung wird bestimmt durch das Auftreten klinisch und radiologisch verdächtiger Nodi, durch die Tumorgröße sowie dem Malignitätsgrad des Tumors (Medina JE.,1998; Ettl T. et al.,2012b).

Hinsichtlich des Entstehungsorts des Speicheldrüsenmalignoms gehen 35-62% der high-grade Neoplasien der Parotis und 40% der hochmalignen Tumoren der kleinen Speicheldrüsen mit

einem positiven N-Status einher. Dagegen liegt die Rate der Lymphknotenmetastasierung für low-grade Tumoren der großen und kleinen Speicheldrüsen bei lediglich 0-15% (Ettl T. et al., 2012b). Besondere Aufmerksamkeit sollte dem Erscheinungsbild der bei einem Parotis-Malignom möglicherweise auftretenden zervikalen Skip-Metastasen gelten. Diese Metastasierungen erscheinen in Level IV oder V, während sie Level I-III übersprungen haben, so dass diese Level metastasenfrem erscheinen. Somit kann gerade bei Parotiskarzinomen mit schlechter Differenzierung eine Lymphknotenausräumung der Level I bis V indiziert sein (Ettl T. et al., 2012b). Sogenannte okkulte Metastasen treten immerhin bei 12-45% der Speicheldrüsentumore auf. Bei hochmalignen Varianten erhöht sich das Risiko einer okkulten Lymphknotenmetastasierung auf bis zu 50% (Ettl T. et al., 2013). So wurde auch im eigenen Kollektiv bei 75% aller G3-Malignome eine Lymphadenektomie durchgeführt.

Insgesamt wurde bei 181 Patienten des untersuchten Patientenkollektives eine Neck Dissection vorgenommen.

Eine Strahlentherapie erhielten 149 Patienten, davon bekamen 45 Patienten zusätzlich eine Chemotherapie.

Anzustreben ist bei der Operation eine Resektion des Tumors in gesunden Grenzen (R0). Dies wurde auch bei 76,5 % der untersuchten Patienten erreicht. Dies ist ein vergleichsweise hoher und erfreulicher Wert, verglichen mit anderen Studien in denen lediglich zu 48% (Therkildsen MH. et al., 1998) und 28% (McHugh CH. et al., 2012) eine Resektion im Gesunden gelang. Jedoch handelte es sich bei dem Patientengut in der Studie von McHugh CH. et al. zu einem Teil (44,6%) um Patienten, die bereits alio loco voroperiert waren und dann wegen eines Residualtumors zu einer Nachresektion überwiesen wurden und somit vorab als R1/R2 klassifiziert waren (McHugh CH. et al., 2012). Bell RB. et al. erreichen einen R0 Wert von 71 % und liegen damit nahe an dem in dieser Studie erreichten Wert bei vergleichbarem Patientenkollektiv (Bell RB. et al., 2005).

In 17,5% der Fälle lag ein R1-, in 5,9% der Fälle ein R2-Status vor. Therkildsen MH. et al. geben indes Werte von 27,1% für R1 bzw. 10,8% für R2 an (Therkildsen MH. et al., 1998).

Von den Patienten mit positivem Residualbefund waren 81,7% im Tumorstadium III oder IV. Bei diesen ist die Möglichkeit einer radikalen Tumorentfernung oft nicht gegeben, was das Auftreten positiver Resektionsränder in der vorliegenden Untersuchung begründet.

5.2.1.6 Rezidive

In der vorliegenden Arbeit liegt die Rezidivrate bei 25,1%. Dieser Wert liegt im unteren Bereich des in der Literatur angegebene Wertes von 16,7-43% (Lima RA. et al.,2005; Harbo G. et al.,2002; Pohar S. et al.,2005). Andere Literaturangaben divergieren in Abhängigkeit des ausgewerteten Kollektivs zwischen 15-80%, innerhalb von fünf Jahren lokoregionär oder an entfernter Stelle ein Rezidiv zu entwickeln (Gillespie MB. et al., 2012; Baader K.,2013). Je höher der Malignitätsgrad und je fortgeschrittener das Tumorstadium, desto wahrscheinlicher ist das Auftreten eines Rezidivs (Lima RA. et al.,2005). Dies gilt auch für das vorliegende Patientenkollektiv. 69,4% der Tumore mit nachfolgendem Rezidiv befanden sich im Tumorstadium III oder IV, während nur 30,6% im Stadium I oder II waren.

Betrachtet man die einzelnen Tumorentitäten, so zeigen sich Rezidivraten von 34,9% beim Adenoid-zystischen Karzinom, von 16,2% beim Mukoepidermoidkarzinom, von 32 % beim Adenokarzinom NOS, von 33% beim Plattenepithelkarzinom und von 25% beim Speicheldrüsenkarzinom. Die ermittelten Werte liegen im Bereich der in der Literatur angegebenen Zahlen (El-Naggar AK. und Huvos AG.,2005; Peel RL. und Seethala RR., 2007; Brandwein-Gensler MS. et al., 2005; Lewis JE. und Olsen KD., 2005). Ein Entitätenspezifisches höheres Risiko an einem Rezidiv zu erkranken lässt sich im untersuchten Patientengut nicht feststellen. Das gleiche gilt für Erkrankungsalter, Grading und Lymphknotenstatus.

5.2.2 Deskriptive Analyse: Immunhistochemische Parameter

5.2.2.1 FHIT

Das Protein FHIT gehört zur Gruppe der Tumorsuppressorgene. Diese übernehmen bei der Tumorbildung eine hemmende Rolle. Sie gelten als Gegenspieler zu den Onkogenen, durch deren Mutation oder Deregulation die Tumorprogression direkt gefördert wird.

Mehrere Arbeiten zeigten, dass ein Verlust der FHIT Expression zu vermehrtem Zellwachstum führen kann. So konnten Weiske J. et al. zeigen, dass bei ca. 60% der untersuchten, an einem Leberkarzinom erkrankten, Tumorpatienten das Tumorsuppressorgen FHIT gestört ist (Weiske J. et al.,2007). Molekulare Analysen haben einen Verlust der Heterozygotie am Chromosom 3p bei 90%-100% der kleinzelligen Lungenkarzinome und bei 50%-80% der nichtkleinzelligen

Lungenkarzinome gezeigt (Wistuba II et al.,2000; Wistuba II et al.,2001). Mindestens 3 Regionen mit diesen Mutationen wurden beschrieben: 3p25, 3p21.3 und 3p14. Das „fragile histidine triad“ (FHIT) gene wird auf dieser Region 3p14.2 kodiert und enthält die Erbinformation für ein gleichnamiges Protein, das wiederum Catenin, ein für den Zellaufbau zentrales Molekül steuert. Die Veränderung des Gens hemmt die Herstellung einer Vielzahl von Proteinen, was zu einem unkontrollierten Zellwachstum führen kann. So scheint doch der FHIT-Substrat-Komplex als Signalmolekül an der Regulation der p53 unabhängigen Apoptose 4 und der Zell Zyklus-Kontrolle beteiligt zu sein (Sard et al.,1999; Atamna NK.,2006). Durch die Wiederherstellung der FHIT-Expression kann eine Apoptoseinduktion und eine Hemmung der Tumorentstehung in Lungenkarzinomzelllinien in vitro (Roz L. et al.,2002) und in vivo (Ji L. et al.,1999) induziert werden. Innerhalb nicht-kleinzelliger Lungenkarzinomen zeigten immunhistochemische Untersuchungen der FHIT-Expression häufiger einen Verlust der Heterozygotie in Plattenepithelkarzinomen als in Adenokarzinomen. Dabei korrelierte ein Verlust der Heterozygotie mit einer höheren Proliferationsrate der Tumorzellen, einem niedrigeren Apoptoseindex und einem signifikant verkürzten Überleben der Patienten (Toledo G. et al.,2004). In einer Studie entwickelten 53% Prozent der Labormäuse mit einem homozygoten Verlust von FHIT (-/-) innerhalb von 2 Jahren spontane Tumoren. In der Kontrollgruppe, die das „wild-type“ FHIT exprimierten, belief sich die spontane Tumorentstehungsrate auf 8% (Zanesi N. et al.,2001; Atamna NK.,2006). Weitere Beweise für die Rolle von FHIT als Tumorsuppressoren basieren auf Gentransferexperimenten. In Lungenkarzinomzelllinien, die einen Verlust des FHIT-Gens aufwiesen, wurde mit einem Vektor (Adenovirus) das „wild-type“ FHIT-Gen transfiziert (Ad-FHIT). Das Wachstum der Karzinomzelllinie wurde signifikant bis zu 80% reduziert, wobei das normale, menschliche Bronchialepithel unbeeinflusst blieb (Ji L. et al.,1999). Das Wachstum von Lungenkarzinomen wurde in Nacktmäusen um 85-90% im Vergleich zur Kontrollgruppen reduziert, indem man intratumorale Injektionen von Ad-FHIT durchführte. FHIT hemmt das Zellwachstum durch einem G0-G1 Arrest und Apoptoseinduktion. FHIT ist der physiologische Angriffspunkt der Proteinkinase Src (Pekarsky Y. et al.,2004). Weiterhin ist eine p53-unabhängige Induktion der Apoptose durch Freisetzung des Cytochrom c Proteins durch FHIT beschrieben worden (Askari MR. und Vo-Dinh T.,2004). Das FHIT-Protein ist eine Diadenosine-tetraphosphat Hydrolase; es hydrolisiert Diadenosinnukleotide in ADP und AMP. Alle Histidingruppen des FHIT-Proteins werden für die volle Aktivität benötigt und die zentrale Histidingruppe der Triade ist essenziell für die Hydrolaseaktivität (Barnes LD et al.,1996). Überraschenderweise konnte eine

FHIT-Mutante, die keine Hydrolaseaktivität mehr besaß, die Tumorentstehung in Zelllinien und Nacktmäusen weiterhin unterdrücken (Siprashvili Z. et al.,1997). Wegen dieser Ergebnisse wird vermutet, dass FHIT an einen weiteren unbekanntem Effektor bindet, oder mit einem Protein interagiert und so einen Komplex bildet, der als Tumor-Suppressormolekül wirkt und Apoptose (Pekarsky Y et al.,2004; Sard L. et al.,1999), Zytoskelettzusammensetzung (Chaudhuri AR. et al.,1999) und Reparaturmechanismen (Andachi H. et al.,2002) beeinflussen kann (Atamna NK.,2006). Im Labor ist es den Forschern gelungen, durch Einbringen eines gesunden FHIT-Gens in Krebszellen die Produktion dieser Proteine zu hemmen und das für Tumorzellen typische unkontrollierte Wachstum zu verringern (Weiske J. et al.,2007). In einer anderen Studie entwickelten 53% der Labormäuse mit einem homozygoten Verlust von FHIT innerhalb von 2 Jahren spontane Neoplasien, während die Kontrollgruppe, die FHIT exprimierte, nur in 8% der Fälle Tumore entwickelten (Zanesi N. et al.,2001; Atamna NK.,2006). In Gentransferexperimenten konnte bei Lungenkarzinomzelllinien, die einen Verlust des FHIT-Gens aufwiesen, gezeigt werden, dass durch Transfizierung des FHIT-Gens mittels eines Vektors, die Proliferation der Karzinomzelllinien signifikant bis zu 80% reduziert wurde, ohne das normale Bronchialepithel zu beeinflussen (Ji L. et al.,1999; Atamna NK.,2006). Durch exogene Stimulation einer FHIT-Expimierung konnte die Apoptose stimuliert werden (Deng WG. et al.,2007). Zudem nimmt man an, dass FHIT im Zellzyklus durch Hemmung von Inhibitoren eine Stabilisierung des p53-Proteins, welches als wichtigster Wächter (Wächtergenom) gegenüber unkontrolliertem Wachstum gilt, bewirkt (Nishizaki M. et al.,2004).

Beim Mammakarzinom scheint FHIT eine hemmende Funktion auf die Entstehung HER2-positiver Tumoren und deren Stimulation u.a. über pMAPK zu besitzen (Ettl T.,2015). Mammakarzinome ähneln architektonisch manchen Speicheldrüsenkarzinomen. Besonders das Speicheldrüsenkarzinom zeichnet sich wie das Mammakarzinom durch eine häufig auftretende Überexpression bzw. Amplifikation von HER2 aus. Daneben präsentieren diese Tumore häufig eine erhöhte Androgenrezeptorexpression (Williams L. et al.,2015; Ettl T. et al.,2012c; Williams MD et al.,2010). 68,2% der in dieser Arbeit untersuchten Speicheldrüsenkarzinome imponierten durch eine schwache bis fehlende Expression von FHIT (FHIT negativ). Übertroffen wurde dieser Wert von 75% bei den polymorphen niedriggradigen Adenokarzinomen und 100 % bei den Plattenepithelkarzinomen. Eine starke FHIT-Expression (FHIT positiv) wurde bei 68,8% der Mukoepidermoidkarzinome und bei 72,7% der Azinuszellkarzinome festgestellt. Letztere gelten als niedrigmaligne Tumoren mit guter Langzeitprognose (Ettl T.,2012d).

Hinsichtlich des Malignitätsgrades konnte mit steigender Malignität ein zunehmender Verlust der FHIT-Expression festgestellt werden. Tumore mit Malignitätsgrad I und II hatten zu 54,5% eine hohe FHIT Expression, während Tumore mit Grad 3 nur in 38,9% FHIT-positiv waren. Zudem zeigte sich auch, dass 53% der Tumore im T-Stadium T1 und T2 eine starke FHIT Expression zeigten, wohingegen Tumore im T-Stadium III und IV nur in 37,2% FHIT-positiv waren. Auch in Bezug auf das Gesamtstadium zeigte sich in Stadium I und II bei 56,3% eine starke FHIT-Expression, in Stadium III und IV nur noch zu 39,2%.

Diese Daten zeigen, dass die FHIT-Expression mit zunehmender Malignität und fortgeschrittenem Tumorstadium verloren geht. Bezüglich des Alters, des N-Stadiums und des Auftretens eines Residualtumors kann aufgrund der in dieser Arbeit erhobenen Daten keine Signifikanz erkannt werden. Jedoch kann ein Zusammenhang hinsichtlich des Geschlechts und der FHIT-Expression gesehen werden. So war bei weiblichen Tumorpatienten die FHIT-Überexpression mit 56,8% deutlich höher als beim männlichen Geschlecht mit nur 35,5%.

5.2.2.2 p27

Das Protein p27, ein Cyclin-abhängiger Kinase Inhibitor (CKI), hemmt die Aktivierung der Zellteilung, nimmt Einfluss auf die Zellmigration und die Apoptose (Hengst L. und Dohmesen C.,2009; Toyoshima H. und Hunter T.,1994). p27 blockiert den Zellzyklus an der G1 / S-Phase und wird verstärkt in Zellen der G0- und G1-Phase gebildet. p27 reguliert die Progression von der G1- in die S-Phase des Zellzyklus durch Inhibieren der Cyclin-D- oder -E-abhängigen Kinaseaktivität (Polyak K. et al.,1994). Eine Mutation und / oder funktionelle Inaktivierung des p27-Gens ist in menschlichen Tumoren nicht bekannt und die Verringerung der Menge an p27-Protein scheint auf einen erhöhten p27-Abbau durch einen Proteasomweg zurückzuführen sein (Pagano M. et al.,1995). Eine verstärkte p27-Expression wird durch Zell-Zell-Kontakt und spezifische Wachstumsfaktoren induziert, wie z. B. transforming growth factor β (Polyak K. et al.,1994; Polyak K. et al.,1994) und cyclisches AMP (Hengst L. et al.,1996). Der prognostische Wert der p27-Expression wurde bereits bei verschiedenen menschlichen Tumoren beschrieben (Lloyd RV. et al.,1999). Die niedrige p27-Expression war z. B. mit einer ungünstigen Prognose für Plattenepithelkarzinome der Zunge assoziiert (Mineta H. et al.,1999).

Fuse T. et al. haben gezeigt, dass die Unterdrückung von p27-mRNA auch bei der Reduktion von p27-Protein unter Verwendung humaner Tumorzelllinien eine Rolle spielt (Fuse T et al.,2000). Möglicherweise kann der Mechanismus der p27- Hochregulierung durch Zell-Zell-

Kontakte bei Tumoren beeinträchtigt sein. Taraikji N. et al. zeigten Veränderungen der immunhistochemischen Expression von p27 im normalen Speicheldrüsengewebe eines pleomorphen Adenoms als auch in den Tumorzellen des pleomorphen Adenoms selbst (Taraikji B. et al.,2015). Shavsavari F. et al. untersuchten die p27- Expression in pleomorphen Adenomen und in Adenoid-zystischen Karzinomen (ACC) von kleinen Speicheldrüsen, um ihre Nützlichkeit für Differenzierungszwecke zu bewerten und kamen zu der Schlussfolgerung, dass eine reduzierte Expression von p27 mit der Entwicklung von ACCs korreliert und einen Indikator für bösartiges Verhalten darstellen kann (Shavsavari F. et al.,2005).

CKIs werden häufig in ACCs methyliert (Daa T. et al.,2008). CKIs fungieren als Zellzyklusregulatoren und Tumorsuppressoren in verschiedenen Tumorarten. Die Hypermethylierung von p27 kann zu dessen Deregulierung führen und somit zur Unterbrechung des Zellzyklus bei der ACC-Tumorentstehung beitragen (Daa T.,2008). Liu J. et al. erstellte Mikroarrays, die ACC mit normalem Speichelgewebe vergleichen. Diese zeigen eine Hypermethylierung bei bis zu 32 CpG-Inseln. Diese Inseln waren mit Genen assoziiert, die an Entwicklungs-, Apoptose- und anderen grundlegenden zellulären Pfaden beteiligt sind. Insbesondere das Gen für die Homöobox 1 (EN1) korreliert mit dem histologischen Tumorgrad und der Überlebensrate des Patienten und könnte ein potentieller Biomarker sein (Liu J. et al.,2012).

In dieser Arbeit konnte eine deutliche Signifikanz bei der Expression von p27 hinsichtlich des Tumortyps und des Grading festgestellt werden. 70,2% aller Tumore zeigten eine positive p27 Färbung im Gegensatz 91,7% beim Speicheldrüsenkontrollgewebe. Bezüglich der p27-Expression bei den Malignomen wichen das Plattenepithelkarzinom mit 50% positiver p27 Färbung und das duktales Speicheldrüsenkarzinom mit 47,6% positiver Färbung signifikant ab, während bei den weiteren untersuchten Tumorarten die Abweichung vom Gesamtwert maximal 7 % betrug. Diese beiden aggressiven Tumortypen zeigen also eine p27 Minderexpression. Auch beim Grading zeigte sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich positiver und negativer p27 Färbung. 81,7% der Tumore im G1+G2 Stadium waren p27 positiv, während nur 59,5 % der Malignome im G3 Stadium p27 positiv waren. Betrachtet man das Erkrankungsalter der Patienten so waren 62,8% der unter 70-jährigen und 62,8 % der ≥ 70 -jährigen p27 positiv. Beim Lymphknotenbefall waren 74,6% im N0 Status und 63,8% im N1-N3 Status der p27 positiven Gruppe zugeordnet. Diese Ergebnisse zeigen, dass ein Verlust der p27-Expression mit einer höheren Malignität, Aggressivität und Metastasierungstendenz der Tumore einhergeht.

5.2.3 Überleben und Prognose: Klinisch-pathologische Parameter

5.2.3.1 Histologischer Subtyp

Das tumorspezifische Überleben im untersuchten Gesamtkollektiv für 5 Jahre (5-J-TSÜ) betrug 74,1% und für 10 Jahre (10-J-TSÜ) 67,6%.

Zu einer etwas höheren Rate kam bei einem vergleichbaren Patientenkollektiv Oliveira LR. et al. mit 85% 5-J-TSÜ und 75% 10-J-TSÜ (Oliveira LR. et al., 2011). Jedoch ist ein Vergleich verschiedener Studien aufgrund der unterschiedlichen klinischen Verlaufsformen der einzelnen Entitäten schwierig (Ettl T. et al., 2012b).

Die schlechteste Überlebensprognose hatte das Speichelgangkarzinom mit einer 5-J-TSÜ von 55%. Die hohe Mortalitätsrate der Patienten mit Speichelgangkarzinomen von ca. 66% innerhalb von 4 Jahren ist durch die Neigung zur frühen Fernmetastasierung in Lunge und Knochen begründet (Peel RL. und Seethala RR., 2007).

Die zweitschlechteste Überlebensrate zeigte das Adenokarzinom NOS mit 57 % .

In der Literatur finden sich für das Plattenepithelkarzinom hinsichtlich 5-J-TSÜ Angaben von etwa 25-30% (Lewis JE. und Olsen KD., 2005). Die vorliegende Arbeit ermittelte für diese Tumoren eine vergleichsweise positive Überlebensrate von 61%.

Die beste Prognose hatten Patienten mit einem Azinuszellkarzinom. 96% der Erkrankten überlebten die ersten 5 Jahre und 88 % die ersten 10 Jahre. Bei Lin WN. et al. lag der Wert für die 10-J-TSÜ ebenfalls bei 88% (Lin WN. et al., 2010).

Ebenfalls sehr gute 5-Jahres-Überlebensraten haben Patienten mit einem polymorphen niedrig-malignen Adenokarzinom (86%). Jedoch ist das Auftreten eines Rezidives nach vielen Jahren möglich, weshalb die Patienten lebenslang nachuntersucht werden sollten (Krishnamurthy A. et al., 2011). So wird für diese Tumoren ein krankheitsfreies Intervall von durchschnittlich 12,8 Jahren beschrieben (Seethala RR. et al., 2010).

Das 5-J-TSÜ und die 10-J-TSÜ des Mukoepidermoidkarzinoms lag jeweils bei 76%.

Das 5-J-TSÜ des Adenoid-zystischen Karzinoms wird mit 62,4-88,2% (Lang S. et al., 2005) angegeben. Im vorliegenden Kollektiv lagen diese Überlebensraten nach fünf Jahren bei 83% bzw. nach 10 Jahren bei 69%, was das besondere Risiko des Adenoid-zystischen Karzinoms, selbst noch nach vielen Jahren Rezidive oder Fernmetastasen zu entwickeln, verdeutlicht.

Ein konstanter Wert für die 5-J-TSÜ bzw. 10-J-TSÜ von 69% ergab sich für das Myoepitheliale Karzinom, was eher einer schlechteren Prognose entspricht.

5.2.3.2 Tumorlokalisation, Geschlecht und Alter

Inwieweit die Tumorlokalisation eine Rolle für die Überlebenswahrscheinlichkeit spielt wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Mit 86,2 % 5-J-TSÜ hatten die Tumore der kleinen Speicheldrüsen die beste Prognose, gefolgt von denen der Glandula submandibularis (75,2%) und denen der Glandula parotis (70,8%). Therkildsen MH. et al. kamen ebenfalls zu Ergebnissen, die den kleinen Speicheldrüsen die beste Prognose zukommen ließen (Therkildsen MH. et al.,1998). Ältere Untersuchungen sahen eher für Tumore der Glandula parotis bessere Prognosen als für die der Glandula submandibularis und die der kleinen Speicheldrüsen (Spiro RH. et al.,1973; Nascimento AG. et al.,1986). Möglicherweise ist bei den Tumoren der kleinen Speicheldrüsen und der Gl. submandibularis eine Tumorresektion in klaren Grenzen einfacher zu erreichen als bei den Tumoren der Gl. parotis, wo die Nähe zum N. facialis in manchen Situationen einer Resektion mit entsprechend großem Sicherheitsabstand entgegen steht (Wahlberg P. et al.,2002; Kokemüller H., 2003). Die Ergebnisse dieser Studie zeigen keine signifikanten Unterschiede der Überlebensprognose hinsichtlich des Geschlechts der betroffenen Patienten. In der Literatur lassen sich unterschiedliche Angaben finden. Während einerseits Studien zu finden sind, die keine signifikante Einflüsse auf die Überlebensprognose zeigen (Therkildsen MH. et al.,1998; Oliveira LR. et al.,2011) gibt es andererseits auch einzelne, die Hinweise auf eine schlechtere Prognose für Männer zeigen (Sultan I. et al., 2011; McHugh CH. et al., 2012; Wang YL. et al., 2012).

Patienten unter 70 Jahre bei Diagnosestellung hatten mit einer 5 -Jahres- TSÜ von 83,9 % eine deutlich bessere Prognose als Patienten die älter als 70 Jahre waren. Deren 5 -J-TSÜ lag bei 55,2%. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Luukkaa H. et al.. Ein Grund könnte sein, dass hochmaligne Tumorformen bevorzugt im höheren Lebensalter auftreten (Luukkaa H. et al.,2005; Spiro RH. et al.,1989).

Lang S. et al. wiederum bewerteten die Punkte Lokalisation, Geschlecht und hohes Alter als nicht ausschlaggebend für die Überlebensprognose (Lang S. et al.2005).

5.2.3.3 Grading

Im eigenen Kollektiv hatten Patienten mit gut (G1) und mittelmäßig (G2) differenzierten Tumoren eine 5-J-TSÜ von 92 % und eine 10-J-TSÜ von 89%, während an G3 Erkrankte lediglich eine 5-J.-TSÜ von 55 % und eine 10 J.-TSÜ von 44 % hatten. Zu ähnlichen Werten

kam auch Seethala RR. (Seethala RR.,2009). Der Einfluss des Malignitätsgrades auf die Überlebensprognose wurde auch in anderen Arbeiten nachgewiesen (Nagao T.,2013; McHugh CH. et al.,2012).

In der vorliegenden Arbeit konnte der Malignitätsgrad als signifikanter unabhängiger Prognosefaktor für das Überleben gefunden werden.

Seethala RR. stellte ferner fest, dass die Beurteilung des Malignitätsgrades einerseits als unabhängiger Prognoseindikator dienen kann, andererseits aber auch mit anderen Variablen wie Tumorgöße oder Nodalstatus korreliert, was in dieser Arbeit ebenso zutrif (Seethala RR., 2009).

5.2.3.4 TNM-Klassifikation

Die Größe und Ausdehnung des Tumors, der Lymphknotenstatus und das Tumorgesamtstadium sind als aussagekräftigste und wichtigste Prognoseindikatoren bekannt (Spiro RH. und Huvos AG.,1992; Therkildsen MH. et al.,1998; Luukkaa H. et al.,2005). Therkildsen MH. et al. legten dabei eine stärkere Gewichtung auf das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen als auf die Tumorgöße (Therkildsen MH. et al.,1998).

Mariano FV. et al. berichteten über ein 5-J-TSÜ von 77,6% für kleinere Malignome und 46,0% für T3- und T4-Tumore (Mariano FV. et al.,2011). In der vorliegenden Arbeit lag die beste Prognose für Tumore im Stadium T1 mit einer 5-J-TSÜ von 89%. Diese sank im Stadium T2 auf 80%, im Stadium T3 auf 57,4% und im Stadium T4 auf 51 %. Zu ähnlichen Werten kamen Therkildsen MH. et al. (Therkildsen MH. et al.,1998). Auch bei Betrachtung des Nodalstatus zeigte sich bei N2 Befall eine deutlich schlechtere 5-J-TSÜ von 28,6 % im Vergleich zu 75,1% bei N1-Befall. Erwartungsgemäß hatten die Patienten mit N0 Status die beste Prognose mit 83,9% 5-J-TSÜ. Auch Bai S. et al. und Okabe M. et al. beschrieben signifikante Zusammenhänge zwischen Lymphknotenmetastasen und einer geringeren Überlebensrate (Bai S. et al.,2013; Okabe M. et al.,2001).

Patienten ohne Fernmetastasen und somit Status M0 hatten mit 81,8 % 5-J-TSÜ eine deutlich bessere Prognose als Patienten mit Status M1, die auf eine 5-J-TSÜ von lediglich 24,8 % kamen. Fortgeschrittene Gesamtstadien III und IV zeigten mit einer 5-J-TSÜ von 74,1% bzw. 48,1% signifikant schlechtere Überlebensprognosen als Malignome der Stadien I und II mit 91% bzw. 90,6%. Besonders Tumore im Stadium IV hatten in dieser Untersuchung eine sehr schlechte Prognose.

5.2.3.5 Resektionsstatus

Auch im vorliegenden Patientenkollektiv zeigte sich die Wichtigkeit einer vollständigen Tumorentfernung. Musste nach OP ein makroskopisch sichtbarer Resttumor belassen werden (R2), so hatten die Patienten eine 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von nur 7,4%. Demgegenüber hatte die Gruppe mit Resektionsstatus R0, also vollständiger Malignomentfernung im Gesunden, eine signifikant bessere Überlebenswahrscheinlichkeit von 81,9%. Eine 5-J-TSÜ von 62,5 % hatten Patienten mit R1 Resektionsstatus.

Diese signifikante Relevanz der Entfernung des Tumors im gesunden Gewebe wird auch in der Literatur beschrieben (Pacheco-Ojeda L. et al.,2000; Therkildsen MH. et al,1998; Wittekind C. et al.,2002; Roh JL. et al.,2008).

5.2.3.6 Rezidive

Die Neigung der Speicheldrüsentumoren zu rezidivieren hängt u.a. vom Differenzierungsgrad, vom Resektionsstatus und vom Nodalstatus ab. Je geringer der Grad der Differenzierung und höher der R- bzw. N-Status, desto höher ist das Risiko an einem Rezidiv zu erkranken und desto schlechter die Überlebensprognose (Nagao T., 2013; Teo PML. et al.,2000). Gillespie MB. et al. fand eine 5-J- TSÜ von 35%. Im eigenen Patientenkollektiv lag die 5-J-TSÜ Rate mit 48,9 % etwas höher (Gillespie MB. et al.,2012).

Eine signifikant höhere 5- Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 89 % hatten Patienten ohne Rezidiv. Die 10-J-TSÜ sank bei Patienten mit Rezidiv auf 40,8%, bei denen ohne Rezidivbildung lag sie bei 85,2%.

5.2.4 Überleben und Prognose: Immunhistochemische Parameter

5.2.4.1 FHIT

Die prognostische Relevanz der FHIT Expression bei Tumoren ist bekannt. Zhang Y. et al. konnten zeigen, dass der FHIT-Expressionsverlust und die Hypermethylierung des FHIT-Gens signifikant mit dem Risiko von Leberkrebs assoziiert sind, vor allem in der chinesischen Bevölkerung (Zhang Y. et al.,2017). Darüber hinaus zeigten deren Ergebnisse signifikante Zusammenhänge zwischen verringerter FHIT- Expression, TNM-Stadium und Tumor-Größe. Ginestieri C. et al. zeigten die Bedeutung des FHIT-Tumorsuppressorgens bei Brustkrebs (Ginestieri C. et al.,2003). Die Abwesenheit von FHIT war signifikant mit einer schlechteren Überlebensprognose verbunden. FHIT-Veränderungen spielen auch eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von Tumoren der Mundschleimhaut (Kujan O. et al.,2006a).

Atamna NK. untersuchte die FHIT-Expression bei Lungenzellkarzinomen. Eine Expression von FHIT wurde in 61,8% der kleinzelligen Lungenkarzinome gefunden. Ein Fehlen des FHIT-Proteins war mit einer signifikant verkürzten Überlebenszeit der Patienten assoziiert, deren medianes Überleben bei 5,2 Monaten lag, im Vergleich zu 7 Monaten bei Patienten mit FHIT-positiven Tumoren. Patienten mit einem Anteil FHIT-positiver Zellen < 25% hatten mit 5,2 Monaten das schlechteste Überleben verglichen mit Patienten, die einen Anteil FHIT-positiver Zellen >25% aufwiesen, deren Überleben 7,2 Monate betrug (Atamna NK.,2006). Auf den ersten Blick erscheint die Überlebensdifferenz von 2 Monaten zwischen der FHIT-positiven und der FHIT- negativen Patientengruppe relativ gering. Dabei ist aber zu beachten, dass die mittlere Überlebenszeit von Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen lediglich 6,5 Monate beträgt (Atamna NK., 2006).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung von FHIT an einem großen Kollektiv maligner Speicheldrüsentumore untersucht. Auch hier bestätigten sich die oben genannten Zusammenhänge. So betrug die 5- Jahre-Überlebensrate bei positivem FHIT- Status 81,8%, während sie bei negativem FHIT -Status bei 68,4% lag. Die 10- J-TSÜ war bei FHIT-positiven Tumoren bei 78,1% und bei FHIT-negativen bei nur 55,7%.

Eine verminderte FHIT-Expression ist somit ein wichtiger prognostischer Marker. So können bei Veränderungen der Mundschleimhaut die verdächtigen Zellen mittels Bürstenbiopsie entnommen und auf FHIT- Expression untersucht werden (Kujan O. et al.,2006b).

Durch Wiederherstellung der FHIT-Expression in Zelllinien von Mäusen konnte eine

Hemmung des Tumorwachstums gezeigt werden (Dumon KR. et al.,2001; Ishii H. et al.,2004; Pichiorri F. et al.,2006). Inwieweit dies auch bei menschlichen Zellen anwendbar ist, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

5.2.4.2 p27

In gesunden proliferierenden Zellen wird p27/CDKN1B phosphoryliert und anschließend nach der Markierung mit Ubiquitinen im Proteasom abgebaut (Montagnoli A. et al., 1999). Erst durch spezifische Signale, beispielsweise Kontaktinhibition, wird p27/CDKN1B stabilisiert (Yanagisawa K. et al., 1999). Die Folge ist eine Inhibition der Zellzyklusprogression, die unter anderem über die Bindung von p27/CDKN1B an CDK2 vermittelt wird. Deshalb ist in proliferierenden unbehandelten Tumorzellen nur wenig p27/CDKN1B nachweisbar (Krattenmacher A.,2015). Die reduzierte Expression des cyclin abhängigen Kinase Inhibitors p27 korreliert nach Untersuchungen von Takata T. et al. mit einer schlechteren Überlebensprognose bei Patienten mit gutartigen und bösartigen Speicheldrüsentumoren. Darüber hinaus waren die Expressionsniveaus bei Tumoren mit Metastasen signifikant niedriger als bei solchen ohne Metastasen (Takata T. et al.1999). So wurde beim Subtyp des pleomorphen Adenoms, welches der Gruppe der gutartigen Tumore zugeteilt wird, eine hohe p27 Expression gefunden (Malgaonkar NI. et al.,2016; Shavasavari F. et al.,2005). Gao L. et al. erwähnt, dass eine niedrige p27-Expression eine schlechte Prognose bei Patienten mit oralem Plattenepithelkarzinom aufweist (Gao L. et al.,2013). Insgesamt reihen sich diese Ergebnisse in eine wachsende Anzahl von Beobachtungen ein, die eine wichtige Rolle des Ubiquitin-Proteasom-Systems in der Aufrechterhaltung des malignen Phänotyps von Tumorzellen und eine Eignung dieses Systems für therapeutische Intervention belegen. Mehrere Studien, mit verschiedenen nicht selektiven Inhibitoren für deubiquitinierende Enzyme, wiesen bereits auf erste Erfolge in der Tumorthherapie (Pal A. et al., 2014) hin. Bei dem in dieser Arbeit untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich bei negativer p27- Expression eine deutlich schlechtere 5 -J-TSÜ mit 61,1% und 10- J-TSÜ mit 56,8% als bei positiver p27- Expression. Hier lag die 5 -J-TSÜ bei 78,9% und die 10-J-TSÜ bei 72%. Die Expression von p27 kann somit ein Indikator für die Aggressivität und Bösartigkeit eines Tumors und somit für die Überlebensprognose sein. Diese Studie kann ein weiterer Baustein für die Etablierung einer Korrelation zwischen p27-Expression und der Prognose von Speicheldrüsen-Tumoren sein, die die Behandlung in den kommenden Jahren beeinflussen könnte. Die Erforschung der

pathophysiologischen Grundlagen der Tumorentstehung ist entscheidend für die Entwicklung neuer Therapieansätze. Ein mögliches therapeutisches Ziel bei Tumorpatienten könnte die Hemmung des p27- Abbaus mittels Antikörpertherapie sein.

5.2.4.3 Multivariate Überlebensanalyse

In der Literatur ist oftmals ein hoher Malignitätsgrad des Tumors der wichtigste eigenständigste Prognosefaktor (Mc Hugh CH. et al.,2012; Pacheco-Ojeda L. et al.,2000; Therkildsen MH. et al.,1998, Ach S.,2014). Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstreichen diese Aussage. Ein hoher Malignitätsgrad (G3 und G4) erwiesen sich als der schlechteste unabhängige Prognosefaktor. Die betroffenen Patienten hatten ein ca. 4,6fach höheres Risiko an ihrer Erkrankung zu versterben als Patienten im Stadium G1 oder G2. Auch ein positiver Lymphknotenbefall senkt die Überlebensprognose der in dieser Studie untersuchten Patienten. In den Arbeiten von Therkildsen MH. et al. und McHugh CH. et al. war ein positiver Nodalstatus ebenso als signifikanter Faktor bezüglich der Überlebensprognose einzustufen (Therkildsen MH. et al.,1998; McHugh CH. et al.,2012). Patienten mit belassenem Residualtumor nach OP schnitten erwartungsgemäß schlechter ab als Patienten mit vollständigem Resektionsstatus R0. Auch das Alter bei Erstbefund des Tumors und die Tumorgöße hatten Einfluss auf die Überlebensprognose. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Luukkaa et al. und Pacheco- Ojeda L. et al. (Luukkaa H. et al.,2005; Pacheco -Ojeda L.et al.,2000).

Keine Signifikanz in der multivariaten Überlebensanalyse zeigte die Auswertung der Expression des Tumorsuppressorgens FHIT und des Wachstumsfaktor p27.

6 Zusammenfassung und Fazit

Die vorliegende Studie nahm sich zum Ziel, die genetischen Expressionsmuster des Tumorsuppressorgens FHIT und des Wachstumsfaktors p27 bei malignen Speicheldrüsentumoren darzustellen und mögliche Zusammenhänge mit klinisch-pathologischen Parametern und dem Langzeitüberleben innerhalb eines repräsentativen Patientenkollektivs aufzuzeigen. Hierzu wurden retrospektiv Daten von 259 Patienten mit primären Speicheldrüsenkarzinomen ausgewertet. Den aktuellen Vorgaben der WHO und der TNM- Klassifikation der UICC entsprechend wurden die verschiedenen Entitäten eingeteilt. Der Malignitätsgrad wurde mittels eines dreigeteilten Systems (Therkildsen MH. et al.,1998) ermittelt. Mit Hilfe von Tissue Microarrays wurde der Genstatus von FHIT und p27 erstellt.

Die erhobenen Daten wurden uni-als auch multivariat statistisch ausgewertet.

Hierbei ergaben sich signifikante Zusammenhänge unterschiedlicher Faktoren. Bezüglich der Prognose zeigten die klinisch- pathologischen Parameter Tumorentität ($p < 0,08$), Malignitätsgrad ($p < 0,001$), TNM-Status ($p < 0,001$), Tumorstadium ($p < 0,001$), Residualtumor ($p < 0,001$) und Rezidiv ($p < 0,001$) Signifikanzen. Bei Betrachtung der multivariaten Überlebensanalyse erwiesen sich Alter ($p < 0,003$), Grading ($p < 0,001$), T-Status ($p < 0,045$), N-Status ($p < 0,001$) und Residualtumor ($p < 0,001$) als signifikante Prognoseindikatoren.

Signifikante Unterschiede in der FHIT Expression konnten beim Malignitätsgrad ($p = 0,02$), beim T-Status ($p = 0,019$), beim Gesamtstadium ($p = 0,011$) und beim Geschlecht ($p = 0,001$) festgestellt werden, während Alter, N-Stadium und Residualtumor keine statistisch relevanten Signifikanzen zeigten.

Bei der p27-Expression waren die Parameter Tumortyp ($p \leq 0,002$), Grading ($p = 0,001$), und Alter ($p = 0,035$) signifikant, während dies auf T-Stadium, Gesamtstadium, Residualtumor, Rezidiv und Geschlecht nicht zutraf.

Im Überblick der Ergebnisse zeigt sich, dass eine verminderte Expression des Tumorsuppressorgens FHIT als auch des Wachstumsfaktors p27 insbesondere bei hochmalignen Speicheldrüsenkarzinomen auftritt und die Prognose des Patienten mit beeinflussen. Die Bedeutung der Arbeit liegt in dem Einsatz der beiden Proteine als Biomarker zur Einschätzung der individuellen Prognose der Patienten, um die Therapie entsprechend des Patientenprofils zu stratifizieren. Inwieweit die beiden untersuchten Gene eine Bedeutung für innovative Therapiekonzepte mittels zielgerichteter Antikörpertherapien haben könnten, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Die weitere Forschung sollte sich auf die Bestimmung der Schlüsselgene, die an der Tumorentstehung der verschiedenen Speicheldrüsenkarzinome beteiligt sind, konzentrieren und individuelle Chemotherapien identifizieren, die auf diese Ziele gerichtet sind.

7 Literaturverzeichnis

Abrahão-Machado LF, Jáco Me AA, Wohnrath DR, dos Santos JS, Carneseca EC, Fregnani JH, Scapulatempo-Neto C (2013). HER2 in gastric cancer: comparative analysis of three different antibodies using whole-tissue sections and tissue microarrays. *World J Gastroenterol* 19: 6438-6446.

Ach S (2014). Genstatus und prognostische Bedeutung von MDM4 und FGFR3 bei Karzinomen der Speicheldrüsen. Inaugural – Dissertation. Universität Regensburg.

Ah-See KW, Cooke TG, Pickford IR, Soutar D, Balmain A (1994). An allelotype of squamous carcinoma of the head and neck using microsatellite markers. *Cancer Res* 1994; 54(7): 1617-21.

Akrish S, Ben-Izhak O, Peled M (2012). P27/SKP-2 histochemical profile is relevant to malignant salivary gland tumors (MST) histogenesis and tumor grade. *Head Neck Pathol* 6: 157-165.

Amit M, Binenbaum Y, Trejo- Leider L, Sharma K, Ramer N, Ramer I, Agebetoba A, Miles B, Yang X, Lei D, Bjorndal K, Godballe C, Mucke T, Wollf KD, Eckard AM, Copelli C, Sesenna E, Palmer F, Ganly I, Patel S, Gil Z (2014). International collaborative validation of intraneural invasion as a prognostic marker in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck*.doi:10.1002/hed.23710.

Andachi H, Yashima K, Koda M et al., (2002). Reduced FHIT expression is associated with mismatch repair deficiency in human advanced colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 87: 441-5.

Askari MR und Vo-Dinh T (2004). Implication of mitochondrial involvement in apoptotic activity of fragile histidine triad gene: application of synchronous luminescence spectroscopy. *Biopolymers* 73:510-23.

Atamna NK (2006). Der Einfluss des Tumorsuppressorgens FHIT und des Tumorkogens PTTG-1 auf das Überleben von Patienten mit kleinzelligem oder mit nicht- kleinzelligem Lungenkarzinom. Inaugural Dissertation, Düsseldorf.

Auclair P und 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 Tumors. IARC Press, Lyon. pp. 238-239.

Baader K (2013). Genstatus von PTEN und C-MET bei Speicheldrüsenkarzinomen, Inaugural-Dissertation, Regensburg.

Bai S, Clubwala R, Adler E, Sarta C, Schiff B, Smith RV, Gnepp DR, Brandwein-Gensler M (2013). Salivary mucoepidermoid carcinoma: a multi-institutional review of 76 patients. Head Neck Pathol 7: 105-112.

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.

Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (2005). Pathology and Genetics of Head and Neck Tumors. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press, Lyon. Pp. 210-211.

Bahambra AC, Zhang Y, Huang EC, Bishop J, Matin M, Afify A (2016). Pleural fluid metastases of myoepithelial carcinoma: A case report and review of the literature. Cytojournal. 2016; 13: 13.

Behboudi A, Enlund F, Winnes M, et al. (2006). Molecular classification of mucoepidermoid carcinomas-prognostic significance of the MECT1MAML2 fusion oncogene. Genes Chromosomes Cancer. 2006; 45:470– 481.

Bell D, Bell A, Roberts D, Weber RS, El-Naggar AK (2012). Developmental transcription factor EN1 – a novel biomarker in human salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Cancer* 118: 1288-1292.

Bell D und El-Naggar AK (2013). Molecular Heterogeneity in Mucoepidermoid Carcinoma: Conceptual and Practical Implications. *Head Neck Pathol.* 2013 Mar; 7(1): 23–27.

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.

Berton S, Belletti B, Wolf K, Canzonieri V, Lovat F, Vecchione A, Colombatti A, Friedl P, Baldassarre G (2009). The tumor suppressor functions of p27(kip1) include control of the mesenchymal/amoeboid transition. *Mol Cell Biol.* 2009; 29: 5031–45. doi: 10.1128/MCB.00144-09.

Bier JC (2011). Zytogenetische Untersuchungen an oralen Leukoplakien der Mundhöhle zur Identifizierung prämaligener Läsionen. Inaugural-Diss. Regensburg.

Bishop JA (2013). Unmasking MASC: bringing to light the unique morphologic, immunohistochemical and genetic features of the newly recognized mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands. *Head Neck Pathol.* 2013; 7:35–39.

Blanchaert RH, Ord RA, et al. (1998). Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the sublingual gland. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998 27(2): 115–117.

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

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

Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Azarnia N, Shin DM, Cohen RB, Jones CU, Sur R, Raben D, Jassem J, Ove R, Kies MS, Baselga J, Youssoufian H, Amellal N, Rowinsky EK, Ang KK (2006). Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell

carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 354:567-578.

Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Cohen RB, Jones CU, Sur RK, Raben D, Baselga J, Spencer SA, Zhu J, Youssoufian H, Rowinsky EK, Ang KK (2010). Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5 year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab induced rash and survival. *Lancet Oncol* 11:21-28.

Brandwein-Gensler MS, Skalova A, Nagao T (2005). Salivary duct carcinoma. In Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (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.

Breen JT, Carlson ML, Link MJ, Moore EJ, Neff BA, Driscoll CL (2012). Skull base involvement by acinic cell carcinoma of the parotid gland. *J Neurol Surg B Skull Base* 73: 371-378.

Bjørndal K, Krogdahl A, Therkildsen MH, Overgaard J, Johansen J, Kristensen CA, Homøe P, Sørensen CH, Andersen E, Bundgaard T, Primdahl H, Lambertsen K, Andersen LJ, Godballe C (2011). Salivary gland carcinoma in Denmark 1990-2005: a national study of incidence, site and histology. Results of the Danish Head and Neck Cancer Group (DAHANCA). *Oral Oncol* 47: 677-682.

Carty SE, Cooper DS, Doherty GM, Duh QY, Kloos RT, Mandel SJ, Randolph GW, Stack BC Jr., Steward DL, Terris DJ, Thompson GB, Tufano RP, Tuttle RM, Udelsman R (2009). Consensus statement on the terminology and classification of central neck dissection for thyroid cancer. *Thyroid* 19: 1153-1158.

Catzavelos C, Bhattacharya N, Ung YC, et al. (1997). Decreased levels of the cell- cycle inhibitor p27 kip1 protein: prognostic implications in primary breast cancer. *Nat Med*, 3, 227-30.

Chaudhuri AR, Khan IA, Prasad V et al. (1999). The tumour suppressor protein FHIT. A novel interaction with tubulin. *J Biol Chem* 274: 24378-82.

Chen MM, Roman SA, Sosa JA, Judson BL (2014). Histologic grade as prognostic indicator for mucoepidermoid carcinoma: a population- level analysis of 2400 patients. *Head Neck* 36:158–163. doi:10.1002/hed.23256.

Cho HW, Kim J, Choi J, Choi HS, Kim ES, Kim SH, Choi EC (2011). Sonographically guided fine-needle aspiration biopsy of major salivary gland masses: a review of 245 cases. *AJR Am J Roentgenol* 196: 1160-1163.

Ciardello F und Tortora G (2008). EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 358:1160-1174.

Cohen J. (1992). *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* 2. Auflage, Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale 1988.

Daa T, Kashima K, Kondo Y, Yada N, Suzuki M, Yokoyama S (2008). Aberrant methylation in promoter regions of cyclin-dependent kinase inhibitor genes in adenoid cystic carcinoma of the salivary gland. *APMIS*. 2008; 116:21–26.

Dau M.et al. (2017). Polymorphes low-grade Adenokarzinom der Glandula sublingualis. *ZM* 2/2017.

Daubländer M und Kämmerer P (2017). Frey Syndrom: Pathologische Hyperhidrose im Gesicht. *ZM* 107, Nr.13,1.7.2017,1625. S.87.

Deng WG, Nishizaki M, Fang B, Roth JA, Ji L (2007). Induction of apoptosis by tumor suppressor FHIT via death receptor signaling pathway in human lung cancer cells. *Biochem*

Biophys Res Commun 2007; 355(4): 993-9.

de Oliveira FA, Duarte EC, Taveira CT, Máximo AA, de Aquino EC, Alencar Rde C, Vencio EF (2009). Salivary gland tumor: a review of 599 cases in a Brazilian population. *Head Neck Pathol* 3: 271-275.

Dias FL, Lima RA, Cernea CR (2007). Management of Tumors of the Submandibular and Sublingual Glands. In Myers EN, Ferris RL (Eds.) *Salivary Gland Disorders*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York. Pp. 360-366.

Dhiwakar M, Robbins KT, Rao K, Vieira F, Malone J (2011). Efficacy of selective neck dissection for nodal metastasis with involvement of nonlymphatic structures. *Head Neck* 33: 1099-1105.

Di Palma S, Simpson RHW, Skalova A, Leivo I (2006). Major and Minor Salivary Glands. In Cardesa A, Slootweg PJ (Eds.) *Pathology of the Head and Neck*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. Pp. 144-159.

Dietz A, Barne B, Gewelke U et al. (1993). The epidemiology of parotid tumors. A case control study. *HNO*.1993; 41:83-90.

Dincer N, Tezel GG, Sungur A, Himmetoglu C, Huebner K, Güler G (2010). Study of FHIT and WWOX expression in mucoepidermoid carcinoma and adenoid cystic carcinoma of salivary gland. *Oral Oncology* 46 ,2010;195-199.

Dumon KR, Ishii H, Fong LY (2001). FHIT genetherapy prevents tumor development in FHIT-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:3346-51.

Elhakim MT, Breinholt H et al. (2016). Polymorphous low-grade adenocarcinoma: A Danish national study. *Oral Oncol* 2016 55: 6–10.

Ellis GL, Auclair PL, Gnepp DR (1991). *Surgical pathology of the salivary glands*. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: Saunders 1991.

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 G, Simpson RHW (2005). Acinic cell carcinoma. In Barnes L, Eveson JW, 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.

El-Naggar AK, Huvos AG (2005). Adenoid cystic carcinoma. In Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (Eds.) Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press, Lyon. Pp. 221-222.

Esposito V, Baldi A, De Luca A, et al (1997). Prognostic role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in non- small cell lung cancer. Cancer Res, 57, 3381-5.

Ethuandan M, Davies B, Pratt CA et al. (2008). Primary epithelial submandibular salivary gland tumours- Review of management in a district general hospital setting. Oral oncol. 2008.

Ettl T, Driemel O, Reichert TE (2007). Differentialdiagnose der Wangenschwellung: Metastasiertes Adenokarzinom NOS der kleinen Speicheldrüsen. ZM 97 Nr. 18: 50-54.

Ettl T, Schwarz S, Kleinsasser N, Hartmann A, Reichert TE, Driemel O (2008). Overexpression of EGFR and absence of C-KIT expression correlate with poor prognosis in salivary gland carcinomas. Histopathology 53: 567-577.

Ettl T (2009). Immunhistochemie als Prognoseindikator bei Speicheldrüsenkarzinomen. Eine klinisch- pathologische Studie mit 5- Jahres -Follow-Up. Inaugural Dissertation. Regensburg.

Ettl T, Baader K, Stiegler C, Müller M, Agaimy A, Zenk J, Kühnel T, Gosau M, Zeitler K, Schwarz S, Brockhoff G (2012a). Loss of PTEN is associated with elevated EGFR and HER2 expression and worse prognosis in salivary gland cancer. *Br J Cancer* 106: 719-726.

Ettl T, Schwarz-Furlan S, Gosau M, Reichert TE (2012b). Salivary gland carcinomas. *Oral Maxillofac Surg* 16: 267-283.

Ettl T, Stiegler C, Zeitler K, Agaimy A, Zenk J, Reichert TE, Gosau M, Kühnel T, Brockhoff G, Schwarz S (2012c). EGFR, HER2, survivin, and loss of pSTAT3 characterize high-grade malignancy in salivary gland cancer with impact on prognosis. *Hum Pathol* 43: 921-931.

Ettl T (2012d): Histopathologische und molekularbiologische Grundlagen maligner Speicheldrüsentumoren und ihre Bedeutung für die Ätiopathogenese, Therapie und Prognose. Kumulative Habilitationsschrift.

Ettl T, Gosau M, Brockhoff G, Schwarz-Furlan S, Agaimy A, Reichert TE, Rohrmeier C, Zenk J, Iro H (2013). Predictors of cervical lymph node metastasis in salivary gland cancer. *Head Neck* doi: 10.1002/hed.23332.

Ettl T (2015). Maligne Speicheldrüsentumore. *MKG-Chirurg*: doi 10.1007/s12285-015-0016-3. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015.

Eveson JW, Auclair P, Gnepp DR, El-Naggar AK (2005). Tumours of the salivary glands: Introduction. In Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (Eds.) *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press, Lyon. Pp. 212-215.

Fearon ER (1997). Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. *Science* 1997; 278(5340): 1043-50.

Feinstein TM, Lai SY, Lenzner D, Gooding W, Ferris RL, Grandis JR, Myers EN, Johnson JT, Heron DE, Argiris A (2011). Prognostic factors in patients with high-risk locally advanced salivary gland cancers treated with surgery and postoperative radiotherapy. *Head Neck* 33: 318-323.

Fehr A, Roser K, Heidorn K, Hallas C, Loning T, Bullerdiek J (2008). A new type of MAML2 fusion in mucoepidermoid carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2008;47(3):203–206. doi: 10.1002/gcc.20522.

Fonseca FP, Carvalho Mde V, De Almeida OP, Rangel AL, Takizawa MC, Bueno AG, Vargas PA (2012). Clinicopathologic analysis of 493 cases of salivary gland tumors in a Southern Brazilian population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 114: 230-239.

Fonseca FP, Sena Filho M, Altemani A, Speight PM, Vargas PA (2015). Molecular signature of salivary gland tumors: potential use as diagnostic and prognostic marker [published online ahead of print May 20, 2015]. *J Oral Pathol Med*. doi: 10.1111/jop.12329.

Fordice J et al. (1999). Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: predictors of morbidity and mortality. *Arch Otolaryngol head Neck Surg* 1999;125(2):149-52.

Fredersdorf S, Burns J, Milne AM et al. (1997). High level of p27 (kip1) and cyclin D1 in some human breast cancer cells: inverse correlation between the expression of p27(kip1) and degree of malignancy in human breast and colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94, 6380-5.

Fritz A, Percy C, Jack A, Shanmugaratnam K, Sobin L, Parkin DM, Whelan S (2000). *International Classification of Diseases for Oncology*. 3. Auflage. WHO, Genf 2000.

Fujii K, Murase T, Beppu S, Saida K, Takino H, Masaki A, Ijichi K, Kusafuka K, Iida Y, Onitsuka T, Yatabe Y, Hanai N, Hasegawa Y, Inagaki H (2017). MYB, MYBL1, MYBL2 and NFIB gene alterations and MYC overexpression in salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Histopathology*. 2017 Nov;71(5):823-834. doi: 10.1111/his.13281.

Fuse T, Tanikawa M, Nakanishi M, Ikeda K, Tada T, Inagaki H, et al. (2000). p27Kip1 expression by contact inhibition as a prognostic index of human glioma. *J Neurochem* 2000;74: 1393–9.

Gao L, Gu W, Zheng J, et al. (2013). Clinicopathological and prognostic significance of p27 expression in oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Int J Biol Markers* 2013; 28: e329-35.

Gendron KB, Ferris RL (2007). Management of the Neck in Cancer of the Salivary Glands. In Myers EN, Ferris RL (Eds.) *Salivary Gland Disorders*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York. Pp. 421-434.

Gillespie MB, Albergotti WG, Eisele DW (2012). Recurrent salivary gland cancer. *Curr Treat Options Oncol* 13: 58-70.

Ginestier C, Bardou VJ, Popovici C, Charafe- Jauffret E, Bertucci F, Geneix J, D'Ela J, Chaffanet M, Hassoun J, Vien P, Jocelyne J, Jacquemier J, Birnbaum D (2003). Loss of FHIT Protein expression is a marker of adverse evolution in good prognosis localized breast cancer. *Int. J. Cancer*: 107, 854–862.

Gnepp DR, Brandwein-Gensler MS, El-Naggar AK, Nagao T (2005). Carcinoma ex pleomorphic adenoma. In Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (Eds.) *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press, Lyon. Pp. 242-243.

Godge P, Sharma S, Yadav M (2012). Adenoid cystic carcinoma of the parotid gland. *Contemp Clin Dent* 3: 223-226.

Gomez DR, Katabi N, Zhung J, Wolden SL, Zelefsky MJ, Kraus DH, Shah JP, Wong RJ, Ghossein RA, Lee NY (2009). Clinical and pathologic prognostic features in acinic cell carcinoma of the parotid gland. *Cancer* 115:2128–2137. doi:10.1002/cncr.24259.

Goode RK, El-Naggar AK (2005). Mucoepidermoid carcinoma. In Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (Eds.) Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Press, Lyon. P. 219-220.

Guo Y, Sklar GN, Borkowski A, Kyprianou N (1997). Loss of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 (kip1) protein in human prostate cancer correlates with tumor grade. Clin Cancer Res, 3, 2269- 74.

Haisch A, Knöbber D, Lobeck H (1998). Das myoepitheliale Karzinom (malignes Myoepitheliom) der Speicheldrüsen. HNO Springer-Verlag 1998; 46(1): 66–6.

Hannen, E. J, Bulten J, et al. (2000). Polymorphous low grade adenocarcinoma with distant metastases and deletions on chromosome 6q23-qter and 11q23-qter: a case report. J Clin Pathol 2000. 53(12): 942–945.

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.

Hellquist, H.B., Skalova, Alena (2014). Histopathology of the Salivary Glands. Springer-Verlag.2014.

Hengst L, Dohmesen C (2009). Das p27-Protein ist mehr als eine Bremse des Zellzyklus. L&M 5/2009.22-25.

Hengst L, Reed SI (1996). Translational control of p27Kip1 accumulation during the cell cycle. Science 1996; 271:1861–4.

Huang AT, Tang C, Bell D, Yener M, Izquierdo L, Frank SJ, El-Naggar AK, Hanna EY, Weber RS, Kupferman ME (2015). Prognostic factors in adenocarcinoma of the salivary glands. Oral Oncol. doi: 10.1016/J. Oral oncology.2015.03.005.

Horn -Ross PL, Ljung BM, Morrow M (1997). Environmental factors and the risk of salivary gland cancer. Am J Epidemiology. 1997; 146:171-176.

Iourgenko V, Zhang W, Mickanin C, Daly I, Jiang C, Hexham JM, Orth AP, Miraglia L, Meltzer J, Garza D, Chirn GW, et al. (2003). Identification of a family of cAMP response element-binding protein coactivators by genome-scale functional analysis in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(21):12147–12152. doi: 10.1073/pnas.1932773100.

Ishii H, Vecchione A, Fong LY (2004). Cancer prevention and therapy in a preclinical mouse model: impact of FHIT viruses. *Curr Gene Ther* 2004; 4:53-63.

Ito Y, Ishibashi K, Masaki A, et al. (2015). Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands: a clinicopathologic and molecular study including 2 cases harboring ETV6-X fusion. *Am J Surg Pathol*. 2015; 39:602–610.

Ji L, Faang B, Yen N et al. (1999). Induction of apoptosis and inhibition of tumorigenicity and tumor growth by adenovirus vector mediated fragil histidine triad (FHIT) gene overexpression. *Cancer Res* 59:333-9.

Jaehne M, Roeser K, Jaekel T, Schepers JD, Albert N, Löning T (2005). Clinical and immunohistologic typing of salivary duct carcinoma: a report of 50 cases. *Cancer* 103: 2526-2533.

Jaspers HC, Verbist BM, Schoffelen R, Mattijssen V, Slootweg PJ, van der Graaf WT, van Herpen CM (2011). Androgen receptor-positive salivary duct carcinoma: a disease entity with promising new treatment options. *J Clin Oncol* 29: 473-476.

Kaye FJ (2006). Emerging biology of malignant salivary gland tumors offers new insights into the classification and treatment of mucoepidermoid cancer. *Clin Cancer Res*. 2006; 12:3878–3881.

Kessler A, Handler SD (1994). Salivary gland neoplasm in children: a 10- year survey at the Children’s Hospital of Philadelphia. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1994; 29:195-202.

Kimple AJ, Austin GK, et al. (2014). Polymorphous low-grade adenocarcinoma: a case series and determination of recurrence. *Laryngoscope* 2014 124(12): 2714–2719.

Koivunen P, Suutala L, Schorsch I et al. (2002). Malignant epithelial salivary gland tumors in northern Finland: incidence and clinical characteristics. *Eur Arch Otorhinolaryngol.*2002;259:146-149.

Kokemüller 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.

Kokemüller H, Swennen G, Brüggemann N, Brachvogel P, Eckardt A, Hausamen JE (2004). Epithelial malignancies of the salivary glands: clinical experience of a single institution – a review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 33: 423-432.

Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, Bärnlund M, Schraml P, Leighton S, Torhorst J, Mihatsch MJ, Sauter G, Kallioniemi OP (1998). Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 4: 844-847.

Krattenmacher A (2015). Charakterisierung neuer Zielgene im Pankreaskarzinom. Inaugural-Dissertation, Marburg.

Krishnamurthy A, Vaidhyanathan A, Majhi U (2011). Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the parotid gland. *J Cancer Res Ther* 7: 84-87.

Kujan O, Desai M, Sargent A, Bailey A, Turner A, Sloan P (2006a). Potential applications of oral brush cytology with liquid-based technology: results from a cohort of normal oral mucosa. *Oral Oncol* 2006; 42:810-8.

Kujan O, Oliver R, Roz L, Sozzi G, Ribeiro N, Woodward R, Thakker N, Sloan P (2006b) Fragile Histidine Triad Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma and Precursor Lesions. *Clin Cancer Res* 2006;12(22) November 15, 2006.

Lang S, Rotter N, Lorenzen A, Ihrler S, Eckel R, Holzel D, Rasp G, Wollenberg B Sommer K (2005). Salivary gland carcinomas. Epidemiology, etiology, malignancy criteria, prognostic parameters and classification. *HNO* 53: 817-826; quiz 827-818.

Lang G (2013). *Histotechnik*. Springer-Verlag, 2013: 271.

Laurie SA, Argiris A (2007). Chemotherapy in the Management of Malignant Tumors of Salivary Gland Origin. In Myers EN, Ferris RL (Eds.) *Salivary Gland Disorders*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York. Pp. 477-494.

Lawal AO, Adisa AO, Kolude B, Adeyemi BF, Olajide MA (2013). A review of 413 salivary gland tumours in the head and neck region. *J Clin Exp Dent* 5: 218-222.

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, Olsen KD, Weiland LH (1991). Acinic cell carcinoma. Clinicopathologic review. *Cancer* 67:172–179.

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 (2005). Squamous cell carcinoma. In Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D (2005). *Pathology and genetics of head and neck tumours*. World Health Organization Classification of Tumours. IARC Lyon.

Li LJ, Li Y, Wen YM, Liu H, Zhao HW (2008). Clinical analysis of salivary gland tumor cases in West China in past 50 years. *Oral Oncol* 44: 187-192.

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.

Lin WN, Huang HC, Wu CC, Liao CT, Chen IH, Kan CJ, Huang SF (2010). Analysis of acinic cell carcinoma of the parotid gland – 15 years experience. *Acta Otolaryngol* 130: 1406-1410.

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, Shao C, Tan ML, Mu D, Ferris RL, Ha PK (2012). Molecular biology of adenoid cystic carcinoma. *Head Neck*. 2012; 34:1665–1677.

Liu S, Ow A, Ruan M, Yang W, Zhang C, Wang L, Zhang C (2014). Prognostic factors in primary salivary gland mucoepidermoid carcinoma: an analysis of 376 cases in an Eastern Chinese population. *Int J Oral Maxillofac Surg* 43:667–673. doi: 10.1016/j.ijom.2014.01.008.

Liyanage RL, Wadusinghearachchi NS, Siriwardena BS, Jayasooriya PR, Tilakaratne WM (2013). Pigmented mucoepidermoid carcinoma with spindle cell differentiation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* doi: 10.1016/j.oooo.2013.08.031

Lloyd RV, Erickson LA, Jin L, Kulig E, Qian X, Cheville JC, et al. (1999). p27kip1: a multifunctional cyclin-dependent kinase inhibitor with prognostic significance in human cancers. *Am J Pathol* 1999; 154:313–23.

Löning T, Jäkel KT (2004). Salivary gland tumors – tumor typing and grading. *Pathologe* 25: 38-45.

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.

Mahmood U, Koshy M, Goloubeva O, Suntharalingam M (2011). Adjuvant radiation therapy for high-grade and/or locally advanced major salivary gland tumors. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 137: 1025-1030.

Malgaonkar NI, Abuderman A, Kharma MY, Al-Maweri S, Alaizari S, Altamimi M, S. Darwish S, Tarakji B (2016). Evaluation of p27 Expression in Salivary Gland Neoplasms; A Step Forward in Unveiling the Role of p27. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016 Jul,

Vol-10(7): ZC01-ZC042 2.

Manganaris A, Patakiouta F, Xirou P, Manganaris T (2007). Lymphoepithelial carcinoma of the parotid gland: is an association with Epstein-Barr virus possible in non-endemic areas? *Int J Oral Maxillofac Surg* 36: 556-559.

Mariano FV, Da Silva SD, Chulan TC, De Almeida OP, Kowalski LP (2011). Clinicopathological factors are predictors of distant metastasis from major salivary gland carcinomas. *Int J Oral Maxillofac Surg* 40: 504-509.

Martin J, St-Pierre MV, Dufour JF, *Biochimica et Biophysica Acta* 1807 (2011). 626–632 Hit proteins, mitochondria and cancer.

Martins C, Cavaco B, Tonon G, Kaye FJ, Soares J, Fonseca I (2004). A study of MECT1-MAML2 in mucoepidermoid carcinoma and Warthin's tumor of salivary glands. *J Mol Diagn.* 2004;6: 205–210.

Masciullo V, Sagambato A, Pacilio C et al (1999). Frequent loss of expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res*, 59, 3790- 4.

McHugh CH, Roberts DB, El-Naggar AK, Hanna EY, Garden AS, Kies MS, Weber RS, Kupferman ME (2012). Prognostic factors in mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. *Cancer* 118: 3928-3936.

McKenna SJ, Amaral T, Akbar S, Jordan L, Thompson A (2013). Immunohistochemical analysis of breast tissue microarray images using contextual classifiers. *J Pathol Inform* doi: 10.4103/2153-3539.109871.

Medina JE (1998). Neck dissection in the treatment of cancer of major salivary glands. *Otolaryngol Clin North Am* 31: 815-822.

Min R, Siyi L, Wenjun Y, Ow A, Lizheng W, Minjun D, Chenping Z (2012). Salivary gland adenoid cystic carcinoma with cervical lymph node metastasis: a preliminary study of 62 cases.

Int J Oral Maxillofac Surg 41: 952-957.

Mineta H, Miura K, Suzuki I, Takebayashi S, Amano H, Araki K, et al. (1999). Low p27 expression correlates with poor prognosis for patients with oral tongue squamous cell carcinoma. *Cancer* 1999; 85:1011–7.

Modan B, Chetrit A, Alfandary E et al. (1998). Increased risk of salivary gland tumors after low- dose irradiation. *Laryngoscope*. 1998; 108:1095-1097.

Montagnoli A, Fiore F, Eytan E, Carrano AC, Draetta GF, Hershko A., Pagano M. (1999). Ubiquitination of p27 is regulated by Cdk-dependent phosphorylation and trimeric complex formation. *Genes Dev*, 13, 1181-9.

Moore EJ und Olsen KD (2007). Total Parotidectomy. In Myers EN, Ferris RL (Eds.) *Salivary Gland Disorders*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York. Pp. 247-266.

Muscat JE, Wynder EL (1998). A case/control study of risk factors for major salivary gland cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998; 118:195-198.

Müller-Hermelink HK, Papadopoulos T (2010). Einteilung und Klassifikation maligner Erkrankungen. In Hiddemann W, Bartram CR (Eds.) *Die Onkologie*. Springer-Verlag, Heidelberg. Pp. 38-40.

Nagao T (2013). Dedifferentiation and High-Grade Transformation in Salivary Gland Carcinomas. *Head Neck Pathol* 7: 37-47.

Nakayama T, Miyabe S, Okabe M, Sakuma H, Ijichi K, Hasegawa Y, Nagatsuka H, Shimozaoto K, Inagaki H (2009). Clinicopathological significance of the CRT3-MAML2 fusion transcript in mucoepidermoid carcinoma. *Mod Pathol*. 2009;22(12):1575–1581. doi: 10.1038/modpathol.2009.126.

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.

Nasser SM, Faquin WC, Dayal Y (2003). Expression of androgen, estrogen and progesterone receptors in salivary gland tumors. Frequent expression of androgen receptor in a subset of malignant salivary gland tumors. *Am J Clin Pathol.*2003; 119:8901-806.

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.

Nishizaki M, Sasaki J, Fang B, Atkinson EN, Minna JD, Roth JA, Ji L (2004). Synergistic tumor suppression by coexpression of FHIT and p53 coincides with FHIT-mediated MDM2 inactivation and p53 stabilization in human non-small cell lung cancer cells. *Cancer Res* 2004; 64(16): 5745-52.

Okabe M, Inagaki H, Murase T, Inoue M, Nagai N, Eimoto T (2001). Prognostic significance of p27 and Ki-67 expression in mucoepidermoid carcinoma of the intraoral minor salivary gland. *Mod Pathol* 14: 1008-1014.

Ogata H, Ebihara S, Mukai K (1994). Salivary gland neoplasm in children. *Jpn J Clin Oncol.* 1994; 24: 88-93.

Ohashi Y, Sasano H, Yamaki H, et al. (1999). Cell cycle inhibitory protein p27 in esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*, 19, 1843-8.

Ohta M, Inoue H, Cottcelli MG et al. (1996). The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t (3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers. *Cell* 84:587-97.

Oliveira LR, Soave DF, Oliveira-Costa JP, Zorretto VA, Ribeiro-Silva A (2011). Prognostic factors in patients with malignant salivary gland neoplasms in a Brazilian population. *Asian Pac J Cancer Prev* 12: 363-368.

O'Neill ID (2009). t (11;19) translocation and CRTC1-MAML2 fusion oncogene in mucoepidermoid carcinoma. *Oral Oncol.* 2009; 45:2–9.

Ophascharoensuk V, Fero ML, Hughes J et al. (1998). The cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 safeguards against inflammatory injury. *Nat Med* 1998; 4:575–80.

Pacheco-Ojeda L, Domeisen H, Narvaez M, Tixi R, Vivar N (2000).

Malignant salivary gland tumors in Quito, Ecuador. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 62: 296-302.

Patel NR, Sanghvi S, Khan MN, Husain Q, Baredes S, Eloy JA (2014). Demographic trends and disease-specific survival in salivary acinic cell carcinoma: an analysis of 1129 cases. *Laryngoscope* 124:172–178. doi:10.1002/lary.24231.

Patel TD, Vazquez A et al. (2015). Polymorphous low-grade adenocarcinoma of the head and neck: A population-based study of 460 cases. *Laryngoscope* 2015 125(7): 1644–1649.

Paiva-Fonseca F, de Almeida OP, Ayroza-Rangel AL, Agustin-Vargas P (2013). Tissue microarray construction for salivary gland tumors study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 18: 1 6.

Pal A, Young MA, Donato NJ (2014). Emerging potential of therapeutic targeting of ubiquitin-specific proteases in the treatment of cancer. *Cancer Res*, 74, 4955-66.

Pederson AW, Salama JK, Haraf DJ, Witt ME, Stenson KM, Portugal L, Seiwert T, Villaflor VM, Cohen EE, Vokes EE, Blair EA (2011). Adjuvant chemoradiotherapy for locoregionally advanced and high-risk salivary gland malignancies. *Head Neck Oncol* 3: 1-6.

Peel RL, Seethala RR (2007). Pathology of Salivary Gland Disease. In Myers EN, Ferris RL (Eds.) *Salivary Gland Disorders*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg. Pp. 59-81.

Pekarsky Y, Garrison PN, Palamurchak A et al. (2004). FHIT is a physiological target of the protein kinase Scr. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 3775-9.

Piao S, Zhao S, Guo F, Xue J, Yao G, Wei Z, Huang Q, Sun Y, Zhang B (2012). Increased expression of CD147 and MMP-9 is correlated with poor prognosis of salivary duct carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 138: 627-635.

Pichiorri F, Trapasso F, Palumbo T (2006). Preclinical assessment of FHIT gene replacement therapy in human leukemia using a chimeric adenovirus, Ad5/F35. *Clin Cancer Res* 2006;12: 3494-501.

Pinkston JA, Cole P (1999). Incidence rates of salivary gland tumors: results from a population-based study. *Otolaryngol Head neck Surg.* 1999; 120:834-840.

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.

Polyak K, Kato JY, Solomon MJ, Sherr CJ, Massague J, Roberts JM, et al. (1994). p27Kip1, a cyclin-Cdk inhibitor, links transforming growth factor-beta and contact inhibition to cell cycle arrest. *Genes Dev* 1994; 8:9-22.

Polyak K, Lee MH, Erdjument BH, Koff A, Roberts JM, Tempst P et al. (1994). Cloning of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitor and a potential mediator of extracellular antimitogenic signals. *Cell* 1994; 78:59-66.

Robbins KT, Clayman G, Levine PA, Medina J, Sessions R, Shaha A, Som P, Wolf GT, American Head and Neck Society, American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery (2002). Neck dissection classification update: revisions proposed by the American Head and Neck Society and the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 128: 751-758.

Robbins KT, Shaha AR, Medina JE, Califano JA, Wolf GT, Ferlito A, Som PM, Day TA, Committee for Neck Dissection Classification, American Head and Neck Society (2008). Consensus statement on the classification and terminology of neck dissection. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 134: 536-538.

Roh JL, Choi SH, Lee SW, Cho KJ, Nam SY, Kim SY (2008). Carcinomas arising in the submandibular gland: high propensity for systemic failure. *J Surg Oncol* 97: 533-537.

Ron E, Saftlas AF (1996). Head and neck radiation carcinogenesis: epidemiologic evidence. *Otolaryngol head Neck Surg.* 1996; 115:403-408.

Roz L, Gramegna M, Ishii H et al. (2002). Restoration of fragil histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in lung and cervical cancer cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:3615-20.

Saku T, Hayashi Y, Takahara O et al. (1997). Salivary gland tumors among atomic bomb survivors, 1950-1987. *Cancer.* 1997; 79:1465-1475.

Salovaara E, Hakala O, Bäck L, Koivunen P, Saarilahti K, Passador-Santos F, Leivo I, Mäkitie AA (2012). Management and outcome of salivary duct carcinoma in major salivary glands. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 270: 281-285.

Santos-García A, Abad-Hernández MM, Fonseca-Sánchez E, Julián-González R, Galindo Villardón P, Cruz-Hernández JJ, Bullón-Sopelana A (2006). E-cadherin, laminin and collagen IV expression in the evolution from dysplasia to oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 11: 100-105.

Sard L, Accornero P, Tornielli S et al. (1999). The tumor suppressor gene FHIT is involved in the regulation of apoptosis and in the cell cycle control. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:8489-92.

Schwarz S, Stiegler C, Müller M, Ettl T, Brockhoff G, Zenk J, Agaimy A (2011a). Salivary gland mucoepidermoid carcinoma is a clinically, morphologically and genetically heterogeneous entity: a clinicopathological study of 40 cases with emphasis on grading, histological variants and presence of the t (11;19) translocation. *Histopath* 58: 557-570.

Schwarz S, Müller M, Ettl T, Stockmann P, Zenk J, Agaimy A (2011b). Morphological heterogeneity of oral salivary gland carcinomas: A clinicopathologic study of 41 cases with long term follow-up emphasizing the overlapping spectrum of adenoid cystic carcinoma and

polymorphus low-grade adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 4: 336-348.

Schwarz S, Zenk J, Müller M, Ettl T, Wünsch PH, Hartmann A, Agaimy A (2012). The many faces of acinic cell carcinomas of the salivary glands: a study of 40 cases relating histological and immunohistological subtypes to clinical parameters and prognosis. *Histopath* 61: 395-408.

Schwarz-Furlan S (2011). Speicheldrüsenkarzinome. *Pathologie und Prognose. Pathologie* 32: 310-315.

Schwenzer N, Ehrenfeld M (2011). Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde. Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York. Pp. 70-161.

Seethala RR (2009). An update on grading of salivary gland carcinomas. *Head Neck Pathol* 3: 69-77.

Seethala, RR, Johnson JT et al. (2010). Polymorphous low-grade adenocarcinoma: The University of Pittsburgh experience. *Arch. Otolaryngol Head Neck Surg* 2010 136(4): 385–392.

Seethala RR (2011). Histologic grading and prognostic biomarkers in salivary gland carcinomas. *Adv Anat Pathol* 18: 29-45.

Seifert G (1997). Diagnosis and prognosis of salivary gland tumors. An interpretation of new revised WHO classification. *Mund Kiefer Gesichtschir* 1: 252-267.

Seifert G (1996). *Oralpathologie I: Pathologie der Speicheldrüsen*. 2. Aufl. ed. Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Budapest, Hongkong, London, Mailand, Paris, Santa Clara, Singapur, Tokio: Springer 1996.

Sgambato A, Zhang YJ, Arber N et al (1997). Deregulated expression of p27 (kip1) in human breast cancer. *Clin Cancer Res*, 3, 1879- 87.

Shah JP (2004). *Head and Neck Surgery and Oncology*. Mosby, London, New York.

Shahsavari F, Eslami M, Baghaie F, Tirgari F, Motahhary P (2005). Immunohistochemical Evaluation of p27 (kip1) in Pleomorphic Adenomas and Adenoid Cystic Carcinomas of the Minor Salivary Glands. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 6, 527-530.

Simpson RH, Skalova A, Di Palma S, Leivo I (2014). Recent advances in the diagnostic pathology of salivary carcinomas. *Virchows Arch*. 2014; 465:371–384.

Siprashvili Z, Sozzi G, Barnes LD et al. (1997). Replacement of Fhit in cancer cells suppresses tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 13771-6.

Skalova A, Sima R, Vanecek T, Muller S, Korabecna M, Nemcova J, Elmberger G, Leivo I, Passador-Santos F, Walter J, Rousarova M, Jedlickova K, Curik R, Geierova M, Michal M (2009). Acinic cell carcinoma with high-grade transformation: a report of 9 cases with immunohistochemical study and analysis of TP53 and HER-2/neu genes. *Am J Surg Pathol* 33:1137–1145. doi:10.1097/PAS.0b013e3181a38e1c.

Skalova A, Vanecek T, Sima R, et al (2010). Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the ETV6-NTRK3 fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. *Am J Surg Pathol*. 2010; 34:599–608.

Snietura M, Jaworska M, Mlynarczyk-Liszka J, Goraj-Zajac A, Piglowski W, Lange D, Wozniak G, Nowara E, Suwinski R (2012). PTEN as a prognostic and predictive marker in postoperative radiotherapy for squamous cell cancer of the head and neck. *PLoS ONE* 7: e33396. Doi: 10.1371/journal.pone.0033396.

Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C (2009). *TNM Classification of Malignant Tumours* (7th Edition). Wiley-Blackwell, Hoboken NJ, USA.

Speight PM und Barrett AW (2002) Salivary gland tumors. *Oral Dis* 8: 229-240.

Spiro RH, Koss LG, Hajdu SI Strong EW (1973). Tumors of minor salivary origin. A clinicopathologic study of 492 cases. *Cancer* 31: 117-129.

Spiro RH und Huvos AG (1992). Stage means more than grade in adenoid cystic carcinoma. *Am J Surg* 164(6): 623-628.

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 JD und Spiro RH (2003). Salivary gland neoplasms. In Evans, P.H.R., Montgomery, P.Q. & Gullane, P.J. (eds) *Principles and Practice of Head and Neck Oncology*. MD Martin Dunitz, London, New York. pp. 385-403.

Speight PM, Barrett AW (2002). Salivary gland tumors. *OralDis.*2002;8:229-240.

Sultan I, Rodriguez-Galindo C, Al-Sharabati S, Guzzo M, Casanova M, Ferrari A (2011). Salivary gland carcinomas in children and adolescents: a population-based study, with comparison to adult cases. *Head Neck* 33: 1476-1481.

Suzuki S, Dobashi Y, Minato H, Tajiri R, Yoshizaki T, Ooi A (2012). EGFR and HER2-Akt-mTOR signaling pathways are activated in subgroups of salivary gland carcinomas. *Virchows Arch* 461: 271-282.

Takata T, Kudo Y, Zhao M, Ogawa I, Miyauchi M, Sato S, Cheng J, Nikai H (1999). Reduced Expression of p27Kip1 Protein in Relation to Salivary Adenoid Cystic Carcinoma Metastasis, *Cancer* 1999;86, N 6:928-935.

Takeichi N, Hirose F, Yamamoto H (1976). Salivary gland tumors in atomic bomb survivors, Hiroshima, Japan. I. Epidemiologic observations. *Cancer.*1976; 38: 2462-2468.

Sun EC, Curtis R, Melbye M et al (1999). Salivary gland cancer in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1999; 8:1095-1100

Takeichi N, Hirose F, Yamamoto H (1983). Salivary gland tumors in atomic bomb survivors, Hiroshima, Japan. II. Pathologic study and supplementary epidemiologic observations. *Cancer*.1983; 52: 377-385.

Tarakji B, Umair A, Altamimi MA, Azzeghaiby SN, Mahmoud AS, Darwish S, Nassani MZ, Ashok N (2015). P27 expression in pleomorphic salivary gland adenoma. *Contemp Oncol (Pozn)* 2015; 19 (1): 28–31 DOI: 10.5114/wo.2014.45294.

Teo PML, Chan ATC, Lee WY, Leung SF, Chan ESY, Mok CO (2000). Failure patterns and factors affecting prognosis of salivary gland carcinoma: retrospective study. *Hong Kong Med J* 6: 29-36.

Therkildsen MH, Christensen M, Andersen LJ, Schiødt T, Hansen HS (1998). Salivary Gland Carcinomas: Prognostic Factors. *Acta Oncol* 37: 701-713.

Tian Z, Li L, Wang L, Hu Y, Li J (2010). Salivary gland neoplasms in oral and maxillofacial regions: a 23-year retrospective study of 6982 cases in an eastern Chinese population. *Int J Oral Maxillofac Surg* 39: 235-242.

Tirado Y, Williams MD, Hanna EY, Kaye FJ, Batsakis JG, El Naggar AK (2007). CRTC1/MAML2 fusion transcript in high grade mucoepidermoid carcinomas of salivary and thyroid glands and Warthin's tumors: implications for histogenesis and biologic behavior. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007; 46:708–715.

Toledo G, Sola JJ, Lozano MD et al. (2004). Loss of FHIT protein expression is related to high proliferation, low apoptosis and worse prognosis in non-small-cell lung cancer. *Mod Pathol* 17: 440-8.

Tonon G, Modi S, Wu L, et al. (2003). t (11;19) (q21;p13) translocation in mucoepidermoid carcinoma creates a novel fusion product that disrupts a Notch signaling pathway. *Nat Genet*. 2003; 33:208–213.

Toyoshima H, Hunter T (1994). p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. *Cell* 78(1): 67-74.

Tsihlias J, Kapusta LR, DeBoer G, et al (1998). Loss of cyclindependent kinase inhibitor p27 Kip1 is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. *Cancer Res*, 58, 542-8.

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.

Verdorfer I, Fehr A, Bullerdiek J, et al. (2009). Chromosomal imbalances, 11q21 rearrangement and MECT1-MAML2 fusion transcript in mucoepidermoid carcinomas of the salivary gland. *Oncol Rep*. 2009; 22:305–311.

Verma P, Sachdeva SK, Verma KG, Sachdeva K (2014). Pleomorphic adenoma of cheek: A rare case report and review of literature. *Indian J Dent Res* 2014; 25:122-4.

Vilar-González S, Bradley K, Rico-Pérez J, Vogiatzis P, Golka D, Nigam A, Sivaramalingam M, Kazmi S (2015). Salivary gland myoepithelial carcinoma. *Clin Transl Oncol*. 2015; 17(11): 847-855.

Volck AC (2015). Das Adenoid-zystische Karzinom. *Diagnose und Therapie.info@onkologie* 2-2015.

Voravud N, Shin DM, Dekmezian RH, Dimery I, Lee JS, Hong WK (1992). Implantation metastasis of carcinoma after percutaneous fine-needle aspiration biopsy. *Chest*. 1992 Jul;102(1):313-5.

Wahlberg P, Anderson H, Björklund 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.

Wakasaki T, Kubota M, Nakashima Y, Tomonobe E, Mihara T, Fukushima J (2016). Invasive myoepithelial carcinoma ex pleomorphic adenoma of the major salivary gland: two case reports. *BMC Cancer*. 2016; 16(1): 827.

Wander SA, Dekuang Zhao and Joyce M. Slingerland (2011). p27: A Barometer of Signaling Deregulation and Potential Predictor of Response to Targeted Therapies. *Clin Cancer Res*. 2011.

Wang SJ, Eisele DW (2007). Superficial Parotidectomy. In Myers EN, Ferris RL (Eds.) *Salivary Gland Disorders*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York. Pp. 237-246.

Wang YL, Zhu YX, Chen TZ, Wang Y, Sun GH, Zhang L, Huang CP, Wang ZY, Shen Q, Li DS, Wu Y, Ji QH (2012). Clinicopathologic study of 1176 salivary gland tumors in a Chinese population: Experience of one cancer center 1997 – 2007. *Acta Otolaryngol* 132: 879-886.

Weiler C, Zengel P, van der Wal JE, Guntinas-Lichius O, Schwarz S, Harrison JD, Kirchner T, Ihrler S (2010). Carcinoma ex pleomorphic adenoma with special reference to the prognostic significance of histological progression: a clinicopathological investigation of 41 cases. *Histopathology* 59:741–750.

Weining- Klemm O (2004). Vergleich verschiedener Biopsiearten in der Mammadiagnostik: Feinnadelaspirationszytologie (FNA), Feinnadelbiopsie (FNB) und Vakuumbiopsie (VB); Möglichkeit, Grenzen und Kosten Inaugural Diss., Tübingen.

Weiske J, Albring KF, Huber O (2007). The tumor suppressor Fhit acts as a repressor of beta-catenin transcriptional activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Dec 18;104(51):20344-9. Epub 2007 Dec 10.

Welsch U (2002). *Lehrbuch Histologie*. Urban und Fischer, 2002.

Williams L, Thompson LD, Seethala RR, Weinreb I, Assaad AM, Tuluc M, Ud Din N, Purgina B, Lai C, Griffith CC, Chiosea SI (2015). Salivary duct carcinoma: the predominance of apocrine morphology, prevalence of histologic variants, and androgen receptor expression. *Am J Surg Pathol* 39:705–713. doi:10.1097/ pas.413.

Williams MD, Roberts DB, Kies MS, Mao L, Weber RS, El-Naggar AK (2010). Genetic and expression analysis of HER-2 and EGFR genes in salivary duct carcinoma: empirical and therapeutic significance. *Clin Cancer Res* 16: 2266-2274.

Wistuba II, Behrens C, Virmani AK et al. (2000). High resolution chromosome 3p allelotyping of human lung cancer and preneoplastic/preinvasive bronchial epithelium reveals multiple, discontinuous sites of 3p allele loss and three regions of frequent breakpoints. *Cancer Res* 60: 1949-60.

Wistuba II, Gazdar AF, Minna JD (2001). Molecular genetics of small cell lung carcinoma. *Semin Oncol* 28. 3-13.

Wittekind C, Compton CC, Greene FL, Sobin LH (2002). TNM residual tumor classification revisited. *Cancer* 94: 2511-2516.

Wittekind C, Asamura H, Sobin LH (2014). *TNM Atlas.7. Auflage.* John Wiley & Sons, New York 2014.

Wittekind C und Tannapfel A (2006). Prinzipien der Pathologie in der Onkologie, in: H.-J. Schmoll, K. Höffken, K Possinger (Hrsg.): *Kompodium Internistische Onkologie*, Springer Verlag 2006, S.351-382.

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

Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, Mc Shane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF (2007). American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 25:118-145

Yanigisawa K, Kosaka A, Iwahana H, Nakanishi M, Tominaga S (1999). Opposite regulation of the expression of cyclindependent kinase inhibitors during contact inhibition. *J Biochem*, 125, 3640.

Yang S, Zeng M, Zhang J, Chen X (2010). Clear cell myoepithelial carcinoma of minor salivary gland: a case report. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2010; 39(3): 297-300.

Yin LX, Ha PK (2016). Genetic Alterations in salivary gland cancers. *Cancer*. June 15, 2016:1822-1831.

Yu GY, Ma DQ (1987). Carcinoma of the salivary gland: a clinicopathologic study of 405 cases. *Semin Surg Oncol* 3: 240-243.

Zanesi N, Fidanza V, Fong LY et al. (2001). The tumor spectrum in FHIT-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:10250-5.

Zbaren P, Schupbach J, Nuyens M, Stauffer E, Greiner R Hausler R (2003). Carcinoma of the parotid gland. *Am J Surg* 186: 57-62.

Zhang L, Rosin MP (2001). Loss of heterozygosity: a potential tool in management of oral premalignant lesions? *J Oral Pathol Med* 2001; 30(9): 513-20.

Zhang Y, Xu X, Chen Z, Zhao Z (2017). Association of FHIT expression and FHIT gene hypermethylation with liver cancer risk: a PRISMA-compliant meta-analysis. *Onco Targets Ther*. 2017; 10: 3083–3093.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. Tobias Ettl danke ich ganz herzlich für die Themenstellung und hervorragende Betreuung dieser Dissertation. Ohne seinen unermüdlichen Einsatz und seine fachliche Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Besonderer Dank gebührt Herrn Dr. Jürgen Schubert aus Bayreuth für die Unterstützung und die nicht endend wollende Geduld bei der Auswertung der immunhistochemischen Färbungen.

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

Ich bedanke mich bei den Kliniken und Polikliniken für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde und Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Unikliniken Erlangen und Regensburg für die Bereitstellung der Daten

Zuletzt bedanke ich mich bei meiner Familie, die immer unterstützend hinter mir steht.

Lebenslauf

Name: Renner

Geburtsname: Augustin

Vorname: Patty

Geburtsdatum: 16.8.1979

Geburtsort: Sebnitz

Familienstand: verheiratet

Tochter Pauline, geb. am 4.5.2005

Sohn Luis, geb. am 2.1.2009

Sohn Tilman, geb. am 3.12.2010

Schulzeit: 01.09.1986 - 07.02.1989 Grundschule Lohmen

02.1989 - 07.1989 Grundschule Viechtach

09.1989 - 07.1990 Grundschule Neutraubling

09.1990 - 25.6.1999 Gymnasium Neutraubling

Ausbildung:

01.10.1999 - 30.09.2002 Krankenpflegeschule St. Josef Regensburg

05.09.2002 Staatliche Prüfung in der Krankenpflege

Studium:

2002 - 2008 Studium der Zahnheilkunde an der Universität Regensburg

15.10.2003 Naturwissenschaftliche Vorprüfung

08.04.2005 Zahnärztliche Vorprüfung

18.6.2008 Zahnärztliche Prüfung

15.9.2008 Zahnärztliche Approbation

Assistenzzeit:

1.10.2008 – 30.9.2012 Vorbereitungsassistentin in der Zahnarztpraxis Dr. Renner
in Bayreuth

Ab 1.10.2012 Tätigkeit als niedergelassene Zahnärztin in der Zahnarztpraxis Renner in
Bayreuth