

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
Klinik für Innere Medizin, Schwerpunkt Gastroenterologie und Stoffwechsel
Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Mathias Gress
in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Standort Marburg

**Chromogranin A als Parameter bei der
Diagnosestellung und in der
Verlaufsbeobachtung von Patienten mit
gastroenteropankreatischen
neuroendokrinen Tumoren des *hindgut***

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich Medizin der Philipps–Universität Marburg

vorgelegt von
Theresa-Maria Bongers
aus Olpe

Marburg 2010

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:
29.11.2010

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Prof. Dr. Matthias Rothmund

Referent: Prof. Dr. Volker Ellenrieder

1. Korreferent: Prof. Dr. Alexander Brehm

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	3
1 EINLEITUNG	5
NEUROENDOKRINE GASTROENTEROPANKREATISCHE TUMORE	5
1.1 ÄTIOLOGIE UND EPIDEMIOLOGIE	5
1.2 KLASSIFIKATION UND STADIENEINTEILUNG	6
1.2.1 Entwicklungsgeschichtliche Einteilung	6
1.2.2 WHO-Klassifikation	6
1.2.3 TNM - Stadieneinteilung und Grading	7
1.3 KLINISCHE SYMPTOME	9
1.3.1 Funktionelle GEP-NET	9
1.3.2 Nicht funktionelle GEP-NET	10
1.3.3 GEP-NET des <i>foregut</i> und <i>midgut</i>	10
1.3.4 GEP-NET des <i>hindgut</i>	10
1.4 DIAGNOSTIK	11
1.4.1 Histologie	12
1.4.2 Bildgebende Diagnostik	16
1.5 METASTASIERUNG	18
1.6 DAS KARZINOID-SYNDROM UND DIE KARZINOID-HERZERKRANKUNG	18
1.7 THERAPIE DER GEP-NET	20
1.8 VERLAUFSKONTROLLE	21
1.9 PROGNOSE	22
2 FRAGESTELLUNG	23
3 PATIENTEN UND METHODEN	24
3.1 PATIENTEN	24
3.2 METHODEN	24
3.2.1 Chromogranin A-Bestimmung im Plasma	24
3.2.2 Histologische Diagnostik	24
3.2.3 Serotonin und 5-HIES -Bestimmung	26
3.2.4 CEA-Bestimmung	26
4 ERGEBNISSE	27
4.1 CHROMOGRANIN A ALS HISTOLOGISCHER DIAGNOSEPARAMETER	29
4.2 CHROMOGRANIN A IN DER SERUMDIAGNOSTIK	32
4.2.1 Diagnosestellung	32
4.2.2 Verlaufsbeobachtung	35

4.2.3	Vergleich mit einer Kontrollgruppe.....	36
4.3	DAS ÜBERLEBEN DER PATIENTEN MIT GEP-NET DES <i>HINDGUT</i>	38
4.3.1	Unterteilung des Kollektivs in drei Subgruppen.....	38
4.3.2	Unterteilung des Kollektivs nach Lokalisation des Tumors	42
4.4	KARZINOID-HERZERKRANKUNG BEI PATIENTEN MIT GEP-NET DES <i>HINDGUT</i>	43
5	DISKUSSION	45
5.1	CHROMOGRANIN A ALS HISTOLOGISCHER DIAGNOSEPARAMETER	45
5.2	CHROMOGRANIN A IN DER SERUMDIAGNOSTIK	46
5.2.1	Chromogranin A in der Primärdiagnostik von GEP-NET	46
5.2.2	Chromogranin A in der Verlaufskontrolle	49
5.2.3	Erklärungsansätze der verschiedenen CgA-Konzentrationen.....	52
5.2.4	Der Chromogranin A-Immunoassay	53
5.3	EVALUATION MÖGLICHERWEISE DEN VERLAUF ANZEIGENDER PARAMETER	54
5.3.1	Biochemische Parameter	54
5.3.2	Morphologische und weitere prognostische Parameter	55
5.3.3	Ki-67 und Grading.....	56
5.4	DAS ÜBERLEBEN DER PATIENTEN MIT GEP-NET DES <i>HINDGUT</i>	58
5.4.1	Das Gesamtüberleben der Patienten mit GEP-NET des <i>hindgut</i>	58
5.4.2	Überleben der drei Subgruppen	59
5.4.3	Überleben in Abhängigkeit von der Primärtumorlokalisation.....	60
5.5	KARZINOID-HERZERKRANKUNG BEI PATIENTEN MIT GEP-NET DES <i>HINDGUT</i>	60
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	62
6.1	DEUTSCHE ZUSAMMENFASSUNG	62
6.2	ENGLISCHE ZUSAMMENFASSUNG (SUMMARY).....	64
7	ANHANG	66
7.1	ABKÜRZUNGEN.....	66
7.2	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	68
7.3	TABELLENVERZEICHNIS.....	69
7.4	LITERATUR	70
7.5	TABELLARISCHER LEBENSLAUF	76
7.6	VERZEICHNIS DER AKADEMISCHEN LEHRERINNEN UND LEHRER.....	77
7.7	DANKSAGUNG	78
7.8	EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG	79

1 Einleitung

Neuroendokrine gastroenteropankreatische Tumore

Neuroendokrine Tumore stellen eine seltene Tumorentität dar. Sie sind zu einem hohen Anteil im Gastrointestinaltrakt lokalisiert. Der Begriff „neuroendokriner Tumor“ verdeutlicht neben seiner Herkunft auch die Fähigkeit, endokrine Substanzen zu synthetisieren. Dies muss aber nicht in jedem Fall zu einer Sekretion des jeweiligen Hormons führen (Auernhammer et al., 2008). Dieser Sachverhalt spiegelt sich in der Einteilung der neuroendokrinen Tumore in funktionelle und nicht-funktionelle wieder. Trotz einheitlicher Herkunft reicht die Malignität neuroendokriner Tumore von zufällig entdeckten benignen Läsionen bis zu stark metastasierten Karzinomen, was eine individuelle Therapie und eine uneinheitliche Prognose bedingt. (Van Gompel et al., 2004)

1.1 Ätiologie und Epidemiologie

In der Regel entwickeln sich neuroendokrine gastroenteropankreatische Tumore (GEP-NET) sporadisch. In einigen Fällen kann jedoch eine genetische Prädisposition im Rahmen eines MEN 1 Syndroms vorliegen, die zu familiärem, gehäuftem Auftreten von GEP-NET des Magens, des Duodenums und des Pankreas führen kann (Auernhammer et al., 2008).

Die Inzidenz aller GEP-NET liegt bei bis zu 2 pro 100.000 Einwohner. Sie stellen somit 5% aller gastrointestinalen Tumore dar. Es konnte eine steigende Inzidenz nachgewiesen werden, die jedoch nicht alle GEP-NET gleichermaßen betrifft und sich auch unter anderem durch eine Verbesserung der Diagnostik- und Screeningmethoden erklären lässt (Maggard et al., 2004; Modlin et al., 2006; Modlin et al., 2003).

GEP-NET können in jedem Lebensalter auftreten, jedoch erfolgt die Erstdiagnose vor allem ab der 5. Lebensdekade (Öberg et al., 2008). Das Durchschnittsalter bei Diagnosestellung liegt bei ca. 60 Jahren. Frauen haben mit einem Anteil von 54% ein leicht höheres Risiko, an einem GEP-NET zu erkranken (Maggard et al., 2004).

1.2 Klassifikation und Stadieneinteilung

Der hohe Grad an morphologischer und biologischer Heterogenität der GEP-NET macht eine dezidierte Betrachtungsweise, basierend auf der Lokalisation des Primärtumors, der Ableitung des Primärtumors von entwicklungsbiologisch äquivalenten Strukturen und der Prognose unumgänglich (Klöppel et al., 2005). Es gibt bislang drei Klassifikationen, die verschiedene Aspekte der GEP-NET betrachten.

1.2.1 Entwicklungsgeschichtliche Einteilung

1963 teilten Williams und Sandler die Tumore entsprechend ihres entwicklungsgeschichtlichen Ursprungs ein. Je nach Lokalisation des Primärtumors werden die Tumore den embryonalen Strukturen Vorderdarm („*foregut*“), Mitteldarm („*midgut*“) und Enddarm („*hindgut*“) zugeordnet, die aus dem primitiven Darmkanal entstehen. Der Vorderdarm ist der vordere Teil des Verdauungstraktes, vom Mund bis zum Einmündungsbereich des Gallen- und Pankreasganges an der Vaterschen Papille im Duodenum. Er umfasst auch die Lungen, den Thymus und das Pankreas. Der Mitteldarm, distal der Vaterschen Papille beginnend, setzt sich über Jejunum, Zaekum und Kolon ascendens bis zum Cannon-Böhm-Punkt fort, der sich im letzten Drittel des Kolon transversums befindet. Der Enddarm besteht somit aus dem letzten Drittel des Kolon transversums, Kolon descendens, Sigma, Rektum und dem Analkanal (Janson et al., 1997; Williams, 1963). Die Verwendung dieser Klassifikation berücksichtigt den Umstand, dass Tumorentitäten mit ähnlicher Abstammung auch ein ähnliches biologisches Verhalten in Bezug auf Metastasierung, Prognose und Markerexpression aufweisen.

1.2.2 WHO-Klassifikation

Durch intensive Forschung während der vergangenen Jahrzehnte und dank der Fortschritte in klinischer und morphologischer Diagnostik konnte ein differenzierterer Einblick in die verschiedenen Entitäten der GEP-NET gewonnen werden. Vor allem unter prognostischen und funktionellen Gesichtspunkten erfolgte 2004 die einheitliche Klassifikation der GEP-NET anhand deskriptiver Kriterien.

Die in Tabelle 1 dargestellte Klassifikation der WHO aus dem Jahre 2000 grenzt neuroendokrine Tumore von neuroendokrinen Karzinomen ab.

Tabelle 1: Klassifikation der neuroendokrinen Tumore des gastroenteropankreatischen Systems

1a	Gut differenzierter neuroendokriner Tumor
1b	Gut differenziertes neuroendokrines Karzinom
2	Schlecht differenziertes neuroendokrines Karzinom

aus (Klöppe et al., 2004)

In einem nächsten Schritt wurden die Tumore weiter unterteilt nach Lokalisation und Tumormorphologie und -biologie, was Daten zu Tumorgöße, Gefäßinvasion, Proliferationsaktivität, Histologie, Metastasenstatus, Organinvasion, Hormonaktivität und klinischen Symptomen einschließt (siehe Tabelle 2) (Klöppe et al., 2004).

Tabelle 2: Klassifikation der neuroendokrinen Tumore aus Ileum, Zaekum, Kolon und Rektum

Hoch differenzierter neuroendokriner Tumor
Benigne: funktionell inaktiv; beschränkt auf Mukosa und Submukosa; nicht angioinvasiv; ≤ 1 cm (Ileum) oder ≥ 2 cm (kolorektal); Serotonin-positiv
Benignes oder niedrig malignes Verhalten (fragliche Dignität): funktionell inaktiv, beschränkt auf Mukosa und Submukosa; Angioinvasion oder < 1 cm (Ileum) oder < 2 cm (kolorektal); Serotonin-positiv
Hoch differenziertes neuroendokrines Karzinom
Niedrig malignes Verhalten: Invasion der Muscularis propria und weiter oder Metastasen Funktionell aktives oder inaktives Serotonin-produzierendes Karzinom (mit Karzinoid-Syndrom) Funktionell inaktives Enteroglukagon-produzierendes Karzinom
Schlecht differenziertes neuroendokrines Karzinom
Hochgradig maligne

Modifiziert nach (Klöppe et al., 2004)

1.2.3 TNM - Stadieneinteilung und Grading

Zur Risikostratifizierung wurde im Jahre 2006 von einer Konsensus-Konferenz eine TNM – Klassifikation für GEP-NET des *foregut* erarbeitet, die auf den Leit-

linien der European Neuroendocrine Tumor Society (ENETS) basiert. Analog dazu folgte 2007 eine weitere Einteilung für *midgut* und *hindgut* Tumore. Eine Unterteilung nach funktionaler Aktivität, Tumorzelltyp und genetischem Hintergrund wurde nicht vorgenommen (Rindi et al., 2006; Rindi et al., 2007). Die TNM - Stadieneinteilung für kolorektale NET ist in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: TNM - Stadien für endokrine Tumore in Kolon und Rektum

T: Primärtumor	
TX	Primärtumor nicht beurteilbar
T0	Kein Hinweis auf Primärtumor
T1	Tumor infiltriert Mukosa oder Submukosa; T1a: <1cm; T1b: 1-2cm
T2	Tumor infiltriert Muskularis propria oder ist >2cm
T3	Tumor infiltriert Subserosa/perikolisches oder perirektales Fettgewebe
T4	Tumor infiltriert andere Organe/Strukturen und/oder perforiert Peritoneum
m	für multiple Tumore (m) hinzufügen
N: regionale Lymphknoten	
NX	Regional - Lymphknotenstatus nicht beurteilbar
N0	keine regionalen Lymphknoten befallen
N1	regionale Lymphknotenmetastasen
M: Fernmetastasen	
MX	Fernmetastasenstatus nicht beurteilbar
M0	keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Modifiziert nach (Rindi et al., 2007)

Dieser Einteilung wurden ein Staging-System (Tabelle 4) sowie eine Einteilung des Grading (Tabelle 5) hinzugefügt. Das Grading ordnet gut differenzierte Tumore den Graden G1 und G2 zu, schlecht differenzierte zu G3. Das Grading-System unterteilt in die 3 Kategorien anhand eines Mitoseindex. Dieser zeigt die Mitoserate in mindestens 40 High Power Fields in der Hämatoxylin-Eosin - Färbung an, sowie anhand des Proliferationsindex (Rindi et al., 2007). Ki-67 gehört zu einer Gruppe von Phosphoproteinen, die für die Kontrolle der Mitose verantwortlich sind, seine Expression ist an den Zellzyklus gebunden und wird während aller aktiven Phasen des Zellzyklus (G1, S, G2, Mitose) stark exprimiert – nicht während der Ruhephase (G0). Der Ki-67-Antikörper markiert folg-

lich Zellen, die sich in der Teilung befinden und eignet sich damit sehr gut als Wachstumsmarker einer gegebenen Zellpopulation und zeigt die aktuelle Proliferationsaktivität an. Der Anteil Ki-67-positiver Zellen an der Gesamtzellpopulation korreliert oft mit dem klinischen Verlauf der Erkrankung (Scholzen et al., 2000).

Tabelle 4: Staging für endokrine Tumore von Kolon und Rektum

Stadium	T: Primärtumor	N: regionale Lymphknoten	M: Fernmetastasen
Ia	T1a	N0	M0
Ib	T1b	N0	M0
IIa	T2	N0	M0
IIb	T3	N0	M0
IIIa	T4	N0	M0
IIIb	Jedes T	N1	M0
IV	Jedes T	Jedes N	M1

Modifiziert nach (Rindi et al., 2007)

Tabelle 5: Mögliches Grading für GEP-NET aus Ileum, Appendix, Kolon und Rektum

Grade	Mitoserate (10 HPF)	Ki-67-Index (%)
G1	<2	≤2
G2	2-20	3-20
G3	>20	>20

Modifiziert nach (Rindi et al., 2007)

1.3 Klinische Symptome

Je nach Lokalisation, Größe, Differenzierungsgrad und Funktionalität des Tumors können verschiedene klinische Symptome vorliegen. Bei funktionell aktiven Tumoren ist es vor allem das jeweilige Hormon, das spezifische Symptome hervorruft.

1.3.1 Funktionelle GEP-NET

Ein Speicherdefekt in der Tumorzelle ist verantwortlich für die unkontrollierte, ungebremste Sekretion des Hormons und biogener Amine. Bedingt durch diese Hypersekretionssyndrome kann es zu spezifischen Tumorsyndromen kommen, die in Tabelle 6 näher dargestellt sind (Eriksson et al., 2000; Klöppel et al., 2005).

GEP-NET im Kolon werden häufig erst sehr spät entdeckt und liegen dann meist bereits in einem metastasierten Stadium vor. Die Patienten stellen sich mit unspezifischen Symptomen wie Bauchschmerzen, Diarrhoe, analem Blutabgang und Gewichtsverlust vor. Gelegentlich zeigen sich noch Anämie, Hepatomegalie und eine palpable Masse. Oft wird mit der Verdachtsdiagnose eines Adenokarzinoms eine Koloskopie eingeleitet oder nach ausgeprägter Diagnostik eine explorative Laparatomie durchgeführt, die nach Biopsieentnahme die Diagnose eines GEP-NET stellt. Liegt lediglich eine polypöse Läsion ohne Mukosaeinbruch vor, kann diese meist endoskopisch im Gesunden entfernt werden. (Arnold, 2004; Matsui et al., 1993; Modlin et al., 2006; Onaitis et al., 2000; Ramage et al., 2008)

Neuroendokrine Tumore im Rektum sind zu ca. 40% Inzidentalome im Rahmen einer Sigmoidoskopie oder Koloskopie. Als Inzidentalome werden sie definiert, wenn es keine klinische Manifestation des Tumors gibt, welche die Indikation der Exploration darstellt. Bestehen klinische Symptome, so stellen sich diese häufig unspezifisch z.B. durch verändertes Stuhlverhalten, analen Blutabgang oder Tenesmen dar. Fernmetastasen sind bei Diagnosestellung ungewöhnlich. Diese zufällig entdeckten Tumore haben durch die relativ frühzeitige Diagnosestellung meist eine sehr günstige Prognose. Nach Entfernung im Gesunden ist keine weitere Nachsorge notwendig (Modlin et al., 2006; Modlin et al., 2003; Onaitis et al., 2000; Ramage et al., 2008; Shebani et al., 1999).

1.4 Diagnostik

Da neuroendokrine Tumore meist langsam wachsen und durch ein uneinheitliches Krankheitsbild schwer zu diagnostizieren sind, vergehen oft Jahre bis zur Erstdiagnose. Besteht die Verdachtsdiagnose eines GEP-NET, so sollten biochemische Tests und eine topographische Lokalisierung des Primärtumors und eventueller Metastasen veranlasst werden. Aufmerksamkeit sollte diesbezüglich solchen Aspekten gewidmet werden, die Besonderheiten der GEP-NET darstellen, wie zum Beispiel Multizentrität, Assoziation mit anderen Neoplasien und Syndromen wie gastrointestinalen Adenokarzinomen, Lymphomen und MEN, sowie der kardialen Fibrose (Modlin et al., 2006; Shebani et al., 1999).

1.4.1 Histologie

Die Familie der GEP-NET stellt eine sehr heterogene Gruppe dar. Jedoch exprimieren ihre Mitglieder gemeinsame immunhistochemische Merkmale, zu denen Chromogranin A (CgA), Synaptophysin, die Neuron-spezifische Enolase (NSE) und das Protein Gen Produkt 9.5 (PGP9.5) gehören (Öberg et al., 2008; Williams, 2007).

Histologisch handelt es sich bei den NET des Kolons meist um niedrig differenzierte neuroendokrine Karzinome, die durch die Expression von Synaptophysin und zytosolischen Markern der neuroendokrinen Differenzierung (PGP9.5) gekennzeichnet sind. Die NET des Rektums sind zumeist hoch differenziert. (Klöppel et al., 2005; Plöckinger et al., 2004)

Bei den gut differenzierten GEP-NET des Kolons und Rektums konnten zwei prädominante Zelltypen identifiziert werden. Rektale Tumore stellen meist L-Zell-Tumore dar, während die seltenen hoch differenzierten GEP-NET des Kolons den EC-Zell-Tumoren zugeordnet werden können. Diese Zuordnung steht bisher in keinem offensichtlichen klinischen Zusammenhang, bietet jedoch die Möglichkeit, dem Zelltyp entsprechende Marker einzusetzen. Bei den rektalen L-Zell-Tumoren sind dies Glukagon, Glicentin, Peptid YY sowie Pankreatisches Polypeptid. Die EC-Tumore zeigen die eigentlich für sie typische Serotonin-Produktion selten im Kolon (Klöppel et al., 2005; Ramage et al., 2008).

1.4.1.1 Spezifische Marker in der histologischen Diagnostik

Synaptophysin ist in nahezu allen Neuronen vorhanden und dient als transmembranäres Protein der präsynaptischen, intrazellulären Vesikel. Durch sein ubiquitäres Vorkommen auf kleinen Vesikeln – unabhängig von sekretorischer Granula – eignet es sich ergänzend zu CgA als sensitiver und sehr spezifischer Marker für NET (Kasprzak et al., 2007). CgA, ein Protein der Sekretgranula, ist ein Universalmarker des neuroendokrinen Phänotyps und weist als solches eine granuläre Färbereaktion auf. Die Intensität der Färbereaktion steht im Zusammenhang mit der Konzentration an neurosekretorischer Granula in der Zelle. Je mehr Granula vorliegen, desto stärker ist die Anfärbung. Neben Neoplasien neuroendokriner Genese, zu denen auch kleinzellige Lungenkarzinome und Prostatakzinome zählen können, kann CgA auch in Tumoren des

Pankreas und der Niere sowie solchen, die dem Nervensystem entstammen, immunhistochemisch nachgewiesen werden. Auch in Hyperplasien neuroendokriner Zellen wie ECL-Zellen bei der chronisch atrophischen Gastritis fällt diese Nachweismethode stark positiv aus (Eriksson et al., 2000). In der Diagnostik der GEP-NET hat sich die Kombination der beiden Marker CgA und Synaptophysin bewährt, um Chromogranin-negative NET nicht zu übersehen (Williams, 2007).

1.4.1.2 Plasmatische Tumormarker

Die primäre Diagnostik neuroendokriner Tumore ist häufig biochemischer Natur. Ein guter Tumormarker sollte drei Aufgaben erfüllen. Zunächst sollte er eine Diagnosestellung erlauben, dann den Verlauf der Krankheit und das Verhalten des Tumors auf eine Therapie anzeigen und zuletzt als ein Prognoseparameter dienen (Ardill et al., 2003).

Bei den Tumormarkern wird zwischen spezifischen und allgemeinen Markern unterschieden. Zu den spezifischen Markern, die sich nur bei funktionell aktiven NET finden, zählen die jeweilig vom Tumor autonom sekretierten Hormone. Allgemeine Tumormarker können bei allen neuroendokrinen Tumoren nachgewiesen werden und liegen unabhängig von der Funktionalität und Lokalisation vor. Zu ihnen gehören die Chromogranine, das Pankreatische Polypeptid, Subunits des β -humanes Choriongonadotropin (β -HCG) und die Neuronen-spezifische Enolase (NSE) (Eriksson et al., 2000).

1.4.1.3 Chromogranin A

Chromogranin A als Hauptvertreter der Chromogranin-Familie ist ein saures und wasserlösliches Glykoprotein. Es wird in neuroendokrinen Zellen zusammen mit weiteren Vertretern der Chromogranin/Sekretogranin-Familie und den dort vorhandenen Hormonen, biogenen Aminen und Neurotransmittern in der Matrix der optisch dichten Vesikeln gespeichert und kann nach entsprechenden Stimuli in die systemische Zirkulation abgegeben werden (Taupenot et al., 2003). Chromogranine sind an vielen Stoffwechselprozessen beteiligt, sie steuern den Transport der Botenstoffe in die Vesikel und regeln über partielle autoproteolytische Spaltung die Exozytose der granulären Inhaltsstoffe (Taupenot et al., 2003).

CgA ist ein Proprotein, das verschiedene Domänen dibasischer Aminosäuren enthält, die zu gewebespezifischen biologisch aktiven Peptiden prozessiert werden können. Je nach gewebespezifischen Proteasen können so verschiedene Derivate wie Pankreastatin, Vasostatin, Parastatin und Chromostatin entstehen. Diese werden gemeinsam sezerniert und können autokrin-, parakrin- und endokrin-modulatorische Effekte ausführen, wie zum Beispiel die Anhebung des Blutglukosespiegel (Pankreastatin), die Vasokonstriktion (Vasostatin I und II) oder antibakterielle Effekte bewirken (Prochromacin, Chromacin I und II, Vasostatin) (Taupenot et al., 2003).

Die ubiquitäre Expression in neuroendokrinen Geweben und die gemeinsame Sekretion mit anderen Hormonen machen das CgA zu einem guten Gewebe- und Serummarker neuroendokriner Neoplasien. Die Ergebnisse der Immunhistochemie und der Serum- und Plasmadiagnostik müssen allerdings getrennt voneinander bewertet werden, da bei gastrointestinalen Tumoren keine Korrelation zwischen der Expression in beiden Nachweismethoden besteht (Gregorc et al., 2007).

Zum histologischen Nachweis der Expression verschiedener Antigene im Gewebeverband oder der Einzelzelle zum Rückschluss auf spezifische Zell- und Gewebefunktionen werden immunhistochemische Verfahren verwendet. CgA wird wegen seiner hohen Sensitivität als immunhistochemischer Breitbandmarker zur Identifizierung neuroendokriner Zellen genutzt.

Mit hoher Sensitivität und Spezifität eignet sich der panendokrine Marker für die serologische Diagnostik und therapeutische Evaluation von GEP-NET (Kasprzak et al., 2007).

Als besonders stabiles und gut reagierendes Protein eignet sich CgA gut für die Diagnostik. Einige Assay-Systeme bestimmen dabei nicht direkt CgA sondern eines seiner Spaltprodukte, was zu verschiedenen Ergebnissen bei den Assays führen kann und die Vergleichbarkeit der Systeme verhindert (Eriksson et al., 2000; Öberg, 2005; Taupenot et al., 2003).

Die plasmatische Quantifizierung anderer Granine und derer Derivate kann diagnostisch sinnvoll sein und wird bei verschiedenen Tumorentitäten wie zum Beispiel bei Prolaktin-produzierenden Tumoren des Hypophysenvorderlappens,

bei pankreatischen Insellzell-Tumoren und kleinzelligen Bronchialkarzinomen verwendet (Taupenot et al., 2003).

Um hohe CgA –Werte nicht irrtümlich als Beweis eines NET zu deuten, sollte besonders auf Patienten mit Nieren- und Leberbeeinträchtigung, chronisch atrophischer Gastritis, chronischen Darminfektionen, ECL-Zell-Hyperplasie, primärer parathyreoidaler Hyperplasie, thyreoidaler C-Zell-Hyperplasie, physischem Stress und Einnahme von Protonenpumpen-Hemmern geachtet werden. In solchen Fällen ist ein Anstieg der CgA - Konzentration nicht zuverlässig genug, um zwischen einer neuroendokrinen Hyperplasie, einem Adenom oder Karzinom zu unterscheiden (Campana et al., 2007; Eriksson et al., 2000; Gregorc et al., 2007; Namwongprom et al., 2008; Taupenot et al., 2003).

1.4.1.4 Serotonin / 5-HIES

Die derzeit spezifischsten Marker für GEP-NET des *midgut* sind Serotonin oder sein Metabolit 5-Hydroxy-Indol-Essigsäure (5-HIES). Die Spezifität liegt bei fast 100%, aber die Sensitivität ist mit 35,1% sehr gering (Bajetta et al., 1999). Da Serotonin in den Thrombozyten gespeichert wird, ist seine Bestimmung im Serum problematisch, da es bei einer Blutentnahme freigesetzt werden und so zu falsch hohen Werten führen kann (Arnold, 2004). Aus diesem Grund hat sich in der klinischen Routine die Bestimmung der Metaboliten 5-HIES im 24h-Sammelurin durchgesetzt.

Die Konzentrationen von Serotonin bzw. 5-HIES sind bei GEP-NET der *foregut* und *hindgut* Tumoren häufig geringer als bei GEP-NET des *midgut*. Zwar haben Patienten mit GEP-NET des *midgut* durchschnittlich höhere Werte für 5-HIES, jedoch korrelieren diese nicht mit der Schwere des Karzinoid-Syndroms oder dem Ausmaß der Metastasierung (Onaitis et al., 2000; Shebani et al., 1999).

1.4.1.5 Weitere Tumormarker

Das Neurokinin A (NKA) als ein wichtiger Vertreter der Tachykinin-Familie ist vor allem bei Patienten mit neuroendokrinen Tumoren des *midgut* erhöht. Ebenso wie Substanz P hat es neben Beeinflussung der gastrointestinalen Motilität, Vasodilatation und *Flush*-Entwicklung auch Auswirkungen auf Lymphozyten und die Mastzelldegranulation. Zusammen mit der Substanz P wird es in klassi-

schen neuroendokrinen Tumoren des *midgut* gespeichert und gegebenenfalls sekretiert.

Die Konzentration der prostataspezifischen sauren Phosphatase ist in 80-100% der rektalen Karzinoide erhöht. Zur Diagnostik eines rektalen NET kann ferner eine Bestimmung von β -HCG, Enteroglukagon- und Pankreatisches Polypeptid-Konzentrationen sinnvoll sein (Ramage et al., 2008).

1.4.2 Bildgebende Diagnostik

Ein ausreichender, evidenzbasierter, standardisierter Algorithmus zur diagnostischen Bildgebung steht aufgrund der Heterogenität und der geringen Inzidenz der GEP-NET nicht zur Verfügung. Eine adäquate biochemische und klinische Klassifizierung ist somit unumgänglich, da diese neben der Tumorlokalisierung einen wesentlich Einfluss auf die bildgebende Modalität hat. Die Wahl der optimalen bildgebenden Methode ist außerdem davon abhängig, ob damit die Lokalisation des Primärtumors, die Ausdehnungsdiagnostik oder eine Metastasensuche durchgeführt werden soll (Ramage et al., 2008).

1.4.2.1 Sonographie

Die abdominelle Sonographie ist ein wertvolles Routineverfahren der klinischen Diagnostik und wird meist initial eingesetzt. Limitierend auf die Sonographie ist ihre Abhängigkeit von den Erfahrungen des Untersuchers, weswegen die Sensitivität lediglich auf 50-60% beziffert wird. Zur Detektion stark hypervaskularisierter Leberfiliae können unterstützend Kontrastmittel und die Dopplersonographie genutzt werden. Die Sonographie eignet sich auch besonders zur Entnahme von Leberbiopsien. Der endoskopische Ultraschall hat sich besonders zur Detektion kleiner pankreatischer Läsionen etabliert. Ein endoanaler oder rektaler Ultraschall ist in der präoperativen Diagnostik sehr sinnvoll, da genaue Informationen über Tumorgröße, Tiefe der Invasion und der pararektalen Lymphknoten gegeben werden können. Die Sensitivität der endoskopischen Sonographie erreicht dabei bis zu 90% (Modlin et al., 2006; Ramage et al., 2008).

1.4.2.2 Endoskopie

Die Mehrheit der rektalen NET wird endoskopisch diagnostiziert. Da viele Läsionen in Form von Polypen auftreten, sollte eine anschließende histologische

Untersuchung stattfinden. Auf die Möglichkeit eines synchron vorhandenen Karzinoms muss dabei geachtet werden (Ramage et al., 2008).

Bei neuroendokrinen Tumoren des Magens stellt die Endoskopie eine frequentierte und sensitive Modalität dar. In der Diagnostik der GEP-NET des *midgut* spielt sie aufgrund ihrer geringeren Sensitivität aber nur eine untergeordnete Rolle. Nur in Spezialfällen wird eine Push and Pull Intestinoskopie oder eine Kapselendoskopie durchgeführt.

1.4.2.3 Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT)

Die Computertomographie und die Magnetresonanztomographie stellen wesentlich sensitivere Methoden als der Ultraschall in der Primärdiagnostik und Metastassuche dar. Die CT, kontrastmittelunterstützt und in Mehrschichttechnik, eignet sich nicht nur zur Primärtumorgrößenbestimmung sondern auch zum Staging von Abdomen, Beckenboden und mesenterialen Lymphknoten. Die MRT wird vor allem zur Diagnostik der Tumorausdehnung pelviner Strukturen genutzt und lässt Aussagen zur Resektabilität treffen. Für die Pankreasdiagnostik hat sich die Kombination der tomographischen Darstellung mit der MR-Cholangiopankreatikographie (MRCP) und MR-Angiographie etabliert. CT und MRT haben eine mittlere Detektionsrate und Sensitivität von ca. 80% (Modlin et al., 2006; Ramage et al., 2008).

1.4.2.4 Somatostatinrezeptorszintigraphie

Die Somatostatinrezeptorszintigraphie stellt eine wichtige Methode zum Nachweis rezeptorpositiver GEP-NET und derer Metastasen dar. Von den fünf verschiedenen Somatostatinrezeptor-Typen (sst1-5) herrschen die Subtypen 2 und 5 in ca. 70% der GEP-NET vor. Radioaktiv markierte Somatostatinrezeptor-Analoga können so Somatostatinrezeptor 2- und 5-positive neuroendokrine Tumore lokalisieren. Bei Rezeptorpositivität ergibt sich zusätzlich die therapeutische Option der Radionuklidtherapie. Fehlende anatomische Informationen bei der Verwendung hochspezifischer Liganden können durch die Kombination mit der CT ersetzt werden. Neben der Ganzkörperdiagnostik stellt auch die Detektion kleiner Tumoren einen Grund für die Überlegenheit dieser Modalität dar. Die mediane Sensitivität liegt bei 84%. Zwar ist die SRS heute das primäre Verfahren in der bildgebenden Diagnostik neuroendokriner Tumore, für GEP-NET

des *hindgut* ist der Nutzen dieser Technik jedoch geringer einzuschätzen, da sie meist Rezeptor-negativ sind (Modlin et al., 2005; Ramage et al., 2008).

1.4.2.5 DOTATOC-PET/CT

Durch den Einsatz von Somatostatinrezeptor-Analoga markiert mit Positronenemittern wie dem ^{68}Ga -DOTA-TOC kann eine weitere Steigerung der Sensitivität erreicht werden. ^{68}Ga -DOTA-TOC ist eine neuere Methode, die bereits regelmäßig in größeren Zentren zur Initialdiagnostik, zum Staging und zur Verlaufskontrolle genutzt wird. Sie zeigt eine höhere Detektionsrate nicht nur im Vergleich mit konventioneller Somatostatinrezeptorzintigraphie sondern auch mit diagnostischer CT. Vor allem bei kleineren Läsionen oder Knochenmetastasen gibt diese Modalität bei Fusion mit einer CT genaueren Aufschluss auf die anatomische Lokalisation (Gabriel et al., 2007). Ob sich durch den zusätzlichen Informationsgewinn jedoch eine klinische Relevanz ergibt, ist bislang nicht belegt.

1.5 Metastasierung

Die häufigsten Lokalisationen der Metastasen aller GEP-NET sind die Lymphknoten, die Leber, die Lunge und das Peritoneum (Modlin et al., 2003).

Aufgrund der Abwesenheit früher klinischer Symptome werden NET des Kolon häufig erst in einem ausgedehnt metastasierten Stadium erkannt. Die Metastasen finden sich dann vor allem in der Leber, in den Lymphknoten, im Mesenterium und/oder dem Peritoneum (Ramage et al., 2008).

Kleine rektale NET (<2cm) metastasieren selten. Größere Tumore metastasieren auch in Knochen, Lymphknoten und Leber. Eine Fernmetastasierung bei rektalen NET konnte lediglich in 2,3% der Fälle verzeichnet werden (Ramage et al., 2008; Tomoda et al., 1989).

1.6 Das Karzinoid-Syndrom und die Karzinoid-Herzkrankung

Das Karzinoid-Syndrom ist durch die klinischen Symptome *Flush*, Diarrhoe und Bauchschmerzen gekennzeichnet. Meist liegt ein metastasiertes Tumorleiden vor, dessen Primarius im distalen Jejunum, Ileum, Ileozäkalbereich oder Bronchialsystem lokalisiert ist. Hervorgerufen wird das Syndrom durch die Freisetzung biogener Amine wie Serotonin oder Neuropeptide wie Tachykinine und

Bradykinine (Klöppel et al., 2005). Abbildung 1 zeigt schematisch den natürlichen Krankheitsverlauf dieser tumorassoziierten Komplikation bis hin zum Tod auf.

Für die biochemische Diagnostik ist der Serotoninmetabolit 5-Hydroxy-Indol-Essigsäure (5-HIES) von Bedeutung, da er Rückschlüsse auf die Serotonin-Produktion zulässt (Zuetenhorst et al., 2003). Serotonin ist mitverantwortlich für die Entwicklung einer Karzinoid-Herzerkrankung, die durch die Entwicklung einer Endokardfibrose des rechten Herzens und nachfolgend einer Rechtsherzinsuffizienz gekennzeichnet ist. Die Dauer der Serotoninbelastung, genetische Disposition und kosekretierte Metabolite wirken als additive Faktoren bei der Entwicklung einer Karzinoid-Herzerkrankung (Westberg et al., 2001; Zuetenhorst et al., 2003).

Therapeutisch stehen für das Karzinoid-Syndrom und der Karzinoid-Herzerkrankung die Reduktion der Tumorlast durch Resektion des Primärtumors und ein Tumordebulking im Vordergrund. Ein frühzeitiger Klappenersatz der Trikuspidalklappe steht bei fortgeschrittener Karzinoid-Herzerkrankung im Vordergrund. Für die konservative Therapie stehen Somatostatinanaloga und Interferon- α zur Verfügung (Zuetenhorst et al., 2003).

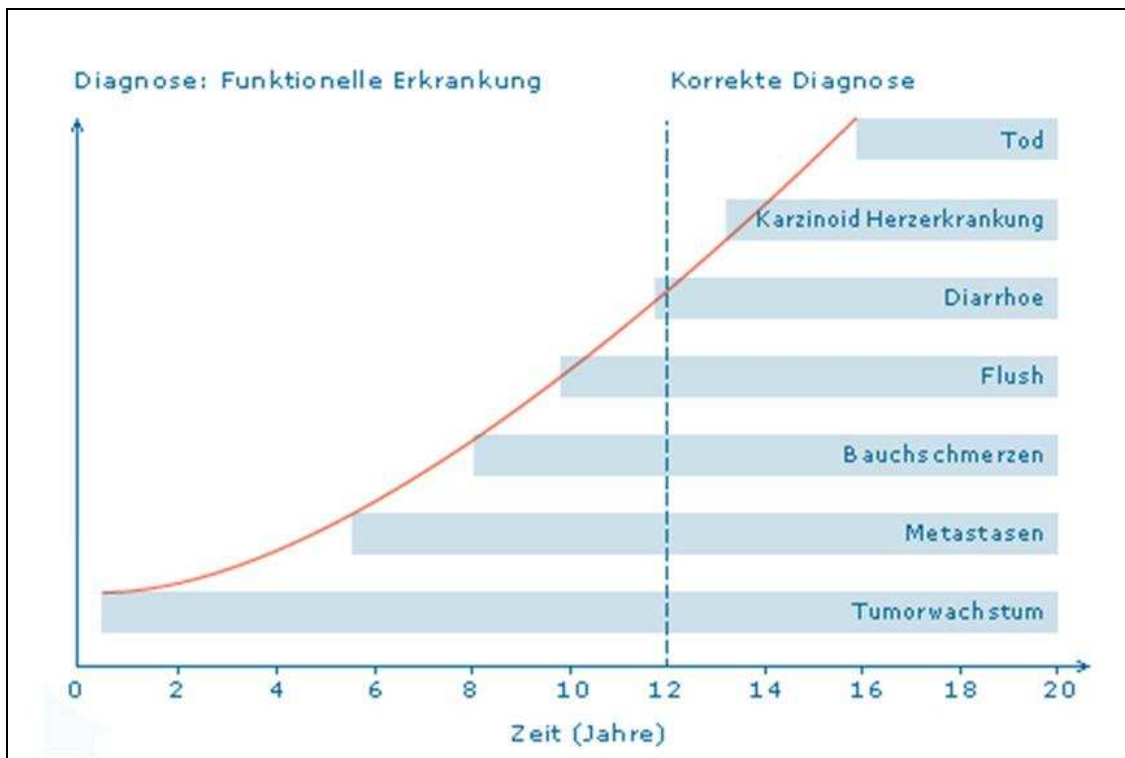


Abbildung 1: Natürlicher Krankheitsverlauf bei Patienten mit Karzinoïd-Syndrom

Modifiziert nach (Vinik et al., 1989)

1.7 Therapie der GEP-NET

Die klinische Heterogenität der NET erfordert häufig interdisziplinäre Therapieentscheidungen. Die Behandlung der Patienten mit GEP-NET kann dabei verschiedene therapeutische Ziele verfolgen wie die komplette Entfernung des Tumors, die Kontrolle exzessiver Hormonsekretion oder die Begrenzung des lokalen Tumorwachstums. Chirurgische Maßnahmen stellen derzeit die einzige Therapie mit kurativer Intention dar.

Im metastasierten, palliativen Krankheitsstadium sollen lokale Verfahren zur Reduktion der Tumorlast (debulking) oder Embolisation sowie systemische Therapieformen wie Chemotherapie, Biotherapie, Radionuklid-Therapie oder molekulare Therapien in Abhängigkeit der Primärtumorlokalisation, der Prognose des Patienten, sowie der Belastung des Patienten durch das jeweilige Verfahren diskutiert werden (Öberg, 2005). Eine Aufstellung verschiedener Schemata ist in Abbildung 2 dargestellt. Eine Entscheidung über die jeweilige zu wählende

Therapieform muss jedoch immer individuell und interdisziplinär getroffen werden.

Chirurgie	<ul style="list-style-type: none"> •Entfernung des Primärtumors •Tumordebulking • Lebertransplantation
Ablative Verfahren	<ul style="list-style-type: none"> •Chemoembolisation •Radiofrequenzablation •Alkoholablation •Radiochirurgie •SIRT
Rezeptorgerichtete Radiopeptidtherapie	<ul style="list-style-type: none"> •¹¹¹Indium •⁹⁰Yttrium •¹⁷⁷Lutetium
Chemotherapie	<ul style="list-style-type: none"> •Streptozocin •Doxorubicin •Cisplatin •Etoposid •Dacarbazin •andere
Biotherapie	<ul style="list-style-type: none"> •Octreotide •Interferon
Medikamente	<ul style="list-style-type: none"> •Protonenpumpeninhibitoren bei Zollinger-Ellison-Syndrom

Abbildung 2: Therapiemöglichkeiten bei Patienten mit neuroendokrinen Tumoren

Modifiziert nach (Arnold, 2005)

1.8 Verlaufskontrolle

Patienten, die mit GEP-NET behandelt wurden, sollten sich in regelmäßigen Abständen einer Verlaufskontrolle unterziehen. Die Untersuchungsintervalle sind sehr abhängig von der Tumoraktivität. Generell sollten bei einer Verlaufskontrolle spezifische und unspezifische biochemische Marker bestimmt, sowie regelmäßig bildgebende Kontrollen durchgeführt werden. Die routinemäßige Bestimmung einzelner tumorspezifischer Marker in der Verlaufskontrolle ist dabei abhängig vom jeweiligen Tumorsyndrom sowie dessen Expressionsverhalten bei Diagnosestellung (Öberg et al., 2008). Regelmäßig innerhalb der nächsten 10 Jahre sollten bei Patienten mit rektalen NET ein endoskopischer

Ultraschall, eine Koloskopie und eine MRT, für solche aus dem Kolon eine Koloskopie und eine CT veranlasst werden (Ramage et al., 2008).

1.9 Prognose

GEP-NET sind normalerweise gut differenzierte Tumore mit langsamem Wachstum, welches mit einer guten Prognose korreliert. In seltenen Fällen wachsen einige dieser Tumore schneller, was sich in einem weniger günstigen Überleben widerspiegelt. Die 5-Jahres-Überlebensrate aller GEP-NET liegt bei 67% und ist stark abhängig von Tumorgroße und -histologie, dem Vorhandensein und der Lokalisation von Metastasen bei Diagnosestellung sowie der Proliferationsrate des Tumors (Modlin et al., 2003). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Höhe des CgA bei Patienten mit GEP-NET des *midgut* eine prognostische Aussage für diese Patienten erlaubt (Arnold et al., 2008). Bei Diagnosestellung ist eine genaue Aussage über das jeweilige Verhalten des Tumors sowie die individuelle Einschätzung der Prognose des einzelnen Patienten häufig schwierig, da die Prognose dieser Tumorerkrankung das Ergebnis vieler Variablen ist, die den weiteren Verlauf günstig oder ungünstig beeinflussen (Arnold, 2004; Onaitis et al., 2000).

Während Patienten mit einem zufällig gefundenen, asymptomatischen GEP-NET häufig durch chirurgische Resektion geheilt werden können, ist die Prognose bei Patienten mit einem Karzinoid-Syndrom deutlich ungünstiger (Shebani et al., 1999).

NET des Kolon weisen die schlechteste 5-Jahres-Überlebensrate (zwischen 40-70%) aller GEP-NET auf, da sie meist erst in fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert werden. Bei rektalen GEP-NET ist die Prognose mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 80% deutlich günstiger. Sie variiert aber stark, je nachdem, ob es sich um einen lokalen oder ausgebreiteten Prozess handelt (Modlin et al., 2003; Ramage et al., 2008).

2 Fragestellung

Für GEP-NET des *midgut* konnte Chromogranin A als ein zuverlässiger Diagnose- und Verlaufsparemeter klassifiziert werden. Dort besteht ein Zusammenhang zwischen CgA, der Tumorlast und dem Überleben der Patienten mit GEP-NET. Gerade plötzliche CgA-Anstiege konnten als Zeichen einer Progression der hepatischen Tumorlast isoliert werden.

Derzeit existieren nur wenige Daten über die Bedeutung von CgA bei GEP-NET des *hindgut*. Aufgrund der schlechten Datenlage - beruhend auf ihrer geringen Inzidenz - werden diese Tumore meist in einer Gruppe mit den Tumoren des *midgut* zusammengefasst.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, die Bedeutung von CgA bei der Diagnosestellung und während des Krankheitsverlaufs von Patienten mit GEP-NET des *hindgut* zu evaluieren. Es soll im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden, ob Chromogranin A einen angemessenen Parameter bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut* darstellt, um Aussagen über die Prognose der betroffenen Patienten und das Auftreten tumorassoziierter Komplikation, wie dem Karzinoid-Syndrom, zu treffen. Ferner soll untersucht werden ob aufgrund verschiedener Kriterien Subgruppierungen gemacht werden können und ob anhand dieser Einteilungen eine Aussage über die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten getroffen werden kann. Dafür wurden retrospektiv die Einträge der Marburger Tumordatenbank für neuroendokrine Tumore bezüglich dieser Tumorentität ausgewertet.

3 Patienten und Methoden

3.1 Patienten

Im Klinikum der Philipps-Universität Marburg wurde 1988 eine Datenbank für Patienten mit GEP-NET eingerichtet, in der Daten zum klinischen Verlauf, zur Histopathologie, zu radiologischen Befunden und Laborparametern, zur Behandlung, dem Auftreten tumorassoziierter Komplikationen und zum Überleben aufgenommen wurden. Gegenwärtig gibt es in diesem Tumorregister 28 Patienten, die an einem neuroendokrinen Tumor des Kolons oder Rektums erkrankt sind. Genauere Informationen über das Patientenkollektiv sind dem Ergebnisteil zu entnehmen.

3.2 Methoden

3.2.1 Chromogranin A-Bestimmung im Plasma

Die CgA-Bestimmungen erfolgten mittels eines Radioimmunoassays der Firma DakoCytomation (Glostrup/Dänemark) aus dem Serum der betroffenen Patienten. Der Chromogranin A ELISA-Kit beruht auf einem vereinfachten Doppelantikörper-Sandwich-Assay, der seit 1995 unverändert im Routineprogramm der Abteilung für klinische Chemie des Marburger Klinikums etabliert ist. Der Assay verwendet einen polyklonalen Kaninchenantikörper, der gegen ein 23kDa C-terminales Fragment des humanen CgA gerichtet ist. Die CgA-Standards des Kits sind gegenüber dem C-terminalen Fragment kalibriert. Die mit dem Kit bestimmten CgA-Konzentrationen werden in U/l angegeben. Der von der Firma angegebene Normalwert liegt zwischen 0 und 100 U/l (Bereich von 2-18 U/l). Der *cut-off*-Wert für signifikant erhöhte CgA - Plasmawerte wurde auf 50 U/l gesetzt. Die CgA-Werte wurden ausnahmslos in den Laboren der klinischen Chemie der Universität Marburg gemessen, die dazu seit Januar 1995 einen unveränderten ELISA verwendet.

3.2.2 Histologische Diagnostik

Für die in der Pathologie des Universitätsklinikums Marburg untersuchten Gewebeprobe der NET wurden standardisierte immunhistochemische Protokolle der ABC-Methode (Avidin-Biotin-Complex) für Chromogranin A, Synaptophysin

und Ki-67 benutzt. Es wurden Antikörper der Firma Dako verwendet (Katalognummern: CgA: A0430, Synaptophysin: M0776, ki-67: M7240).

Nach dem Schneiden der Gewebeblöcke und dem Aufziehen auf die Objektträger erfolgte zunächst die Entparaffinisierung durch ein 2 x 3 minütiges Xylen-Bad. Fortgeführt wurde mit mehreren Xylen-Alkohol-Bädern (Verhältnis 1:1) in einer absteigenden Alkoholreihe: 100% Ethanol für 3 Minuten, 100% Ethanol 2 x 3 Minuten, anschließend jeweils für 3 Minuten bei 95%, danach 70% und 50% Ethanol. Nach Abspülen mit fließendem kaltem Wasser und Spülung in einer Pufferlösung (*PBS-Tween 20*) für 2 x 2 Minuten erfolgte die Antigendemaskierung unter Verwendung einer IHC-Tek™ *Epitope Retrieval Solution*. Anschließend wurden die Proben bei einer Verdünnung von 1:200 für eine Stunde bei Raumtemperatur mit dem jeweiligen Primärantikörper inkubiert. Nach einer Peroxidaseblockung erfolgte ein weiterer Spülvorgang in der genannten Pufferlösung für 3 x 2 Minuten. Daraufhin wurden die Proben mit dem Sekundärantikörper für 30 Minuten inkubiert und anschließend in der Pufferlösung für 3 x 2 Minuten gespült. Zur Detektion, die dazu dient die an die entsprechenden Proteine im Präparat gebundenen Antikörper farbig zu markieren, erfolgte die Inkubation in einer ABC-Peroxidase-Lösung für 30 Minuten. Nach einem weiteren Spülvorgang von 3 x 2 Minuten wurden die Proben in einer Peroxidase-Substrat-Lösung inkubiert, anschließend gespült (3 x 2 Minuten) und dann mit Hämatoxylin-Eosin gegengefärbt. Nach 2 - 5-minütigem Abspülen unter fließendem Wasser wurde die Dehydratation mit 95% Ethanol für eine Minute und 100% Ethanol für 2 x 3 Minuten durchgeführt. Eine letzte Säuberung in einem Xylen-Bad schloss die immunhistochemischen Färbungen ab.

In der lichtmikroskopischen Auswertung wurden die Präparate komplett durchgerastert. Jede der Tumorproben wurde zur immunhistochemischen Quantifizierung von CgA und Synaptophysin in die Kriterien stark positiv, positiv, schwach/fokal positiv und negativ eingestuft.

Zur Bestimmung des Ki67-Proliferationsindices wurden in mehreren Gesichtsfeldern durch den Antikörper markierte sowie unmarkierte Zellkerne gezählt und in Relation gesetzt. Es wurde darauf geachtet, dass die Felder bei besonders stark positiven CgA-Arealen lagen.

3.2.3 Serotonin und 5-HIES -Bestimmung

Serotonin kann in Serum, Urin, Thrombozyten, Plasma (plättchenfrei) und zerebrospinaler Flüssigkeit gemessen werden. Für die vorliegende Studie wurden die Messungen im Serum mit einem Serotonin ELISA der Firma DRG Instruments (Marburg, Deutschland) durchgeführt. Das Immunoassay-kit beinhaltet ein Serotonin Antiserum vom Kaninchen, der mit der löslichen zu analysierenden Flüssigkeit reagiert. Ein Anti-Kaninchen IgG Konjugat mit Peroxidase und als Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) binden an diesen Komplex und können bei einer Wellenlänge von 450nm im Photometer gemessen werden. Die Ergebnisse werden in ng/ml angegeben. Im Serum wird für Frauen ein Referenzbereich von 80-450 ng/ml angegeben, für Männer 40-400.

5-HIES im 24-Stunden-Urin wurde mittels Hochdruckchromatographie (HPLC) der Firma Chromsystems Instruments & Chemical GmbH (München, Deutschland) gemessen. Die Substanz wird durch ein Ionenaustauschermaterial aus der Urinmatrix vorgetrennt, bevor sie chromatographisch herausgetrennt wird. Das Chromsystem HPLC-Reagenzienkit benutzt eine ausgewählte HPLC-Säule zusammen mit einer mobilen Phase, wodurch eine hochdruckflüssigkeitschromatographische Quantifizierung erfolgt. Das eingesetzte elektrochemische Messprinzip ist die Amperometrie mit einem konstanten Arbeitspotential. Da 5-HIES im stark sauren Milieu (pH <3,0) instabil ist, sollte der 24-Stunden-Urin in einem geeigneten Gefäß über 10ml Eisessig gesammelt werden und bei +2 bis +8°C im Dunkeln aufbewahrt werden, um lichtinduzierte Degradationseffekte zu vermeiden. Die 5-HIES-Konzentration wird in mg/24h angegeben und liegt in einem Referenzbereich von 2,0-9,0 mg/24h.

3.2.4 CEA-Bestimmung

Die CEA-Bestimmungen erfolgten mittels eines Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) der Firma Roche. Der ECLIA-Assay benutzt zwei verschiedene Antikörper in einem Sandwich-Assay, einen biotinylierten monoklonalen Antikörper (Maus/human) und einen mit Ruthenium-Komplex markierten monoklonalen Mausantikörper, die mit den Epitopen 2 und 5 des CEA reagieren. Der von der Firma angegebene Referenzbereich ist kleiner 5 ng/ml.

4 Ergebnisse

Neuroendokrine Tumore des *hindgut* sind eine sehr seltene Entität der gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumore. Zwischen 1991 und 2008 wurde der Krankheitsverlauf von 28 Patienten mit dieser Primärtumorlokalisation an der Universitätsklinik der Philipps Universität Marburg registriert. Eine kleine Mehrheit dieser Patienten ist männlich (weiblich:11/28; männlich 17/28). Das mittlere Alter bei Diagnosestellung war $51,0 \pm 13,5$ Jahre. Die weiblichen Patienten waren durchschnittlich geringfügig jünger mit 48,0 Jahren (Männer 53,0 Jahre). Die klinischen Charakteristika der Patienten mit GEP-NET des *hindgut* sind in den Abbildungen 3, 4, 5 und 6 dargestellt.

Abbildung 3 zeigt die Häufigkeitsverteilung der Primärtumorlokalisationen der neuroendokrinen Tumore des untersuchten Patientenkollektivs: bei 8 Patienten zeigte sich der Primärtumor im Kolon, bei 20 Patienten im Rektum.

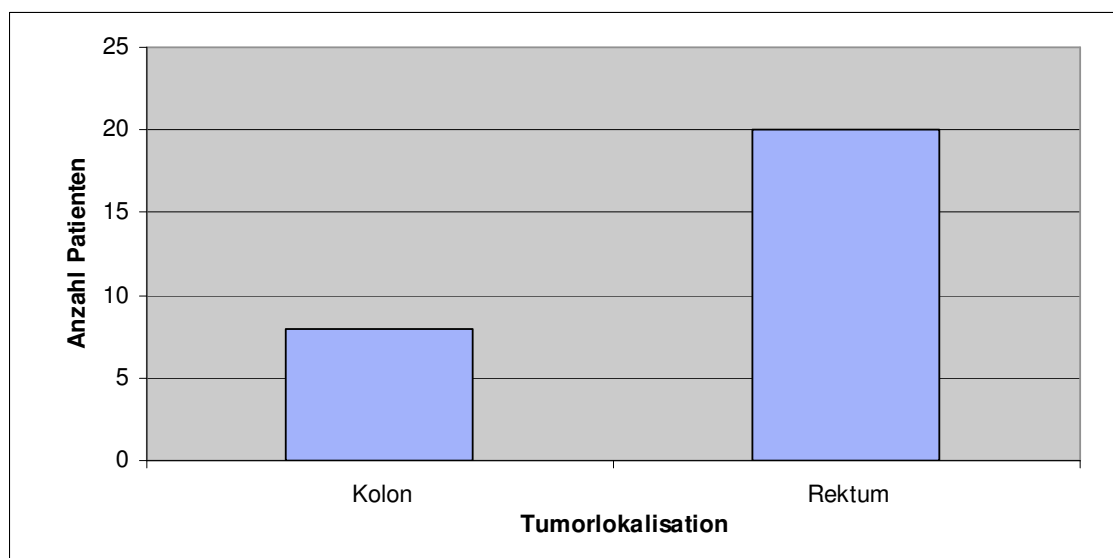


Abbildung 3: Lokalisation der neuroendokrinen Tumore des untersuchten Patientenkollektivs

Die Mehrheit der Patienten (20/28; 71,4%) zeigte bereits Metastasen bei Diagnosestellung. Wie in Abbildung 4 erkennbar, waren Metastasen am häufigsten in der Leber (16/20; 80,0%) oder in Lymphknoten (12/20; 60,0%) nachweisbar.

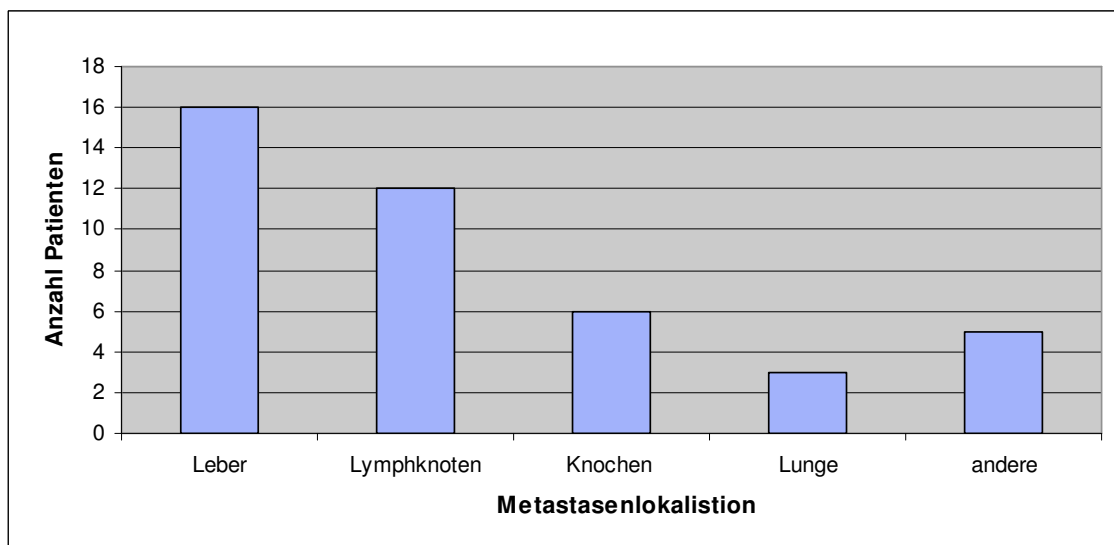


Abbildung 4: Metastasenlokalisationen

Abbildung 5 zeigt die verschiedenen Differenzierungsgrade der Primärtumore; bei 13 von 22 (59,1%) Patienten lag ein gut differenzierter Tumor (G1) vor, bei 3 Patienten ein G2- (13,6%) und bei 6 Patienten ein G3-Tumor (27,3%). Auffällig dabei war, dass 12 von den 13 Patienten mit G1 ein GEP-NET des Rektums aufwiesen.

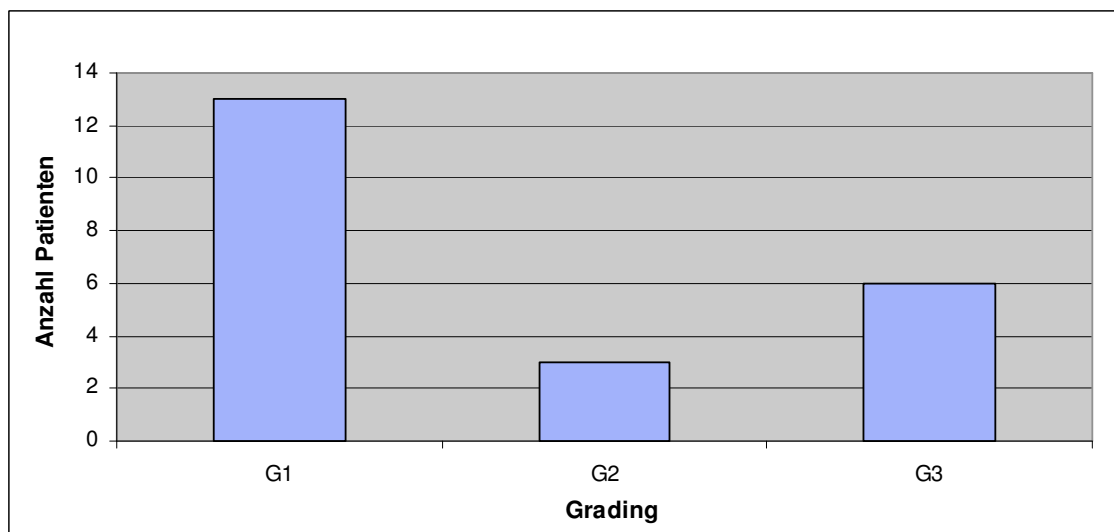


Abbildung 5: Grading der Primärtumore

Abbildung 6 lässt sich entnehmen, dass von 26 getesteten Patienten 14 Somatostatinrezeptor positiv (53,8%) und 12 Somatostatinrezeptor negativ (46,2%) waren.

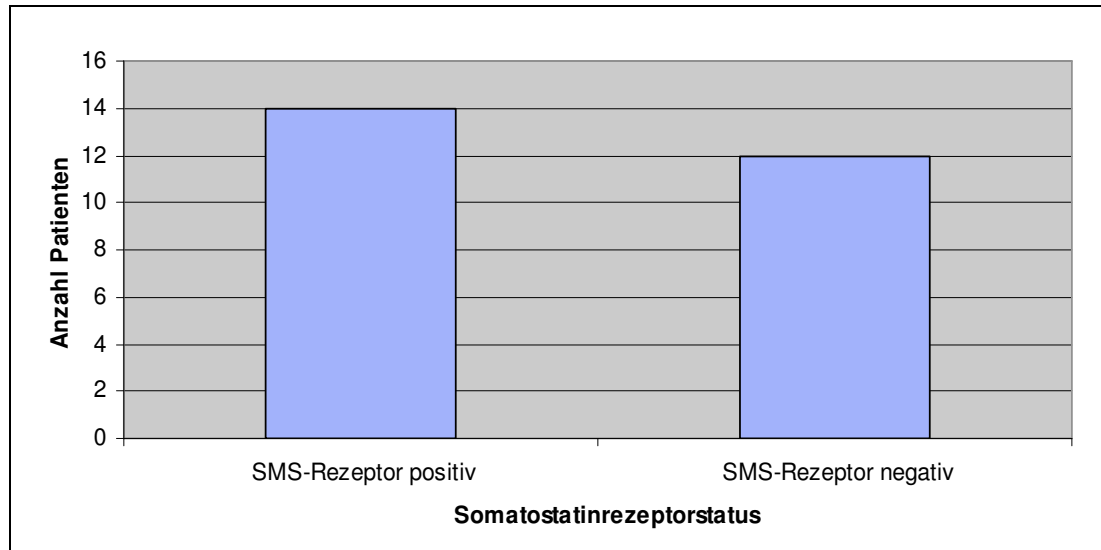


Abbildung 6: Somatostatinrezeptorstatus

4.1 Chromogranin A als histologischer Diagnoseparameter

Bei der histologischen Diagnostik der GEP-NET spielen Markerproteine wie Synaptophysin und Chromogranin A eine Hauptrolle in der klinischen Praxis. Es hat sich gezeigt, dass die Expression entweder von Synaptophysin oder von CgA für die histologische Diagnose eines neuroendokrinen Tumors im Gastrointestinaltrakt nötig ist. Im vorliegenden Patientenkollektiv hat sich bei 18 von 18 Patienten (100%) ein positiver Befund bei Synaptophysin oder CgA gezeigt. Lediglich zwei Gewebeproben der CgA-Färbung und eine Probe der Synaptophysin-Färbung zeigten keine Anfärbbarkeit mit dem jeweiligen Marker. Interessanterweise stellte sich in der histologischen Betrachtung der Tumorproben mit einer starken CgA Expression nur eine schwache oder keine Expression von Synaptophysin und vice versa.

Die Präparate wurden in die Kriterien stark positiv, positiv, schwach/lokal positiv und negativ eingestuft. Schwach positiv bedeutet, dass einzelne gefärbte Zellen vorliegen, während stark positive Befunde mehrere positive Zellen pro Blickfeld beinhalten. In negativen Proben waren keine angefärbten Zellen zu sehen. Die-

se Quantifizierung der histologischen Befunde für CgA und Synaptophysin sind in den Abbildungen 7 und 8 dargestellt. Auffallend war, dass bei den Färbungen mit CgA die Proben der als schlecht differenziert eingestuften Tumoren vermehrt schwach- oder nur lokal positive Ergebnisse im histologischen Bild zeigten. Bei den gut differenzierten Proben fiel eine stärkere und diffusere Anfärbung auf. Da insgesamt 88,9% der evaluierten Proben in der Histologie positiv für CgA waren (vergleiche Abbildung 7), erweist sich dies als ein guter Marker zur Verifizierung eines GEP-NET in der histologischen Tumordiagnostik.

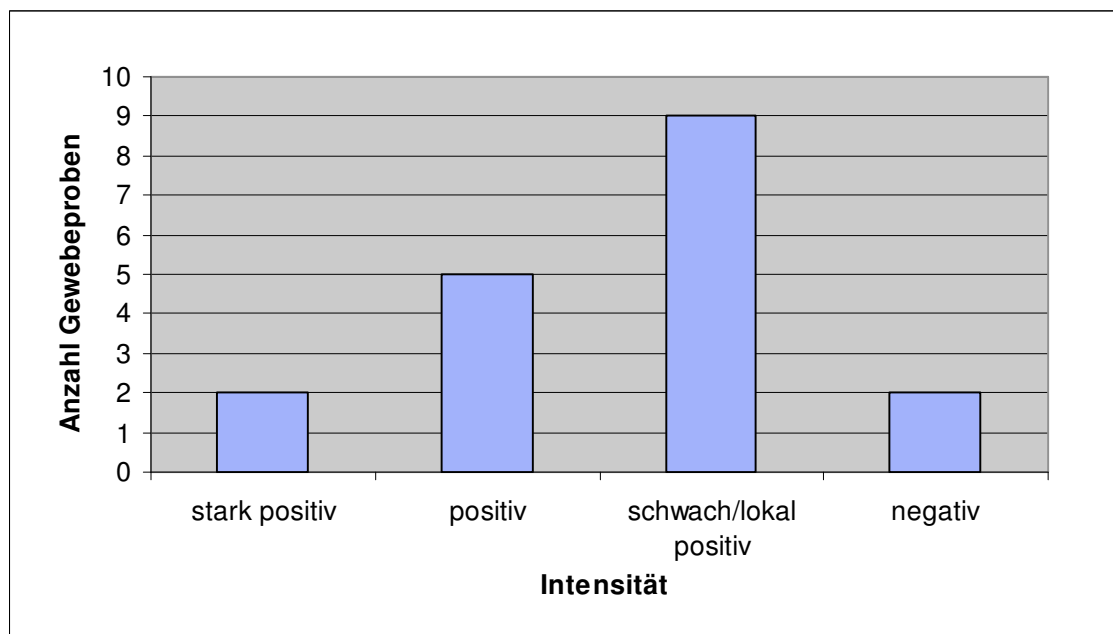


Abbildung 7: Intensität der immunohistochemischen Chromogranin A-Färbung

Die Synaptophysin-Anfärbbarkeit war sowohl bei den gut- als auch bei den schlecht differenzierten Tumoren vergleichsweise stärker ausgeprägt als die des CgA. Da sich insgesamt 94,4% der Tumorproben positiv für Synaptophysin zeigten, ist dies als ein zuverlässiger Parameter in der histologischen Diagnostik der neuroendokrinen Tumore zu werten (Abbildung 8).

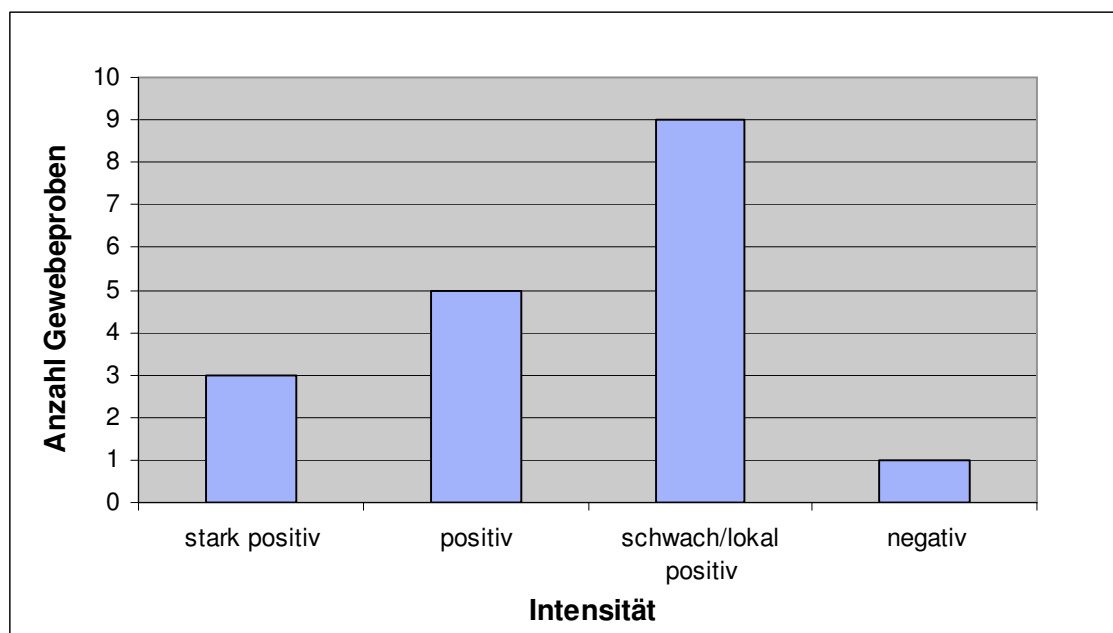


Abbildung 8: Intensität der immunohistochemischen Synaptophysin-Färbung

Abbildung 9 zeigt Beispiele der histologischen Schnitte der für diese Studie angefärbten Präparate für Chromogranin A und Synaptophysin bei jeweils einem gut differenzierten (G1/G2) und einem schlecht differenzierten Tumor (G3) des *hindgut*, sowie im Vergleich einem gut differenziertem (G1) Tumor des *midgut*. Sowohl die gut differenzierten als auch die schlecht differenzierten Tumore des *hindgut* zeigen eine immunhistochemische Expression von Synaptophysin und CgA. Allerdings ist – wie bereits zuvor beschrieben - das Signal bei den schlecht differenzierten Tumoren im Vergleich zu den gut differenzierten nur fokal positiv und die Expression von CgA ist stärker vermindert als jene von Synaptophysin. Auch ist in der Abbildung zu erkennen, dass sich bei dem in diesem Beispiel dargestellten gut differenzierten NET des *midgut* eine starke Expression der Markerproteine Synaptophysin und CgA in allen Zellen feststellen lässt.

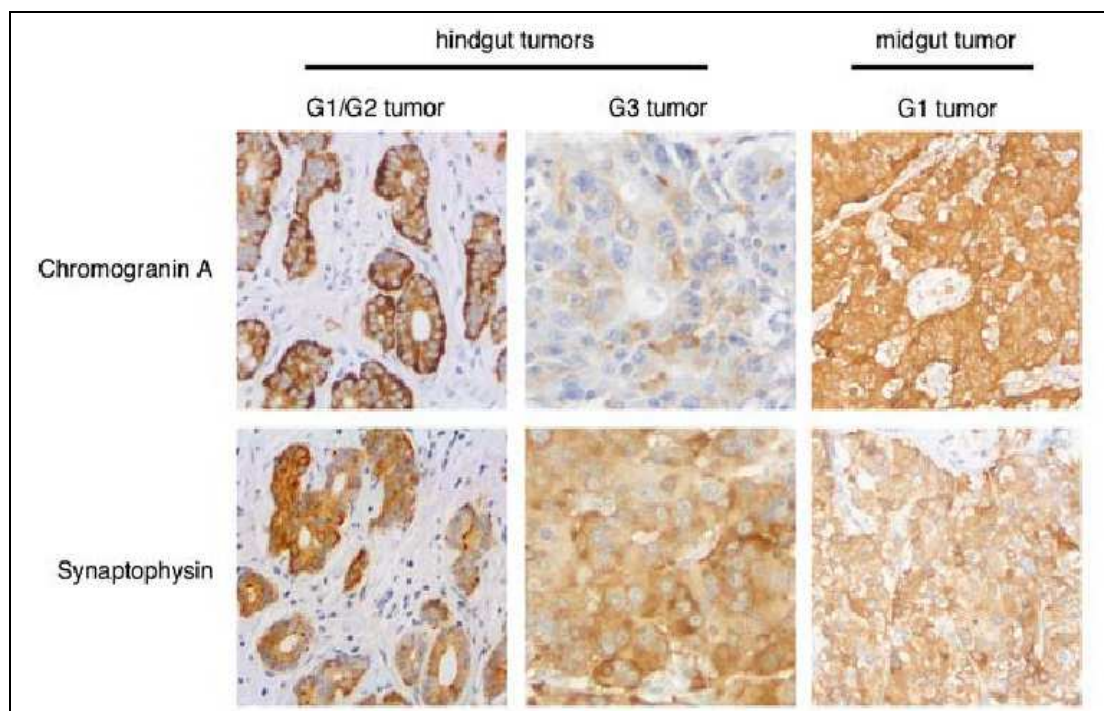


Abbildung 9: Immunhistochemische Beispielspräparate der Chromogranin A- und Synaptophysinfärbung von *hindgut*- und *midgut*-Tumorproben

4.2 Chromogranin A in der Serumdiagnostik

4.2.1 Diagnosestellung

In der Serumdiagnostik der GEP-NET werden routinemäßig neben dem Markerprotein CgA auch Serotonin und sein Abbauprodukt 5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIES) gemessen.

Wie in den Abbildungen 10 und 14 sowie in Tabelle 10 ersichtlich, konnte bei dem vorliegenden Patientenkollektiv mit GEP-NET des *hindgut* überraschenderweise keine signifikante Erhöhung der Serumkonzentration von CgA festgestellt werden - nur bei 3 von 26 Serumproben (11,5%) lag eine Konzentration des CgA über dem *cut-off*-Wert von 50 U/l vor, auch wenn die Expression des Proteins in der vorhergehenden Immunhistochemie verifiziert werden konnte.

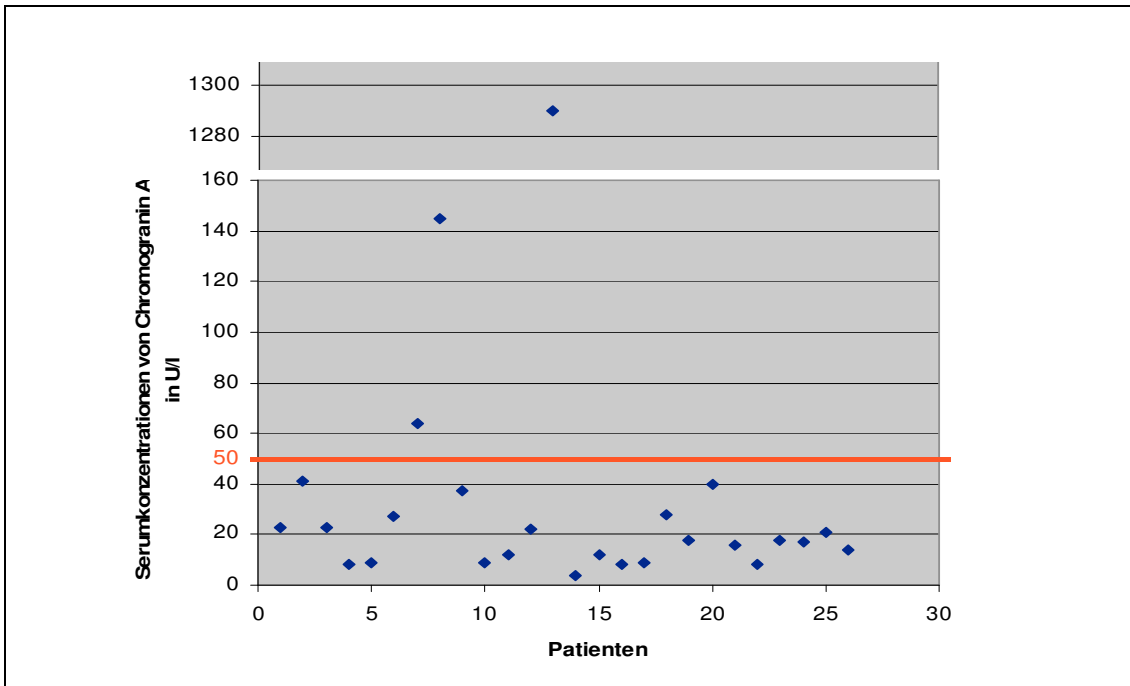


Abbildung 10: Serumkonzentrationen von Chromogranin A

Eine Erhöhung von Serotonin konnte nur bei 2 von 26 (7,7%) untersuchten Probanden nachgewiesen werden (Abbildung 11).

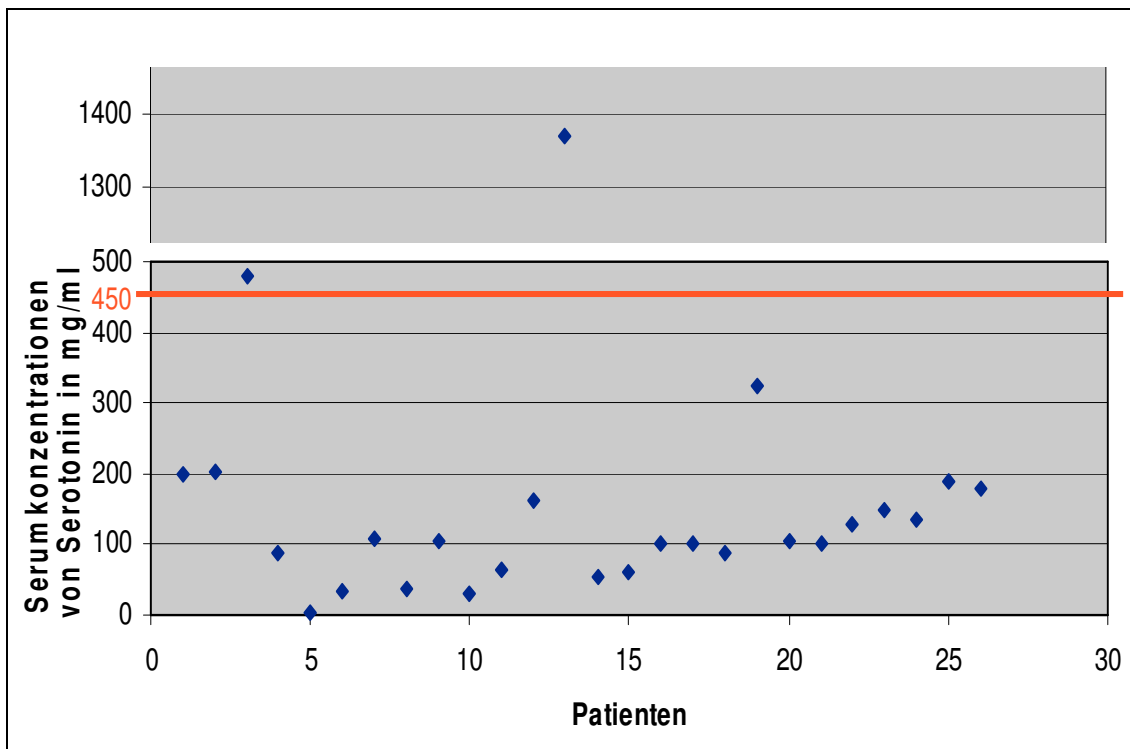


Abbildung 11: Serumkonzentrationen von Serotonin

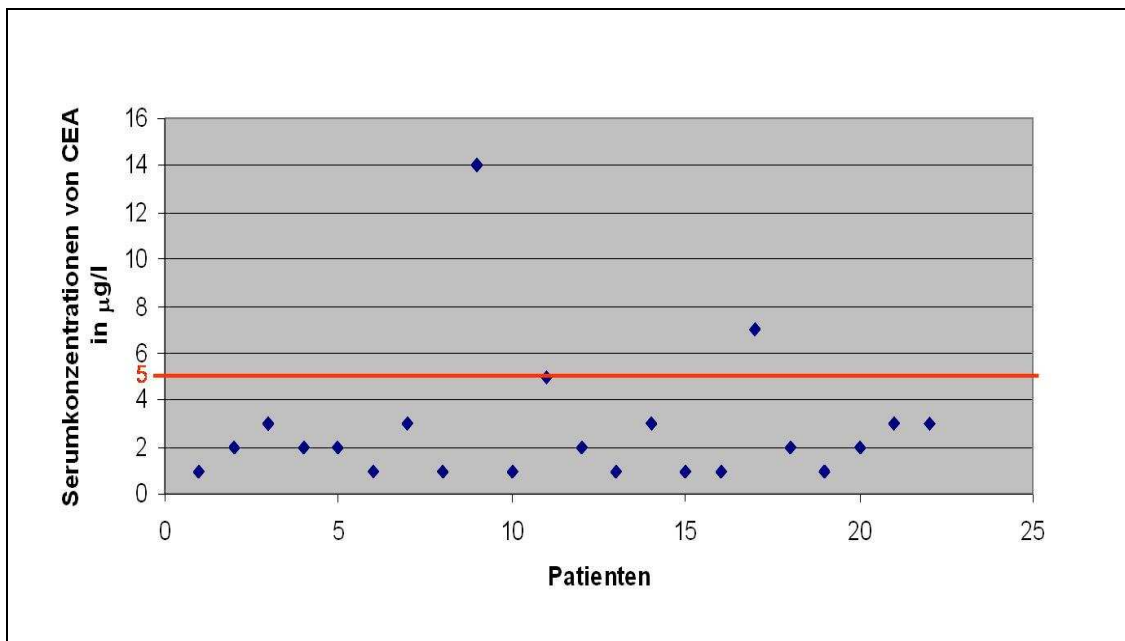


Abbildung 13: Serumkonzentrationen von CEA

Die vier genannten Serummarker eignen sich folglich im Gegensatz zu den anderen Entitäten der GEP-NET nicht zur Diagnosestellung der neuroendokrinen Tumore des *hindgut*, da sie nicht - wie von einem zuverlässigen Serummarker erwartet - deutlich über dem *cut-off* Wert liegen und auch nur jeweils einige wenige Probanden erhöhte Werte aufweisen.

4.2.2 Verlaufsbeobachtung

Anhand einer Studie über den Krankheitsverlauf von Patienten mit neuroendokrinen Tumoren des *midgut* konnte gezeigt werden, dass die Serumkonzentrationen des Chromogranin A mit der Tumormasse korrelieren und somit die Prognose und das Überleben anzeigen (Arnold et al., 2008). Ob dies auch für NET des *hindgut* zutrifft, wird im nächsten Teil dieser Arbeit überprüft.

Da eine erhöhte Serumkonzentration eines Tumormarkers nur einen momentanen Wert darstellt, und Tumormarkerkonzentrationen unter dem *cut-off*-Wert eigentlich für eine niedrige Tumormasse sprechen, wurde der Tumormarker CgA während des Krankheitsverlaufs der Patienten mit GEP-NET des *hindgut* evaluiert. Dazu wurde die Dynamik der CgA-Werte der Patienten mit einem radiologisch durch CT oder MRT gesicherten Tumormassenschwund genauer untersucht. Das Intervall des in der bildgebenden Diagnostik nachgewiesenen Tumormassenschwundes

der Universitätsklinik Marburg behandelt und zeigten ebenfalls einen durch CT oder MRT verifizierten Tumorprogress innerhalb von sechs bis zwölf Monaten. Wie in Abbildung 15 ersichtlich, zeigten 12 von 14 Patientenproben (85,7%) einen signifikanten Anstieg des CgA. Der durchschnittliche Anstieg des CgA bei den Patienten der Kontrollgruppe lag mit 823,14 U/l über 24-fach höher als der durchschnittliche Anstieg der Patienten mit GEP-NET des *hindgut*. Fast alle Proben der Patienten mit GEP-NET des *midgut* zeigten einen CgA-Anstieg weit über dem *cut-off* von 50 U/l.

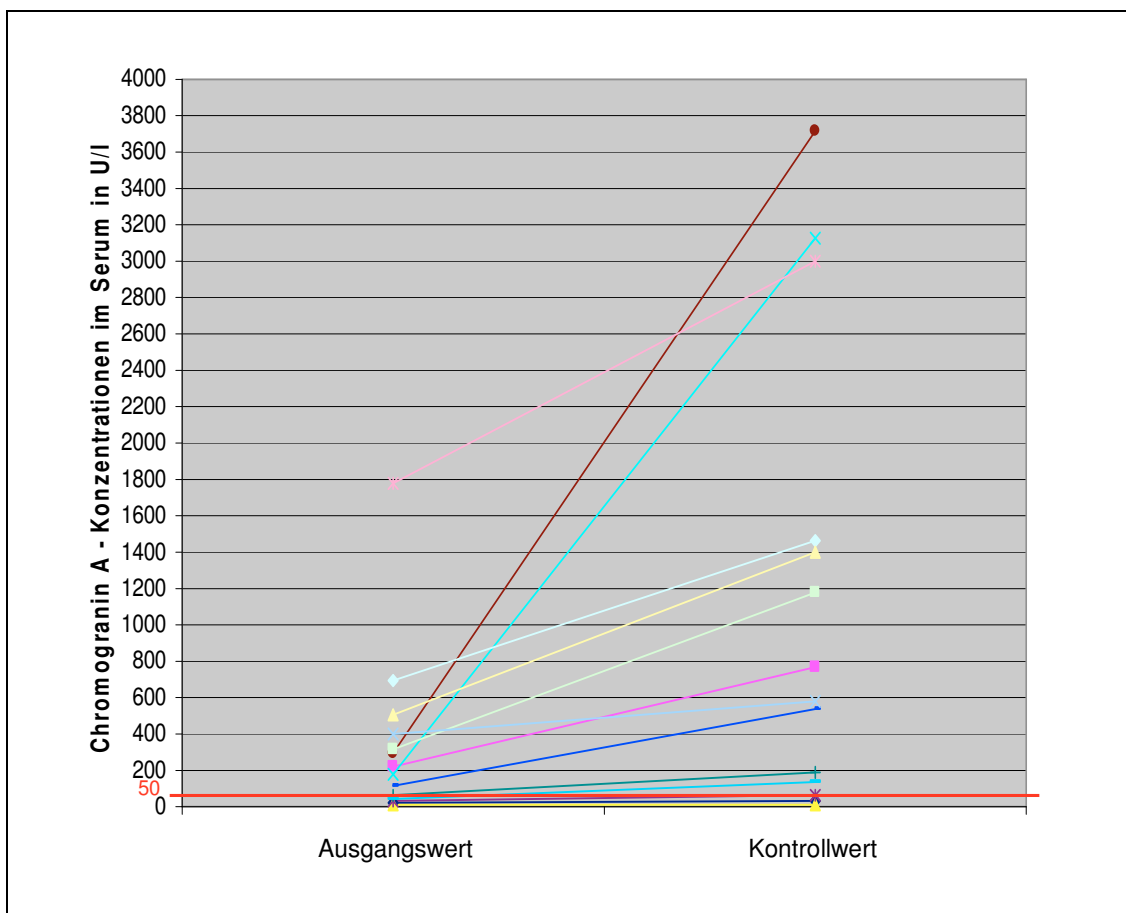


Abbildung 15: Chromogranin A-Verläufe der Patienten mit neuroendokrinen Tumoren des *midgut*

Da kein signifikanter Anstieg der Serumkonzentrationen von CgA bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut* detektiert werden konnte, ist es nicht überraschend, dass keine Korrelation zwischen der absoluten Serumkonzentration des CgA und der Tumorlast oder dem Gesamtüberleben besteht.

4.3 Das Überleben der Patienten mit GEP-NET des *hindgut*

Das Überleben aller evaluierten Patienten mit GEP-NET des *hindgut* ist mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 71,4% relativ gut (Abbildung 16).

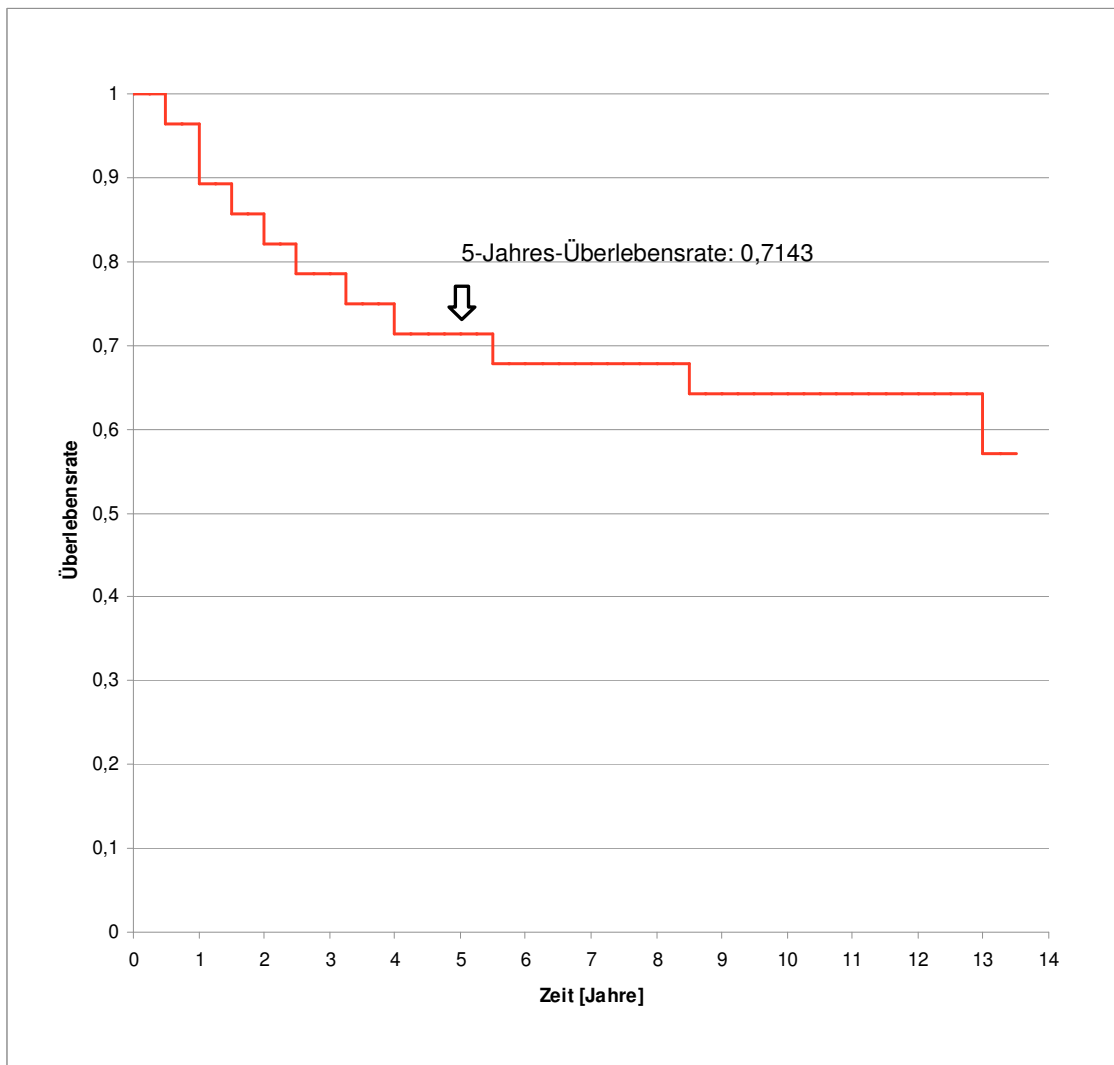


Abbildung 16: Gesamtüberleben der Patienten mit GEP-NET des *hindgut*

4.3.1 Unterteilung des Kollektivs in drei Subgruppen

In einem weiteren Schritt wurde das Kollektiv der *hindgut*-Patienten in drei Subgruppen unterteilt, die sich beträchtlich im Hinblick auf ihre Tumorprognose unterscheiden (Abbildung 17). Die Subgruppen wurden benannt in 1 (rot), 2 (grün) und 3 (blau), wobei die Patienten der Gruppe 2 (grün) die beste und die Patienten der Gruppe 1 (rot) die schlechteste Überlebenschance aufwiesen.

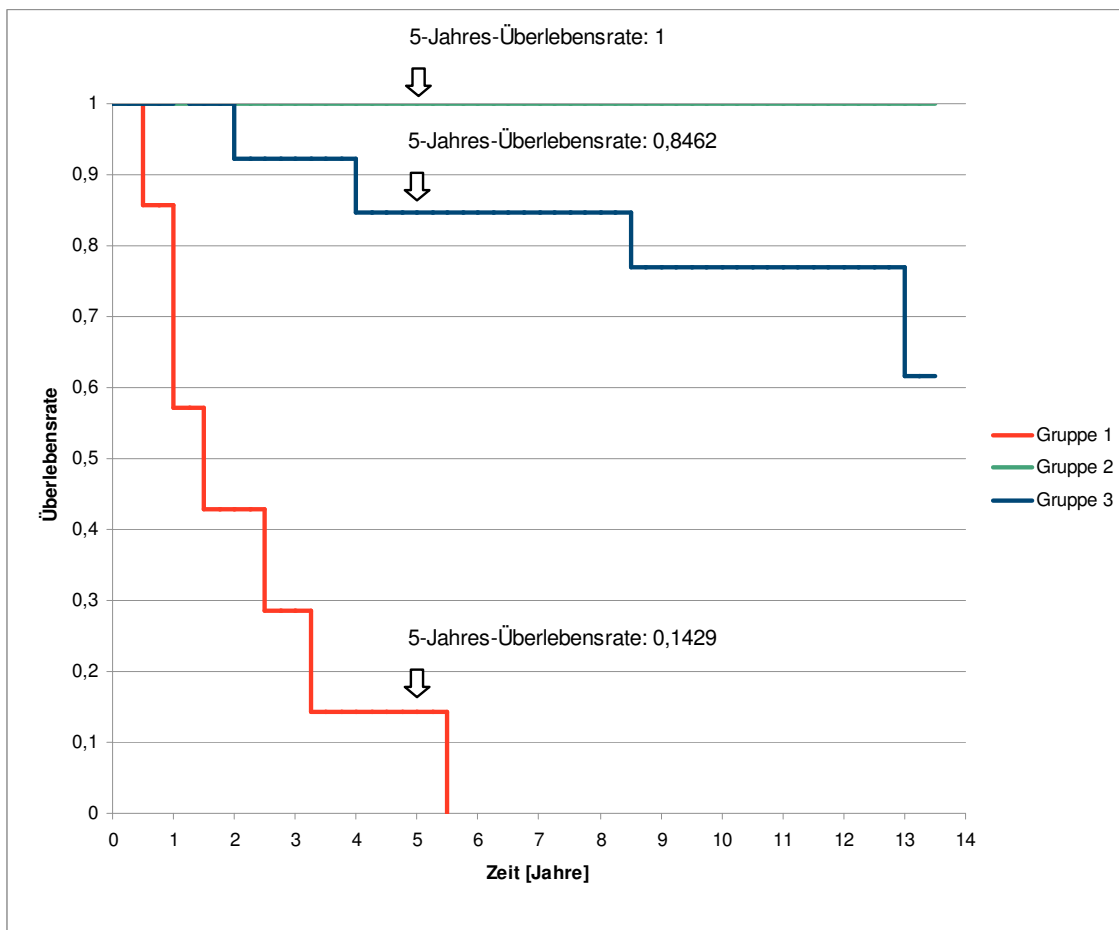


Abbildung 17: Überlebensraten der Patienten nach Unterteilung in drei Subgruppen

Wie in Abbildung 17 und Tabelle 7 ersichtlich, zeigten die sieben Patienten der Subgruppe 1 eine deutlich schlechtere Prognose mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 14,3%. Die Tumorproben dieser aus sieben Patienten bestehenden Subgruppe wiesen sich durch eine hohe Proliferationsrate (Ki-67 $\geq 30\%$) und einen schlecht differenzierten Tumor (G3) aus, es bestanden bereits bei Diagnosestellung intra- und extrahepatisch Metastasen. Die meisten Tumorerläsionen dieser Subgruppe waren im Sigma oder im distalen Kolon lokalisiert (Tabelle 7). Die Patienten waren mit 44,8 Jahren fast 7,6 Jahre jünger bei Diagnosestellung als Patienten mit gut differenzierten Tumoren.

Tabelle 7: Charakteristika der Patienten der Subgruppe 1

Tumorlokalisation	Proliferationsindex (%)	Grading	Metastasen	Überleben nach Diagnosestellung (in Monaten)
Sigma	50	2	Leber, LK, Gehirn	11,5
Sigma	30	3	Leber, LK, Knochen	6
Kolon	80	3	Bauchwand, LK intraperitoneal + mediastinal, Lunge, LWK2	16
Rektum		3	Leber	63,5
Sigma	60	3	Leber, LK retroperitoneal	30
Rektum	80	3	Leber, LK, Knochen, Gehirn	37
Kolon	60	3	LK intraabdominell, Bauchwand	10

Die acht Patienten der zweiten Subgruppe (grün) wiesen bei Diagnosestellung keine detektablen Metastasen auf. Die Tumore waren gut differenziert, auf das Ursprungsorgan – meist das Rektum - beschränkt und zeigten eine niedrige Proliferationsrate mit einem Ki-67 von weniger als 2% (Tabelle 8). Bei Diagnosestellung waren die Patienten durchschnittlich 51 Jahre alt. Sie zeigten nach chirurgischer oder endoskopischer Tumorentfernung kein Tumorrezidiv oder das Auftreten von Metastasen. Bis heute sind alle Patienten am Leben, ihre Überlebensrate unterscheidet sich damit wahrscheinlich nicht signifikant von der gleichgeschlechtlichen Normalbevölkerung (Abbildung 17)

Tabelle 8: Charakteristika der Patienten der Subgruppe 2

Tumorlokalisation	Grading	Überleben nach Diagnose (Jahre)
Rektum	1	lebt
Rektum	1	lebt
Sigma	2	lebt
Sigma	k.A.	lebt
Rektum	1	lebt
Rektum	1	lebt
Rektum	1	lebt
Rektum	1	lebt

Die dritte Subgruppe (blau), bestehend aus 13 Patienten, zeigte eine mittlere Prognose mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 84,6%. Die Patienten dieser Gruppe hatten bereits vorhandene Metastasen bei Diagnosestellung, meist in

der Leber oder regionalen Lymphknoten. Wie Tabelle 9 zu entnehmen, waren die Tumore gut differenziert (G1-2) und/oder zeigten einen niedrigen Proliferationsindex (Ki-67 $\leq 10\%$). Die Patienten dieser Tumorcharakteristika waren mit 53,9 Jahren geringfügig älter bei Diagnosestellung als Patienten der Subgruppe 2, die keine detektierbaren Metastasen aufwiesen.

Tabelle 9: Charakteristika der Patienten der Subgruppe 3

Tumor-lokalisierung	Proliferations-index (%)	Grading	Metastasen	Überleben nach Diagnose (Jahre)
Rektum	1	1	Leber, LK	lebt
Rektum	1	1	Leber, LK	lebt
Rektum	10	1	Leber, Milz	lebt
Rektum	k.A.	k.A.	Leber	12
Rektum	4	k.A.	Leber, Milz, BWK, LWK	lebt
Rektum	k.A.	k.A.	Leber	lebt
Rektum	4	2	Lunge	4
Rektum	1	1	Leber	lebt
Rektum	10	1	Leber, LK	lebt
Kolon	1	1	Leber	lebt
Rektum	5	1	Leber, LK retroperitoneal, BWK	13
Rektum	10	1	LK	2
Rektum	k.A.	k.A.	Keine Metastasen	9

Auch nach der vorgenommenen Differenzierung in drei verschiedene Subgruppen mit deutlich voneinander abweichenden primären Krankheitsstadien und damit verschiedenen Überlebenschancen ist keine Korrelation zwischen den jeweiligen Chromogranin A-Serumkonzentrationen und dem Überleben erkennbar (Tabelle 10):

Tabelle 10: Chromogranin A-Werte und Überleben der Patienten

	Chromogranin A-Höchstwerte (U/l)	Überleben nach Diagnosestellung (Monate)
Subgruppe 1	23	11,5
	41	6
	37	16
	1290	63,5
	12	30
	40	37
	179	10
Subgruppe 2	9	lebt
	12	lebt
	4	lebt
	8	lebt
	18	lebt
	21	lebt
Subgruppe 3	27	lebt
	8	lebt
	27	lebt
	64	155
	145	lebt
	11	lebt
	28	lebt
	18	lebt
	16	155
	8	23
17	102	

4.3.2 Unterteilung des Kollektivs nach Lokalisation des Tumors

Unterteilt man das Patientenkollektiv nach der Lokalisation des Primärtumors (Kolon versus Rektum), so fällt auf, dass Patienten mit GEP-NET des Rektums eine deutliche bessere Überlebensfunktion aufweisen. Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei diesen 20 Patienten mit Primärtumor im Rektum bei 0,85, während das andere Kollektiv - bestehend aus 8 Patienten mit GEP-NET des Kolons - eine deutlich schlechtere 5-Jahresüberlebensrate von nur 0,375 aufweist (siehe Abbildung 18).

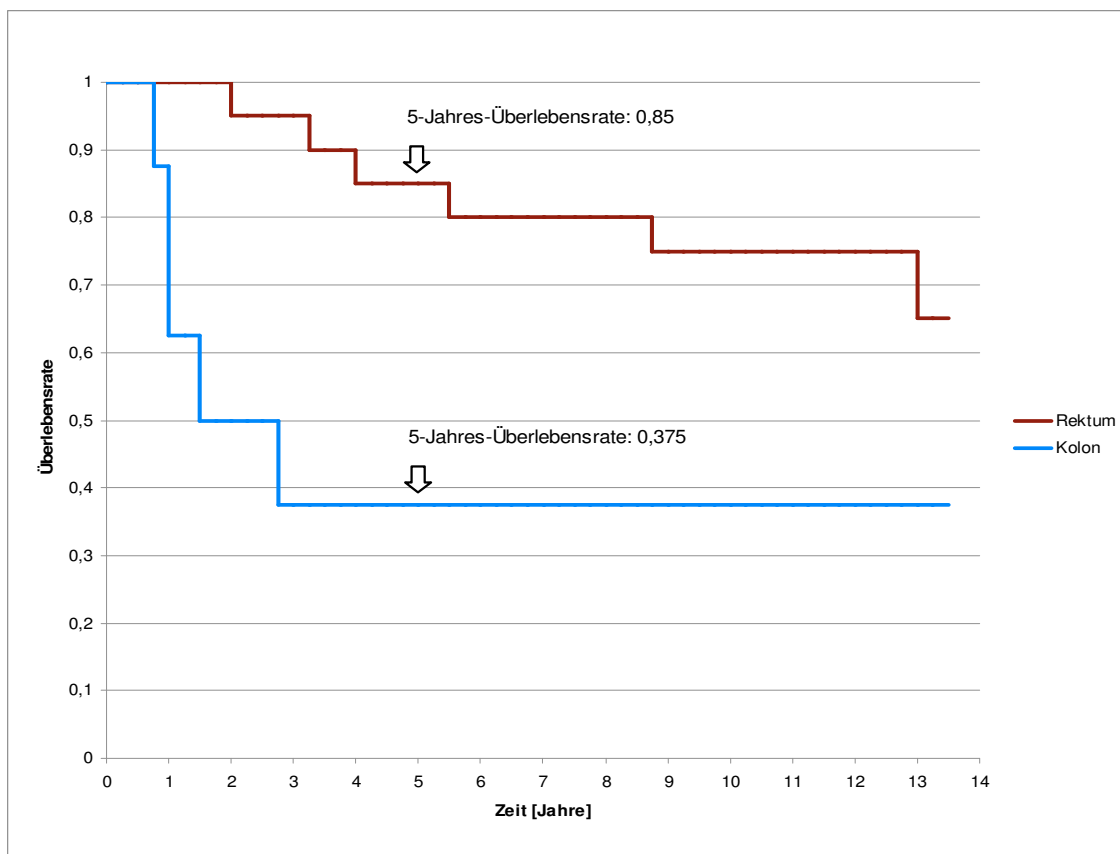


Abbildung 18: Überlebensfunktion nach Primärtumorlokalisation

4.4 Karzinoid-Herzerkrankung bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut*

Die Karzinoid-Herzerkrankung gilt als eine lebensbedrohliche Komplikation der neuroendokrinen Tumore. Um festzustellen, ob die Patienten mit GEP-NET des *hindgut* eine solche Komplikation entwickeln, wurde ein kardialer Ultraschall durchgeführt. Bei vier der 28 Patienten konnten klinische Zeichen einer Rechts-herzinsuffizienz wie Ödeme, Aszitis, Dyspnoe oder eine Zyanose festgestellt werden (Abbildung 19). Nur einer der 21 Patienten mit Metastasierung litt an einer in der Herzechokardiographie nachgewiesenen Karzinoid-Herzerkrankung. Dieser Patient zeigte auch erhöhte Serumkonzentrationen von Serotonin und seinem Abbauprodukt 5-HIES.

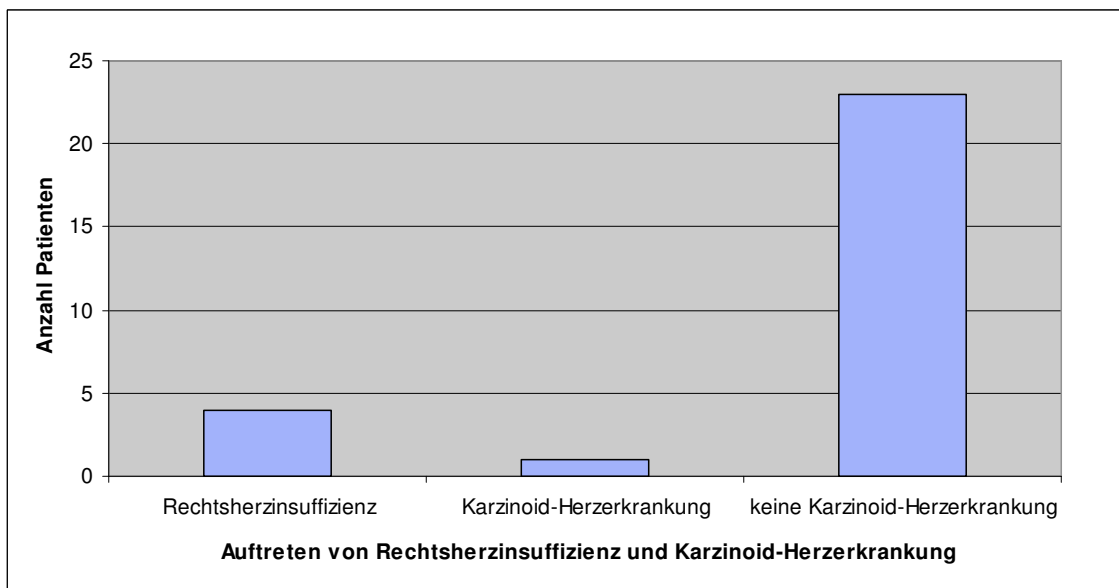


Abbildung 19: Patienten mit Rechtsherzinsuffizienz und Karzinoid-Herzerkrankung

5 Diskussion

5.1 Chromogranin A als histologischer Diagnoseparameter

Immunhistochemische Färbungen zur Detektion von Chromogranin A in Tumorgewebe sind eine häufig angewandte Methodik in der klinischen Diagnostik neuroendokriner Tumore. Sogar solche GEP-NET, die die Fähigkeit zur Hormonsekretion verloren haben, lassen sich durch die Anwesenheit von CgA immunhistochemisch diagnostizieren (Nobels et al., 1998).

Auch die Ergebnisse der für diese Arbeit durchgeführten Studie bestätigen, dass CgA aufgrund seines immunhistochemischen Profils als ein adäquater Marker in der histologischen Diagnostik der GEP-NET des *hindgut* verwendet werden kann. Während die Gewebeproben der GEP-NET dieser Studie zu 88,9% CgA-positiv waren, zeigten Federspiel et al. (Federspiel et al., 1990) in einer Untersuchung an 81 Patienten mit GEP-NET des Rektums und drei mit GEP-NET des Sigmas, dass sich bei 58% der Tumorproben positive Signale für CgA detektieren ließen. Dabei war die Expression meist diffus verteilt, gelegentlich auch nur fokal positiv. Ferner zeigten sie in ihrer Arbeit, dass es keinen immunhistochemisch erkennbaren Unterschied in der CgA-Detektion zwischen metastasierten und nicht metastasierten Tumoren gab. Auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen die These, dass kein deutlicher Unterschied in der Expression von CgA bei Gewebeproben von metastasierten und nicht metastasierten Tumoren nachzuweisen ist. Vielmehr ist es - wie auch Federspiel et al. vermuten - der Grad der Differenzierung des Primärtumors, der die Intensität des Färbeverhaltens beeinflusst. Somit könnte die Inzidenz der häufig schlecht differenzierten (G3) GEP-NET des Kolons und die größtenteils gute Differenzierung (G1 oder 2) der GEP-NET des Rektums einen entscheidenden Einfluss auf die quantitative Verteilung der Färbeintensitäten in der CgA-Immunodetektion ausüben (Klöppel et al., 2005; Rindi et al., 2004).

Auch die Verteilung der verschiedenen neuroendokrinen Zelltypen, der EC- und L-Zellen - die wahrscheinlich die Vorläuferzellen der Krebszellen neuroendokriner Differenzierung sind - über den Gastrointestinaltrakt könnte ein Erklärungsansatz für die verschiedenen Intensitäten der CgA-Färbung sein (Williams,

2007): Während EC-Zellen viel CgA exprimieren, vorwiegend im Dünndarm zu finden sind und nach aboral hin abnehmen, produzieren L-Zellen geringere Konzentrationen CgA und werden nach aboral häufiger (Federspiel et al., 1990). Gerade die im Dickdarm lokalisierten GEP-NET gehen häufig aus den L-Zellen hervor. Da diese somit immunhistochemisch nicht immer eine Expression von CgA detektieren lassen und nicht unbedingt das typische Bild eines neuroendokrinen Tumors aufweisen, bereiten sie bei der histologischen Diagnostik häufig Schwierigkeiten.

Eine fehlende Detektion von CgA in immunhistochemischen Färbungen von GEP-NET des *hindgut* kann auch durch das in L-Zellen des Kolons gehäuft vorhandene Chromogranin B oder durch das ausschließliche Vorhandensein von Spaltprodukten des CgA, wie z.B. Pankreastatin, bedingt sein (Calhoun et al., 2003; Nobels et al., 1998; Oberg, 1998; Stridsberg et al., 2003). Auch ist es möglich, dass GEP-NET des *hindgut* negativ für CgA erscheinen, wenn CgA durch die Bindung an andere Moleküle in der sekretorischen Granula maskiert ist (Nobels et al., 1998).

Die immunhistochemischen Befunde in der Diagnostik neuroendokriner Tumore sollten daher stets im Kontext des gesamten mikroskopischen Bildes beurteilt und durch weitere Tests evaluiert werden. Um CgA-negative Befunde nicht zu übersehen, sollte daher stets der auch in dieser Studie angewandte kombinierte immunhistochemische Nachweis von CgA und Synaptophysin verwendet werden, um einen neuroendokrinen Tumor als einen solchen sicher identifizieren zu können (Nobels et al., 1998; Williams, 2007). Erst die Kombination der Färbemethoden von CgA und Synaptophysin zeigt zuverlässig das Vorhandensein einer neuroendokrinen Differenzierung des *hindgut* an.

5.2 Chromogranin A in der Serumdiagnostik

5.2.1 Chromogranin A in der Primärdiagnostik von GEP-NET

Zahlreiche Studien zeigen die Eignung von CgA als Serumparameter in der Diagnostik neuroendokriner Tumore (Ardill et al., 2003; Bajetta et al., 1999; Janson et al., 1997; Nobels et al., 1997; Pirker et al., 1998; Schürmann et al., 1992; Sondenaa et al., 2004; Stivanello et al., 2001; Tomassetti et al., 2005).

Die CgA-Bestimmung im Serum stellt mit je 85% eine Methode mit hoher Sensitivität und Spezifität dar (Stridsberg et al., 2003). Diese Nachweismethode allein reicht zur Detektion neuroendokriner Tumore, besonders des *hindgut*, jedoch nur bedingt aus. So zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut* nur in wenigen Fällen eine signifikante Erhöhung des CgA nachweisbar war. Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Zatelli et al., die in einer italienischen Multicenter-Studie 273 Patienten mit GEP-NET (davon 22 kolorektal) und vergleichend 129 gesunde Probanden untersuchten und keine Unterschiede bezüglich der CgA-Werte im Serum dieser Personen nachweisen konnten (Zatelli et al., 2007).

Als ein ubiquitär exprimierter universeller Marker eignet sich CgA auch nicht dazu, zwischen den verschiedenen Subtypen neuroendokriner Neoplasien oder auch zwischen Neoplasien mit neuroendokriner Differenzierung zu unterscheiden (Nobels et al., 1997; Stivanello et al., 2001).

Da die GEP-NET des *midgut* und des *hindgut* oft in einer Gruppe subsummiert werden, oder nur sehr kleine Patientenkollektive mit GEP-NET des *hindgut* in den Studien betrachtet werden (Bajetta et al., 1999; Janson et al., 1997; Nehar et al., 2004; Nobels et al., 1997; Stivanello et al., 2001; Stridsberg et al., 2003; Turner et al., 2006; Zatelli et al., 2007), lässt sich den bisher publizierten Daten nur sehr begrenzt die Bedeutung von CgA in der Primärdiagnostik von Patienten mit GEP-NET des *hindgut* entnehmen. Die in dieser Arbeit vorliegenden Daten zeigen erstmals eindeutig, dass sich CgA nicht als ein zuverlässiger serologischer Marker für NET des *hindgut* darstellt. Die gemessenen maximalen Werte für CgA bleiben in fast allen Fällen unter dem *cut-off* von 50 U/l, ab dem das Vorliegen eines neuroendokrinen Tumors mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit diagnostiziert werden kann. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen zeigten auch Janson und Mitarbeiter in einer Studie mit 301 Patienten mit GEP-NET in der Gruppe der Patienten mit Tumoren des *hindgut* deutlich geringere CgA-Spiegel als bei den Patienten mit Tumoren des *mid-* und *foregut* (Janson et al., 1997). Hierbei war jedoch die Gruppe von Patienten mit GEP-NET des *hindgut* zu klein, um signifikante Aussagen bezüglich der Wertigkeit der CgA-Bestimmung bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut* vornehmen zu können.

Der Grund für das verschiedene Verhalten der CgA-Werte bei Patienten mit NET des *mid-* und *hindgut* bleibt somit weiter unklar. Möglicherweise reichen die geringen Mengen des in den L-Zellen produzierten CgA aus um ein positives Signal in der Immunhistochemie zu erreichen, nicht aber den Plasmalevel signifikant anzuheben. Ebenso basierend auf der lokalisationsabhängigen quantitativen Verteilung der Progenitorzellen über den Gastrointestinaltrakt kann angenommen werden, warum im untersuchten Patientenkollektiv drei Patienten erhöhte CgA-Werte aufwiesen, während die Mehrheit der Patienten mit GEP-NET des *hindgut* Werte im Normalbereich aufzeigte.

Während bei funktionell aktiven neuroendokrinen Tumoren ein typisches Sekretionsprodukt nachgewiesen und als Tumormarker in der Diagnostik verwendet werden kann, legen bisherige Studien nahe, dass sich CgA vor allem in der Diagnostik von nicht-funktionellen Tumoren eignet (Nehar et al., 2004; Nobels et al., 1998; Nobels et al., 1997; Schürmann et al., 1992; Stivanello et al., 2001). Da GEP-NET des *hindgut* hauptsächlich nicht-funktionelle neuroendokrine Neoplasien darstellen, erscheint es interessant, dass Nehar et al. signifikant geringere CgA-Serumwerte bei nicht-funktionellen GEP-NET im Vergleich zu funktionellen GEP-NET im nicht metastasierten Stadium nachweisen konnten (Nehar et al., 2004). Metastasierte, nicht funktionelle Tumore stellten sich dann jedoch durch höhere CgA-Spiegel dar. Sie errechneten damit eine Sensitivität der CgA-Bestimmung in der Primärdiagnostik bei funktionell aktiven neuroendokrinen Tumoren von ca. 70% und bei nicht-funktionell aktiven GEP-NET eine Sensitivität von lediglich 45%. In der Studie zeigte kein Patient mit nicht-funktionellem, nicht metastasiertem GEP-NET einen erhöhten CgA-Spiegel, wobei die Kombination aus nicht-funktionellem Tumor und hohem CgA - Spiegel einen Indikator für Metastasen darstellte.

Die Bestimmung von CgA im Blut stellt somit auch dieser Publikation zufolge keinen zuverlässigen Marker in der Primärdiagnostik von GEP-NET aller Tumorlokalisationen dar, da die Hälfte der Patienten mit nachgewiesenen Metastasen keine erhöhten Spiegel aufwiesen. Leider limitiert auch in der zitierten Studie das Fehlen eines ausreichend großen Kollektivs an Patienten mit GEP-NET des *hindgut* signifikante Aussagen.

Im Hinblick auf die primäre Serumiagnostik kann mit den Ergebnissen dieser Arbeit, sowie mit übereinstimmenden Ergebnissen aus der Literatur gezeigt werden, dass sich die Bestimmung von CgA im Blut nicht für die Primärdiagnostik oder das Screening von GEP-NET des *hindgut* eignet. Das CgA bleibt nicht nur vorwiegend in normalen Bereichen, sondern ist auch, wie in zahlreichen Studien nachgewiesen, vielen möglichen Fehlerquellen unterworfen. So können erhöhte CgA-Werte durch andere Erkrankungen, wie die chronisch atrophische Gastritis, verschiedene andere neoplastische Veränderungen, Leber- und Nierenfunktionseinschränkungen, Stress oder entzündliche Darmerkrankungen sowie die Einnahme von Protonenpumpenhemmern bedingt sein (Goebel et al., 1999; Janson et al., 1997; Nehar et al., 2004; Nobels et al., 1997; Stivanello et al., 2001).

5.2.2 Chromogranin A in der Verlaufskontrolle

Durch die gemeinsame Sekretion mit anderen Peptiden wird CgA als zuverlässiger Serummarker in der Verlaufsbeurteilung neuroendokriner Neoplasien beschrieben. Dies ist insbesondere nützlich, wenn kein anderes messbares Produkt zur Verfügung steht, wie z.B. bei nicht-funktionellen Tumoren, wenn ein instabiles oder rasch fluktuierendes Produkt entsteht oder aber, wenn zwischen einem endokrinen Tumor und einer Neoplasie anderer Genese unterschieden werden soll (Nobels et al., 1998; Schürmann et al., 1992).

Generell ist die Bestimmung der CgA-Werte eine für die Patienten wenig belastende Untersuchung, da die Messungen meist zuverlässig und vor allem risiko- und nebenwirkungsarm und schnell aus dem Blut möglich sind. Serielle Messungen, die dynamische Veränderungen der CgA-Werte erkennen lassen, besitzen dabei eine bessere prognostische Aussagekraft als der absolute Wert und machen seine Bedeutung als Prognoseparameter in der Verlaufsbeurteilung aus (Bajetta et al., 1999; Nehar et al., 2004; Stivanello et al., 2001; Woltering et al., 2006).

Die Aussagekraft des CgA als Verlaufsparemeter bedarf jedoch einer differenzierten Betrachtungsweise. Während die Bedeutung der Bestimmung von CgA in der Verlaufsbeurteilung von Patienten mit GEP-NET des *midgut* gut untersucht ist und einen zuverlässigen prognostischen Marker darstellt, ist seine Be-

deutung bei GEP-NET des *fore-* und vor allem des *hindgut* bislang nur wenig untersucht.

5.2.2.1 Verlaufskontrolle bei GEP-NET des *midgut*

Mehrere Studien bei Patienten mit GEP-NET des *midgut* zeigen, dass Chromogranin A ein verlässlicher und unabhängiger Parameter in der Verlaufsbeurteilung ist und eine positive Korrelation zwischen der plasmatischen CgA-Konzentration, der Tumorlast und dem Überleben besteht (Arnold et al., 2008; Bajetta et al., 1999; Eriksson et al., 2000; Nobels et al., 1997; Oberg, 1998; Sondena et al., 2004; Stivanello et al., 2001).

Arnold et al. wiesen in einer Studie anhand von 335 Patientendaten mit GEP-NET des *midgut* (rekrutiert aus dem auch für diese Studie verwendeten Register) nach, dass die Serumkonzentrationen des CgA signifikant erhöht waren. Die höchsten Konzentrationen wiesen Patienten mit Karzinoid-Syndrom auf. Das Überleben war bei einer CgA-Plasmakonzentration von >200 U/l bei Diagnosestellung deutlich reduziert (Arnold et al., 2008). Da in dieser Studie Patienten mit einer hohen hepatischen Tumorlast und einer CgA-Plasmakonzentration unter einem gesetzten *cut-off* Wert von 210 U/l ein längeres Überleben zeigten als Patienten mit einer CgA-Plasmakonzentration über 210 U/l bei geringer oder keiner hepatischen Tumorlast, kann CgA als ein unabhängiger Faktor angesehen werden, der eine ungünstige Prognose vorhersagen kann. Ein plötzlicher Anstieg der CgA-Konzentration über 1000 U/l korreliert dabei mit explosionsartigem Tumorwachstum. Bei gleichzeitiger hepatischer Tumorlast geht dieser starke CgA-Anstieg mit einer äußerst schlechten Prognose der betroffenen Patienten einher. Dabei stellen schnell ansteigende CgA-Plasmakonzentrationen neben der hohen hepatischen Tumorlast, die 50% des Lebervolumens überschreitet, einen prognostischen Parameter für schnelles Tumorwachstum und damit verbundenes kurzes Überleben dar (Arnold et al., 2008; Bajetta et al., 1999).

Welcher *cut-off*-Wert Patienten mit günstiger Prognose von Patienten mit ungünstiger Prognose unterscheidet, ist bis heute nicht sicher nachgewiesen. Janson und Mitarbeiter zeigten in einer Analyse von 71 Patienten mit neuroendokrinen Tumoren, dass Plasmakonzentrationen von CgA größer 5000 µg/l mit

einem kürzeren Überleben korrelierten. Dies könne auf ein fortgeschrittenes Stadium mit hoher Tumorlast hinweisen; die Korrelation mit einer starken Lebermetastasierung erwies sich in dieser Studie jedoch als nicht signifikant (Janson et al., 1997).

5.2.2.2 Verlaufskontrolle bei GEP-NET des foregut

Auch bei Patienten mit Tumoren des *foregut* stellt das CgA einen sehr sensitiven Marker in der Verlaufskontrolle gastraler, duodenaler und pankreatischer neuroendokriner Tumore dar (Goebel et al., 1999; Plöckinger et al., 2004). Goebel und Mitarbeiter zeigten in einer Studie allerdings, dass nicht der absolute CgA-Wert Informationen über die Krankheitsausdehnung eines Patienten mit Gastrinom anzeigt, sondern nur intraindividuelle Schwankungen Rückschlüsse auf den Tumorverlauf erlauben (Goebel et al., 1999). Dies ist am ehesten darin begründet, dass verschiedene Faktoren bekannt sind, die den plasmatischen CgA-Wert beeinflussen können und somit seine potentielle Bedeutung in der Risikostratifizierung bei GEP-NET des *foregut* vermindern. Dabei können vor allem die chronische atrophische Gastritis, die regelmäßige Einnahme von Protonenpumpenhemmern als symptomatische Therapieform bei Patienten mit Gastrinom oder eine zytostatische Chemotherapie mit Streptozotocin zur Beeinflussung der Werte führen (Eriksson et al., 2000; Goebel et al., 1999; Nobels et al., 1997; Plöckinger et al., 2004; Schürmann et al., 1992).

Aus diesen Gründen ist CgA nur bedingt geeignet, eine Aussage in der Verlaufsbeurteilung von Patienten mit GEP-NET des *foregut* zu treffen beziehungsweise eine Risikostratifizierung dieser Patienten anhand der CgA-Werte vornehmen zu können.

5.2.2.3 Verlaufskontrolle bei GEP-NET des hindgut

Nachdem in dieser Studie gezeigt werden konnte, dass CgA weder anhand seiner Absolutwerte noch im Verlauf eine progrediente Tumorerkrankung sicher anzeigen kann, erweist sich CgA nicht als geeigneter Marker zur Verlaufskontrolle von Patienten mit GEP-NET des *hindgut*.

Obwohl bei Diagnosestellung bereits 20 der 28 Patienten ein metastasiertes Stadium aufwiesen, blieben die CgA-Werte bei fast allen Patienten unter dem *cut-off*-Wert von 50 U/l. Selbst bei in der Bildgebung nachgewiesenem Tumor-

progress sowie einer hohen hepatischen Tumorlast waren die CgA-Werte des untersuchten Patientenkollektivs nicht oder nur gering erhöht und blieben bis auf wenige Ausnahmen unter dem *cut-off*-Wert von 50 U/l. Im Gegensatz zu Patienten mit GEP-NET des *midgut* ist somit keine Korrelation zwischen dem CgA-Spiegel und dem Überleben, der Tumorprogression oder der Prognose der jeweiligen Patienten nachweisbar. Dabei ist jedoch bislang nicht sicher geklärt, wodurch das unterschiedliche Verhalten der GEP-NET des *midgut* und *hindgut* bezüglich der CgA-Sekretion bei jeweils histologisch nachgewiesener CgA-Expression bedingt ist.

Auch anderen Publikationen ist nicht eindeutig zu entnehmen, ob in der Gruppe der Patienten mit NET des *hindgut* ein signifikanter Anstieg des CgA zu verzeichnen ist, da die Patienten aufgrund ihrer geringen Fallzahl meist in einer Gruppe mit denen mit NET des *midgut* zusammengefasst werden. Jedoch unterstützen die zuvor schon genannten Studien von Zatelli et al. und Janson et al. die in dieser Arbeit postulierte Hypothese, dass sich CgA in der Gruppe der Patienten mit GEP-NET des *hindgut* nicht als ein zuverlässiger Parameter in der plasmatischen Diagnostik und Verlaufskontrolle eignet (Janson et al., 1997; Zatelli et al., 2007).

5.2.3 Erklärungsansätze der verschiedenen CgA-Konzentrationen

Möglicherweise liegt der fehlenden plasmatischen Nachweisbarkeit von CgA bei GEP-NET des *hindgut* ein Membrandefekt zugrunde, der die Ausschüttung von CgA in das Blut verhindert, aber ein positives Signal in der Immunhistochemie nachweisen lässt. Denkbar erscheint auch die Entstehung verschiedener CgA-Fragmente in den Zellen der GEP-NET des *hindgut*, die mit der derzeit zur Verfügung stehenden Methodik im Plasma nicht nachgewiesen werden können (Ardill et al., 2003; Eriksson et al., 2000; Öberg, 2005).

Ein weiterer Erklärungsansatz für die verschiedenen Plasmakonzentrationen des CgA in Patienten mit GEP-NET des *midgut* und *hindgut* besteht in der unterschiedlichen Verteilung der verschiedenen neuroendokrinen Zelltypen, der EC-Zellen und L-Zellen, entlang des Gastrointestinaltraktes. EC-Zellen - charakterisiert durch die Expression großer Mengen CgA - kommen vermehrt im Dünndarm vor. Ihre Expression nimmt dabei entlang des Gastrointestinaltraktes

nach aboral ab. Im Gegensatz dazu nehmen L-Zellen - charakterisiert durch die Expression geringer Mengen CgA - bei gleichzeitiger Expression großer Mengen Chromogranin B, entlang des Gastrointestinaltraktes nach aboral langsam zu und sind am häufigsten im distalen Dickdarm zu finden (Williams, 2007). Diese geringen Mengen CgA in den L-Zellen reichen möglicherweise aus, um in der immunhistochemischen Färbung ein positives Signal zu erreichen. Die Konzentration ist aber nicht hoch genug, den Plasma-Spiegel über den physiologischen Bereich hinaus anzuheben und so ein Tumorwachstum anzuzeigen. Darüber hinaus sind die im Dickdarm vorherrschenden neuroendokrinen Tumore meist histologisch schlechter differenziert als die neuroendokrinen Tumoren in *fore-* und *midgut*. Der Verlust der neuroendokrinen Differenzierung führt möglicherweise nicht nur zu niedrigeren plasmatischen CgA-Werten, sondern auch zu den vorwiegend lokal positiven Befunden in der Histologie (Federspiel et al., 1990; Stivanello et al., 2001; Williams, 2007; Zatelli et al., 2007).

5.2.4 Der Chromogranin A-Immunoassay

Die nicht erhöhten CgA-Werte im Patientenkollektiv der GEP-NET des *hindgut* sind nicht auf ein funktionsuntüchtiges Immunoassay zurückzuführen, erkennbar an den nahezu durchweg erhöhten CgA-Werte der Patienten mit GEP-NET des *midgut* der Kontrollgruppe.

Momentan gibt es vier kommerziell erhältliche *kit*-Systeme, die alle eine lineare Korrelation zwischen Serum- und Plasma-CgA-Werten in den jeweiligen entitätstypischen Konzentrationsbereichen anzeigen (Woltering et al., 2006). Die Sensitivität der jeweiligen *kit*-Systeme bei Bestätigung erhöhter CgA-Werte variiert zwischen 67 und 93%, die Spezifität zwischen 85 und 95% (Stridsberg et al., 2003).

Das für diese Studie verwendete *kit*-System der Firma DakoCytomation wird seit 1995 in der klinischen Chemie der Universität Marburg zur Ermittlung der CgA-Werte verwendet. Seine Sensitivität und Spezifität betragen jeweils 85% (Stridsberg et al., 2003). Es ist gegen ein C-terminales Fragment gerichtet (siehe Absatz 3.2.1 Chromogranin A-Bestimmung im Plasma), erkennt also nicht das ganze Molekül (Ardill et al., 2003; Öberg, 2002).

Das Messen von intaktem CgA im Plasma hat eine höhere Sensitivität in der Diagnostik neuroendokriner Tumore als das Bestimmen seiner Fragmente (Öberg, 2005; Taupenot et al., 2003). Dennoch messen alle kommerziell erhältlichen *kit*-Systeme durch ihre verschiedenen Antikörper unterschiedliche Domänen des Moleküls. Auch unterscheidet sich der Grad der Bindungsstärke, mit dem diese verschiedenen Assays durch unterschiedliche Kreuzreaktionen mit den Spleißprodukten von CgA interagieren (Nobels et al., 1998). Das Fehlen internationaler Standards für CgA-Werte und die Verwendung verschiedener *kit*- und Detektionssysteme beeinträchtigen die Vergleichbarkeit der Messwerte. Trotzdem sind die verwendeten Assays für den klinischen Alltag ausreichend und können trotz fehlender internationaler Standardisierung zeigen, ob CgA als biochemischer Tumormarker bei neuroendokrinen Tumoren geeignet ist.

5.3 Evaluation möglicherweise den Verlauf anzeigender Parameter

5.3.1 Biochemische Parameter

In verschiedenen Forschungsarbeiten wurden bereits unterschiedliche biochemische Marker, die bei Patienten mit GEP-NET frequentiert erhöht sind, beschrieben und evaluiert (siehe Tabelle 11). Bisher konnte aber kein Produkt gefunden werden, das für GEP-NET aller drei embryologischen Ursprungsorte die Diagnose, den Verlauf und die Prognose anzeigen kann und somit die Bedingungen eines klinisch relevanten Tumormarkers zuverlässig erfüllt. Besonders schwierig erscheint dabei - wie in Tabelle 11 erkennbar - die Suche nach zuverlässigen Markern, die bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut* eine Beurteilung der Prognose erlauben.

Tabelle 11: Zirkulierende Peptide bei neuroendokrinen Neoplasien

Peptide und Marker	Foregut (in % pos.)	Midgut (in % pos.)	Hindgut (in % pos.)
5-HIES im 24h Urin	31	76	0
Calcitonin gene related Peptid	45	0	0
Gastrin releasing Peptid	52	0	0
Pankreatisches Polypeptid	30	25	25
Peptid YY	0	0	30
Somatostatin	0	0	35
hCG α	35	11	100
Neuropeptid K	15	46	25
Neurokinin A	k.A.	81	k.A.
CgA Pankreastatin	50	53	80
CgA (DAKO)	k.A.	85	k.A.
CgA (EURIA)	k.A.	95	k.A.
CgA (CIS)	k.A.	67	k.A.

Modifiziert nach (Ardill et al., 2003)

5.3.1.1 5-HIES

Die für diese Arbeit durchgeführte Studie zeigt, dass auch andere Tumormarker, wie Serotonin oder sein Abbauprodukt 5-HIES nicht dazu geeignet sind, das Tumorstadium oder Überleben der Patienten mit GEP-NET des *hindgut* widerzuspiegeln. Dies ist übereinstimmend mit anderen Arbeiten (Ardill et al., 2003; Janson et al., 1997; Modlin et al., 2005; Onaitis et al., 2000; Zuetenhorst et al., 2003), bei denen die Patienten mit GEP-NET des *midgut* die höchsten Werte von 5-HIES im Urin und Serotonin im Serum zeigten. Eine Korrelation zur Tumormarktlast konnte aber auch für GEP-NET des *midgut* nicht gezeigt werden (Onaitis et al., 2000).

5.3.2 Morphologische und weitere prognostische Parameter

Viele Studien diskutieren die Größe des Primärtumors (Arnold, 2005; Onaitis et al., 2000; Shebani et al., 1999), die Tiefe der Wandinvasion (Federspiel et al., 1990; Modlin et al., 2003; Shebani et al., 1999), die Primärtumorklassifikation (Arnold, 2005; Van Gompel et al., 2004), die Metastasierung (Modlin et al., 2003; Shebani et al., 1999; Tomassetti et al., 2005), die Lebermetastasierung (Janson et al., 1997; Modlin et al., 2003; Tomassetti et al., 2005; Turner et al., 2006), das Tumorstadium (Modlin et al., 2003), die bei Diagnosestellung bestehende Symptomatik (Van Gompel et al., 2004), das Alter des Patienten (Janson et al., 1997; Shebani et al., 1999; Turner et al., 2006) oder das histopathologi-

sche Wachstumsmuster (Arnold, 2005) als prognostische Einflussfaktoren für neuroendokrine Tumore des gastroenteropankreatischen Systems.

Beispielsweise konnten Turner et al. (Turner et al., 2006) anhand einer Studie mit 139 Patienten mit GEP-NET des *midgut* zeigen, dass Lymphknotenmetastasen, weniger als fünf Lebermetastasen, bestehende Symptome bei Diagnosestellung, sowie Lokalisation und Tumorgröße keinen signifikanten Effekt auf das Überleben zeigten. Janson und Mitarbeiter beschreiben die Grenze von fünf oder mehr Lebermetastasen, ab der die Prognose der betroffenen Patienten deutlich schlechter erscheint (Janson et al., 1997).

Mani und Mitarbeiter sehen die Tumorgröße und die Wandinvasion als die beiden wichtigsten Prognoseparameter in der Beurteilung der GEP-NET des Rektums an (Mani et al., 1994), während eine Publikation Federspiels die mitotische Aktivität in Verbindung mit der Wandinvasion bei der Prognosebeurteilung dieser Tumorentität in den Vordergrund stellt (Federspiel et al., 1990).

Diese zum Teil sehr unterschiedlichen Ergebnisse bezüglich der Prognosebeurteilung von Patienten mit GEP-NET anhand klinischer Parameter lassen sich häufig durch uneinheitliche Datenanalyse sowie verschiedene Patientenkollektive erklären. Sie schränken die Vergleichbarkeit der jeweiligen Studienergebnisse deutlich ein.

5.3.3 Ki-67 und Grading

Gegenwärtig werden weitere Marker, wie z.B. die Expression von Ki-67, p53, verschiedene Onkoproteine, der Verlust von Tumorsuppressorgenen oder Zell-Adhäsions-Molekülen auf ihre prognostische Aussagekraft untersucht (Arnold, 2005). Die Schwierigkeit besteht darin, einen Marker zu identifizieren, der prognostische Aussagen für alle Entitäten der gastrointestinalen neuroendokrinen Tumore erlaubt (Williams, 2007). Derzeit scheint sich der Proliferationsindex Ki-67 als ein wichtiger Parameter zur Bestimmung der Prognose bei Patienten mit GEP-NET zu etablieren. Jedoch muss auch in diesem Fall davon ausgegangen werden, dass sich die Aussagekraft abhängig von der jeweiligen Tumorlokalisation stark unterscheidet. Verschiedene Arbeiten konnten bei gut differenzierten GEP-NET - meist des *foregut* und *midgut* - das Ki-67 als wichtigen Prognosefaktor bestätigen. Auf die meist schlecht differenzierten Tumoren des *hindgut*

trifft dies aber nicht in äquivalentem Maße zu. Ihr aggressives, infiltrierendes Wachstumsverhalten ist möglicherweise verstärkt auf ihre schlechte Differenzierung zurückzuführen (Arnold et al., 2008; Federspiel et al., 1990).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten bei den Patienten mit GEP-NET des *hindgut* anhand des Proliferationsindex Ki-67, des Grading und des Metastasenstatus drei Subgruppen gebildet werden, die sich deutlich bezüglich ihrer Prognose unterschieden. Patienten der Subgruppe 1 (rot), charakterisiert durch Ki-67 $\geq 30\%$, G3-Tumore, Metastasen intra- und extrahepatisch, hatten die schlechteste Prognose (5-Jahres-Überlebensrate: 14,3%). Im Gegensatz dazu unterschied sich das mittlere Überleben der Patienten in Subgruppe 2 (grün), charakterisiert durch eine geringe Proliferationsrate mit einem Ki-67 $< 2\%$, G1-Tumore, sowie fehlender Metastasierung nicht von der der gesunden gleichgeschlechtlichen Vergleichsbevölkerung. Patienten in der Subgruppe 3 (blau), charakterisiert durch eine mittlere Proliferationsrate mit einem Ki-67 $\leq 10\%$, G1- oder G2-Tumoren, sowie dem Vorhandensein von Metastasen fast ausschließlich in Leber und Lymphknoten, zeigten eine mittlere Prognose (5-Jahres-Überlebensrate: 84,6%).

Bei dem in dieser Arbeit untersuchten Patientenkollektiv mit GEP-NET des *hindgut* stellen somit der Proliferationsindex Ki-67, das Grading und der Metastasenstatus Parameter dar, die Aussagen über die Prognose betroffener Patienten erlauben. Ob nur einer dieser Faktoren alleine oder die Koexistenz aller drei als unabhängige Parameter mit einer signifikanten Korrelation zum Verlauf anzusehen sind, muss anhand größer angelegter Studien genauer evaluiert werden.

Auch Rindi und Mitarbeiter nehmen an, dass sich schlecht differenzierte NET jeglicher Tumorgröße und -lokalisierung, mit Gefäßinvasion, mit einem Ki-67 $> 30\%$ und ohne klinisches hormonabhängiges Syndrom durch eine deutlich schlechtere Prognose - im Vergleich zu gut differenzierten GEP-NET mit mittlerer Proliferationsrate – kennzeichnen lassen (Rindi et al., 2004).

Dies bestätigend konnte durch die Subgruppierung des vorliegenden Patientenkollektivs anhand der Patienten mit gut differenzierten GEP-NET gezeigt wer-

den, dass diese eine deutlich bessere Prognose aufwies als die Patienten mit schlecht differenzierten Tumoren.

Federspiel et al. betonen in ihrer klinisch-pathologischen Studie an 84 Patienten mit kolorektalen neuroendokrinen Tumoren, dass ein guter Verlauf bei Tumoren kleiner 2cm ohne Infiltration der Muscularis mucosae zu erwarten ist (Federspiel et al., 1990).

Durch die zitierten Arbeiten, sowie die in dieser Studie dargestellten Ergebnisse ist es nahe liegend, dass die mitotische Aktivität und die Mukosainfiltration Indikatoren für ein aggressives Wachstum verbunden mit einer schlechten Prognose bei GEP-NET des *hindgut* darstellen.

5.4 Das Überleben der Patienten mit GEP-NET des *hindgut*

5.4.1 Das Gesamtüberleben der Patienten mit GEP-NET des *hindgut*

Das 5-Jahres-Überleben des evaluierten Patientenkollektivs ist mit 71,43% relativ gut. Es liegt zwischen bisher veröffentlichten Ergebnissen, die Überlebensraten zwischen 62% für Patienten mit GEP-NET des Rektums und 75% für Patienten mit GEP-NET des Kolons angeben (Shebani et al., 1999); für NET des *hindgut* insgesamt werden sogar 5-Jahres-Überlebensraten von bis zu 90% angegeben (Van Gompel et al., 2004).

Janson et al. verzeichneten in einer Studie anhand eines kleineren Kollektivs von Patienten mit GEP-NET des *hindgut* eine mediane Überlebenszeit von 22 Monaten (Janson et al., 1997). Eine derart ungünstige Prognose konnte bisher in keiner anderen Studie für diese Patientengruppe nachgewiesen werden und ist auch nicht in Übereinstimmung mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Möglicherweise kommt die schlechte Prognose durch ein deutlich häufigeres Vorkommen von Patienten mit Tumorlokalisation im Bereich des Kolon zustande. Zusätzlich standen im Beobachtungszeitraum dieses Patientenkollektivs deutlich weniger Behandlungsmöglichkeiten für Patienten mit GEP-NET des *hindgut* zur Verfügung.

5.4.2 Überleben der drei Subgruppen

Betrachtet man die in dieser Arbeit vorliegenden Überlebensraten detaillierter anhand der drei Subgruppierungen, so ist auffällig, dass die Prognosen sehr differieren. Patienten der ersten Subgruppe (rot), charakterisiert durch schlecht differenzierte Tumore, Metastasen und einen hohen Proliferationsindex zeigten mit einer 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 14,3% eine sehr schlechte Prognose auf. Diese ist vergleichbar mit schlecht differenzierten GEP-NET des *mid-* und *foregut*, die eine durchschnittliche Überlebenszeit nach Diagnosestellung zwischen 1,8 und 2,4 Jahren aufwiesen (Arnold et al., 2008). Im gewählten Subkollektiv dieser Arbeit ist ebenso wie in der Publikation von Arnold et al. als die Prognose verschlechternd auffallend, dass in dieser Gruppe die Metastasierung diffus über den ganzen Körper verteilt ist, während gut differenzierte Tumore des *mid-* und *hindgut* vorwiegend zu einer Lebermetastasierung führen (Arnold et al., 2008; Shebani et al., 1999).

Die Patienten der zweiten Subgruppe (grün) hatten mit 100% die beste 5-Jahres-Überlebensrate, wiesen die Primärtumore vorwiegend im Rektum auf und zeigten keine Metastasierung. Da dieser Gruppe wahrscheinlich viele Patienten angehören, die einen zufällig entdeckten neuroendokrinen Tumor hatten, ist dieser Verlauf vor allem auf die relativ frühe, möglicherweise präklinische Diagnosestellung – verglichen mit Patienten mit ausgeprägter tumorbedingter Symptomatik – zurückzuführen. Eine komplette endoskopische Exzision dieser meist polypoiden Tumore ist als ein kurativer Behandlungsansatz zu werten. Dies bestätigt diese Arbeit übereinstimmend mit anderen Publikationen (Kwaan et al., 2008; Shebani et al., 1999; Kwaan, 2008 #100). Ein entsprechendes Nachsorgeprogramm ist in dieser Gruppe somit nicht nötig, da die Gefahr einer Rezidivkrankung oder Metastasierung äußerst gering ist (Vogelsang et al., 2005). Die dritte Gruppe (blau), die durch gut differenzierte Tumore mit geringer Proliferationsrate und Metastasen vorwiegend in der Leber charakterisiert ist, zeigt mit 84,6% eine mittlere, aber insgesamt gute, 5-Jahres-Überlebensrate auf. Da die Patienten dieser Gruppe geringfügig älter waren als das Kollektiv ohne detektable Metastasen ist die Vermutung nahe liegend, dass eine spätere

Diagnosestellung auch durch eine dann detektable Metastasierung in einer schlechteren Gesamtprognose mündet.

5.4.3 Überleben in Abhängigkeit von der Primärtumorlokalisation

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die Prognose für Patienten mit Primärtumor im Bereich des Kolons im Vergleich zu Patienten mit Primärtumor im Bereich des Rektums deutlich ungünstiger ist. Die 5-Jahres-Überlebenschance bei NET des Kolons steht mit 37,5% einer Überlebenschance bei NET des Rektums von 85% gegenüber. Dies ist möglicherweise durch eine höhere Inzidenz schlechter differenzierter Tumore (G3) im Kolon erklärbar. Auch waren die im Rektum diagnostizierten Tumore häufig nur von polypoider Morphologie und damit mit einer deutlich besseren Überlebenschance verbunden. Dieses ist in Übereinstimmung zu Ergebnissen einer früheren Arbeit, die in einer retrospektiven Analyse von Resektionspräparaten eine ungünstigere Prognose bei Patienten mit reseziertem GEP-NET des Kolon im Vergleich zu resezierten GEP-NET des Rektum nachweisen konnte (Klößel et al., 2005).

Ähnlich der vorliegenden Ergebnisse (siehe Abbildung 18) zeigten auch Shebani et al., dass das Überleben der Patienten mit GEP-NET des Rektums einen stärkeren Abfall in den ersten Jahren nach Diagnosestellung zeigt, sich dann aber konstanter hielt (Shebani et al., 1999).

5.5 Karzinoid-Herzerkrankung bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut*

Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass ein intensives Screening auf die Karzinoid-Herzerkrankung der Patienten mit neuroendokrinem Tumor des *hindgut* nicht notwendig ist, da die Karzinoid-Herzerkrankung im Gegensatz zu Patienten mit einer Primärtumorlokalisation im Bereich des *midgut* weniger häufig auftritt. Wie in dieser Arbeit gezeigt, entwickelte nur einer der 28 Patienten eine manifeste Karzinoid-Herzerkrankung. Die geringe Erkrankungsrate dieser tumorassoziierten Komplikation ist möglicherweise dadurch zu erklären, dass die Entwicklung einer Karzinoid-Herzerkrankung vorwiegend auf eine extreme Serotoninausschüttung durch den Tumor zurückzuführen ist (Janson et al., 1997;

Klöppel et al., 2005; Westberg et al., 2001; Zuetenhorst et al., 2003). Bei den untersuchten Patienten mit Tumoren des *hindgut* blieben die Serotoninkonzentrationen jedoch fast ausschließlich im Normbereich, also unterhalb des *cut-off*-Wertes von 450mg/ml, so dass die Entwicklung dieser oft lebensbedrohlichen Komplikation bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut* unwahrscheinlich ist.

Zusammenfassend wird in dieser Arbeit gezeigt, dass Patienten mit GEP-NET des *hindgut* im Gegensatz zu Patienten mit GEP-NET des *midgut* in deutlich geringerem Maße CgA in das Blut sezernieren, auch wenn die Expression von CgA histologisch nachweisbar ist und ein vergleichbares, vor allem hepatisches Metastasierungsmuster vorliegt. Eine Korrelation zwischen dem CgA-Wert und der Prognose – wie sie für Patienten mit GEP-NET des *midgut* besteht - konnte in diesem Fall nicht bestätigt werden. Außerdem entwickeln Patienten mit GEP-NET des *hindgut* - im Vergleich zu Patienten mit GEP-Net des *midgut* - in wesentlich geringerem Maße tumorassoziierte Komplikationen wie die Karzinoid-Herzerkrankung. Subgruppen von Patienten mit GEP-NET des *hindgut*, die anhand von Kriterien wie Metastasierung, Differenzierungsgrad und Proliferationsrate gewählt wurden, weisen eine deutlich unterschiedliche Prognose bezüglich des Überlebens auf.

Somit scheinen neuroendokrine Tumore, die sich hinsichtlich ihrer Primärtumoralokalisation unterschiedlichen embryonalen Strukturen zuordnen lassen, auch unterschiedliche klinische Verhaltensmuster aufzuweisen (Onaitis et al., 2000; Van Gompel et al., 2004). Eine Subsummierung von GEP-NET des *midgut* und des *hindgut* bezüglich ihres klinischen Verhaltens, ihrer Markerexpression, oder sich daraus ableitender Screening- und Behandlungsstrategien, wie es in der klinischen Routine derzeit häufig angewendet wird, erscheint aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit, sowie der in der Literatur vorliegenden Daten nicht gerechtfertigt zu sein. Beide Tumorerkrankungen sind als unterschiedliche Entitäten zu betrachten, für die jeweils individuelle Strategien in der Diagnostik, der Behandlung und der Verlaufskontrolle zu entwickeln sind.

6 Zusammenfassung

6.1 Deutsche Zusammenfassung

Hintergrund und Ziele:

Chromogranin A stellt einen in der klinischen Routine häufig verwendeten Tumormarker für maligne neuroendokrine Tumoren dar. Bei Patienten mit GEP-NET des *midgut* erlaubt die Bestimmung von CgA vor allem im Falle eines rapiden Anstiegs Aussagen über die Prognose der betroffenen Patienten. Daten über die Bedeutung von CgA für GEP-NET des *hindgut* sind derzeit nur in geringem Maße vorhanden. Aufgrund der niedrigen Inzidenz von GEP-NET sowie der Lokalisation von GEP-NET des *hindgut* und *midgut* im Bereich des Darms werden beide Tumorentitäten bezüglich ihres klinischen Verhaltens, ihrer Markerexpression, oder sich daraus ableitender Screening- und Behandlungsstrategien häufig zusammengefasst. Ziel dieser Arbeit war es deshalb, die Bedeutung von Chromogranin A in der histologischen Diagnostik sowie als biochemischen Tumormarker in der Primärdiagnostik und Verlaufsbeobachtung bei Patienten mit GEP-NET des *hindgut* zu evaluieren als auch mit Ergebnissen von Patienten mit GEP-NET des *midgut* zu vergleichen.

Material und Methoden:

Daten von 28 Patienten aus einem in der Universitätsklinik Marburg angelegten Tumorregister für Patienten mit neuroendokrinen Tumoren wurden retrospektiv untersucht. Es wurden Informationen zum klinischen Verlauf, zur Histologie bei Diagnosestellung, zum Verlauf von Tumormarkern wie Chromogranin A, Serotonin, 5-HIES und CEA, zu bildgebenden Untersuchungen, Krankheitsverlauf und tumorassoziierten Komplikationen sowie dem Überleben dieser Patienten ausgewertet.

Ergebnisse:

Chromogranin A stellt einen geeigneten Marker in der histologischen Diagnostik von GEP-NET des *hindgut* dar. Eine äquivalente Aussagekraft zu Tumorlast,

Überleben oder Prognose konnte jedoch für die Bestimmung von CgA im Plasma nicht nachgewiesen werden, da das CgA nur in sehr geringem Maße sezerniert wird und auch im Falle eines radiologisch nachgewiesenen Tumorprogresses nicht signifikant ansteigt. Auch die untersuchten Tumormarker Serotonin und 5-HIES, die in der Verlaufsbeobachtung neuroendokriner Tumore des *midgut* von Bedeutung sind, erlauben keine Aussage zur Beurteilung der GEP-NET des *hindgut*. Eine Korrelation zwischen dem CgA-Wert und der Prognose – wie sie für Patienten mit GEP-NET des *midgut* besteht - konnte in diesem Fall nicht bestätigt werden. Somit unterscheiden sich GEP-NET des *midgut* und *hindgut* bezüglich ihrer Bedeutung der in dieser Arbeit untersuchten Tumormarker.

Patienten mit GEP-NET des *hindgut* haben eine relativ gute Prognose mit einer 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 71%. Durch eine Einteilung des Patientenkollektivs in drei Subgruppen anhand von Kriterien wie Metastasenstatus, Proliferationsrate und Grading, zeigten sich stark voneinander abweichende Überlebenswahrscheinlichkeiten. Patienten, deren Tumor durch eine hohe Proliferationsrate (Ki-67 größer 30%) und schlechter Differenzierung (G3) zeigen eine deutlich schlechte Prognose auf mit einer 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von nur 14%.

Das Auftreten einer Karzinoid-Herzkrankung als eine schwerwiegende tumorassoziierte Komplikation ist bei den Patienten mit GEP-NET des *hindgut* nicht sehr wahrscheinlich.

Eine Subsummierung von GEP-NET des *midgut* und des *hindgut* bezüglich ihres klinischen Verhaltens, ihrer Markerexpression, oder sich daraus ableitender Screening- und Behandlungsstrategien, wie es in der klinischen Routine derzeit häufig angewendet wird, erscheint aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit, sowie der in der Literatur vorliegenden Daten nicht gerechtfertigt zu sein. Beide Tumorerkrankungen sind als unterschiedliche Entitäten zu betrachten, für die jeweils individuelle Strategien in der Diagnostik, der Behandlung und der Verlaufskontrolle zu entwickeln sind.

6.2 Englische Zusammenfassung (Summary)

Background:

Chromogranin A is a well-established marker to diagnose and follow up patients with gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP-NET). Recently it has been shown that plasma levels of CgA, especially increasing rapidly, correlate with tumor load and predict survival of patients with GEP-NET of the midgut. Due to lack of confirmed information about and the low incidence of GEP-NET of the hindgut, it is assumed that both tumor entities behave similarly concerning clinical behaviour and expression of marker proteins and can therefore be screened and treated similarly. One of the work's intentions was to figure out the importance of CgA for histological staining as well as a serum marker for GEP-NET of the hindgut and to compare with those of midgut tumors.

Material and methods:

For this work data of 28 patients with GEP-NET of the hindgut listed in the Marburg GEP-NET register was evaluated retrospectively. These patients were followed up regarding to serum levels of tumor markers like CgA, Serotonin, 5-HIAA and CEA, tumor progression, survival and onset of tumor related complications.

Results:

It could be shown that CgA is a good marker for the histological diagnosis but poor for follow up as only few patients exhibit elevated serum levels of CgA. Serum levels do rarely increase in case of progression. In contrast to midgut GEP-NET there is no correlation of CgA-levels and tumor burden or overall survival of patients with hindgut GEP-NET. CgA is not suitable to mirror tumor burden or prognosis of patients with GEP-NET of the hindgut. Neither do markers like Serotonin, 5-HIAA and CEA reflect the tumor's progress nor the patients' outcome. Therefore GEP-NET of the midgut and the hindgut behave differently concerning the examined tumor markers.

Patients with GEP-NET of the hindgut display a relatively good prognosis resulting in a 5-year-survival rate of 71%.

Three subgroups were identified differing immensely in prognosis. One subset of patients, whose tumors are characterized by a high proliferation rate (Ki-67 >30%) and dedifferentiation (G3), exhibit a very poor prognosis with a 5-year-survival rate of 14%. The carcinoid heart disease as a frequent and life threatening complication of carcinoids is not likely in GEP-NET of the hindgut.

This work shows that GEP-NET of the midgut and the hindgut are different entities and should not be taken together as one group and are not to be treated similarly as they differ immensely concerning clinical behaviour, marker expression, screening and treating pathways.

7 Anhang

7.1 Abkürzungen

5-HIES	5-Hydroxy-Indol-Essigsäure
β-HCG	β humanes Choriongonadotropin
ABC	Avidin Biotin Complex
CEA	karzinoembryonales Antigen
CgA	Chromogranin A
CT	Computertomographie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOTA	Tetra-aza-cyclododecane-tetraacetic-acid
DOTA-TOC	DOTA-Tyrosin-Konjugat mit Octreotide
EC-Zellen	Enterochromaffine Zellen
ECL-Zellen	Enterochromaffin-like Zellen
ECLIA	Elektrochemolumineszenz Immunoassay
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent Assay
ENETS	European Neuroendocrine Tumor Society
GEP	Gastroenteropankreatisch
HPLC	Hochdruckchromatographie
IHC	Immunohistochemistry
kDa	kilo Dalton
MEN	multiple endokrine Neoplasien
MRCP	Magnetresonanzcholangiopankreatikographie
MRT	Magnetresonanztomographie
NET	neuroendokriner Tumor
NKA	Neurokinin A
NSE	Neuron-spezifische Enolase
PBS	Phosphate buffered Saline
PET	Positronenemissionstomographie
PGP	Protein-Gen-Produkt
SIRT	selektive interne Strahlentherapie
TACE	transarterielle Chemoembolisation

TBS	Tris-Buffered Saline
TM	Trademark
TNM	T = Tumor; N = Nodes = Lymphknoten; M = Metastasen
U/l	Units pro Liter
VIP	vasoaktives intestinales Peptid
WHO	World Health Organisation
z.B.	zum Beispiel

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Natürlicher Krankheitsverlauf bei Patienten mit Karzinoid-Syndrom.....	20
Abbildung 2:	Therapiemöglichkeiten bei Patienten mit neuroendokrinen Tumoren.....	21
Abbildung 3:	Lokalisation der neuroendokrinen Tumore des untersuchten Patientenkollektivs.....	27
Abbildung 4:	Metastasenlokalisationen.....	28
Abbildung 5:	Grading der Primärtumore	28
Abbildung 6:	Somatostatinrezeptorstatus.....	29
Abbildung 7:	Intensität der immunohistochemischen Chromogranin A-Färbung.....	30
Abbildung 8:	Intensität der immunohistochemischen Synaptophysin-Färbung.....	31
Abbildung 9:	Immunhistochemische Beispielspräparate der Chromogranin A- und Synaptophysinfärbung von <i>hindgut</i> - und <i>midgut</i> -Tumorproben.....	32
Abbildung 10:	Serumkonzentrationen von Chromogranin A	33
Abbildung 11:	Serumkonzentrationen von Serotonin.....	33
Abbildung 12:	Serumkonzentrationen von 5-HIES.....	34
Abbildung 13:	Serumkonzentrationen von CEA.....	35
Abbildung 14:	Chromogranin A-Verläufe der Patienten mit neuroendokrinen Tumoren des <i>hindgut</i>	36
Abbildung 15:	Chromogranin A-Verläufe der Patienten mit neuroendokrinen Tumoren des <i>midgut</i>	37
Abbildung 16:	Gesamtüberleben der Patienten mit GEP-NET des <i>hindgut</i>	38
Abbildung 17:	Überlebensraten der Patienten nach Unterteilung in drei Subgruppen	39
Abbildung 18:	Überlebensfunktion nach Primärtumorlokalisation	43
Abbildung 19:	Patienten mit Rechtsherzinsuffizienz und Karzinoid-Herzerkrankung	44
		68

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Klassifikation der neuroendokrinen Tumore des gastroenteropankreatischen Systems.....	7
Tabelle 2:	Klassifikation der neuroendokrinen Tumore aus Ileum, Zaekum, Kolon und Rektum.....	7
Tabelle 3:	TNM - Stadien für endokrine Tumore in Kolon und Rektum.....	8
Tabelle 4:	Staging für endokrine Tumore von Kolon und Rektum.....	9
Tabelle 5:	Mögliches Grading für GEP-NET aus Ileum, Appendix, Kolon und Rektum	9
Tabelle 6:	Übersicht über neuroendokrine Tumore des Gastrointestinaltraktes	10
Tabelle 7:	Charakteristika der Patienten der Subgruppe 1	40
Tabelle 8:	Charakteristika der Patienten der Subgruppe 2	40
Tabelle 9:	Charakteristika der Patienten der Subgruppe 3	41
Tabelle 10:	Chromogranin A-Werte und Überleben der Patienten.....	42
Tabelle 11:	Zirkulierende Peptide bei neuroendokrinen Neoplasien.....	55

7.4 Literatur

1. **Ardill, J. E. und Eriksson, B.** (2003). "The importance of the measurement of circulating markers in patients with neuroendocrine tumours of the pancreas and gut." *Endocr Relat Cancer* 10(4): 459-62.
2. **Arnold, B., Krusche S., Brabant G.** (2004). "Neuroendokrine Tumoren." *Der Onkologe* 10(6): 560-569.
3. **Arnold, C. N., Nagasaka, T., et al.** (2008). "Molecular characteristics and predictors of survival in patients with malignant neuroendocrine tumors." *Int J Cancer* 123(7): 1556-1564.
4. **Arnold, R.** (2005). "Endocrine tumours of the gastrointestinal tract. Introduction: definition, historical aspects, classification, staging, prognosis and therapeutic options." *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 19(4): 491-505.
5. **Arnold, R., Wilke, A., et al.** (2008). "Plasma chromogranin A as marker for survival in patients with metastatic endocrine gastroenteropancreatic tumors." *Clin Gastroenterol Hepatol* 6(7): 820-827.
6. **Auernhammer, C. J., Assmann, G., et al.** Neuroendokrine Tumoren des Gastrointestinaltraktes. [Buchabschnitt] In: Auernhammer, C. J., Göke, B., Fürst, H. und Reincke, M. *Endokrine Tumoren - Empfehlung zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge, Teil 2, 2. Auflage.* Zuckerscherdt-Verlag München (2008). S. 115-189
7. **Bajetta, E., Ferrari, L., et al.** (1999). "Chromogranin A, neuron specific enolase, carcinoembryonic antigen, and hydroxyindole acetic acid evaluation in patients with neuroendocrine tumors." *Cancer* 86(5): 858-865.
8. **Calhoun, K., Toth-Fejehl, S., et al.** (2003). "Serum peptide profiles in patients with carcinoid tumors." *Am J Surg* 186(1): 28-31.
9. **Campana, D., Nori, F., et al.** (2007). "Chromogranin A: is it a useful marker of neuroendocrine tumors?" *J Clin Oncol* 25(15): 1967-1973.

10. **Eriksson, B., Oberg, K., et al.** (2000). "Tumor markers in neuroendocrine tumors." *Digestion* 62 Suppl 1: 33-38.
11. **Federspiel, B. H., Burke, A. P., et al.** (1990). "Rectal and colonic carcinoids. A clinicopathologic study of 84 cases." *Cancer* 65(1): 135-40.
12. **Gabriel, M., Decristoforo, C., et al.** (2007). "68Ga-DOTA-Tyr3-octreotide PET in neuroendocrine tumors: comparison with somatostatin receptor scintigraphy and CT." *J Nucl Med* 48(4): 508-518.
13. **Goebel, S. U., Serrano, J., et al.** (1999). "Prospective study of the value of serum chromogranin A or serum gastrin levels in the assessment of the presence, extent, or growth of gastrinomas." *Cancer* 85(7): 1470-83.
14. **Gregorc, V., Spreafico, A., et al.** (2007). "Prognostic value of circulating chromogranin A and soluble tumor necrosis factor receptors in advanced nonsmall cell lung cancer." *Cancer* 110(4): 845-853.
15. **Janson, E. T., Holmberg, L., et al.** (1997). "Carcinoid tumors: analysis of prognostic factors and survival in 301 patients from a referral center." *Ann Oncol* 8(7): 685-690.
16. **Kasprzak, A., Zabel, M., et al.** (2007). "Selected markers (chromogranin A, neuron-specific enolase, synaptophysin, protein gene product 9.5) in diagnosis and prognosis of neuroendocrine pulmonary tumours." *Pol J Pathol* 58(1): 23-33.
17. **Klöppel, G. und Anlauf, M.** (2005). "Epidemiology, tumour biology and histopathological classification of neuroendocrine tumours of the gastrointestinal tract." *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 19(4): 507-517.
18. **Klöppel, G., Perren, A., et al.** (2004). "The gastroenteropancreatic neuroendocrine cell system and its tumors: the WHO classification." *Ann N Y Acad Sci* 1014: 13-27.
19. **Kwaan, M. R., Goldberg, J. E., et al.** (2008). "Rectal carcinoid tumors: review of results after endoscopic and surgical therapy." *Arch Surg* 143(5): 471-5.

20. **Maggard, M. A., O'Connell, J. B., et al.** (2004). "Updated population-based review of carcinoid tumors." *Ann Surg* 240(1): 117-122.
21. **Mani, S., Modlin, I. M., et al.** (1994). "Carcinoids of the rectum." *J Am Coll Surg* 179(2): 231-48.
22. **Matsui, K., Iwase, T., et al.** (1993). "Small, polypoid-appearing carcinoid tumors of the rectum: clinicopathologic study of 16 cases and effectiveness of endoscopic treatment." *Am J Gastroenterol* 88(11): 1949-1953.
23. **Modlin, I. M., Kidd, M., et al.** (2005). "Current status of gastrointestinal carcinoids." *Gastroenterology* 128(6): 1717-1751.
24. **Modlin, I. M., Latich, I., et al.** (2006). "Gastrointestinal carcinoids: the evolution of diagnostic strategies." *J Clin Gastroenterol* 40(7): 572-582.
25. **Modlin, I. M., Lye, K. D., et al.** (2003). "A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors." *Cancer* 97(4): 934-959.
26. **Namwongprom, S., Wong, F. C., et al.** (2008). "Correlation of chromogranin A levels and somatostatin receptor scintigraphy findings in the evaluation of metastases in carcinoid tumors." *Ann Nucl Med* 22(4): 237-243.
27. **Nehar, D., Lombard-Bohas, C., et al.** (2004). "Interest of Chromogranin A for diagnosis and follow-up of endocrine tumours." *Clin Endocrinol (Oxf)* 60(5): 644-52.
28. **Nobels, F. R., Kwekkeboom, D. J., et al.** (1998). "Chromogranin A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours." *Eur J Clin Invest* 28(6): 431-40.
29. **Nobels, F. R., Kwekkeboom, D. J., et al.** (1997). "Chromogranin A as serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones." *J Clin Endocrinol Metab* 82(8): 2622-8.
30. **Oberg, K.** (1998). "Gastric neuroendocrine cells and secretory products." *Yale J Biol Med* 71(3-4): 149-54.

-
31. **Öberg, K.** (2002). "Carcinoid tumors: molecular genetics, tumor biology, and update of diagnosis and treatment." *Curr Opin Oncol* 14(1): 38-45.
 32. **Öberg, K.** (2005). "Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract: recent advances in molecular genetics, diagnosis, and treatment." *Curr Opin Oncol* 17(4): 386-391.
 33. **Öberg, K. und Jelic, S.** (2008). "Neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up." *Ann Oncol* 19 Suppl 2: ii104-105.
 34. **Onaitis, M. W., Kirshbom, P. M., et al.** (2000). "Gastrointestinal carcinoids: characterization by site of origin and hormone production." *Ann Surg* 232(4): 549-556.
 35. **Pirker, R. A., Pont, J., et al.** (1998). "Usefulness of chromogranin A as a marker for detection of relapses of carcinoid tumours." *Clin Chem Lab Med* 36(11): 837-40.
 36. **Plöckinger U und B, W.** (2004). "Neuroendokrine Tumoren des Gastrointestinaltraktes." *Zeitschrift für Gastroenterologie* 42: 517-526.
 37. **Plöckinger, U., Rindi, G., et al.** (2004). "Guidelines for the diagnosis and treatment of neuroendocrine gastrointestinal tumours. A consensus statement on behalf of the European Neuroendocrine Tumour Society (ENETS)." *Neuroendocrinology* 80(6): 394-424.
 38. **Ramage, J. K., Goretzki, P. E., et al.** (2008). "Consensus guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine tumours: well-differentiated colon and rectum tumour/carcinoma." *Neuroendocrinology* 87(1): 31-39.
 39. **Rindi, G. und Kloppel, G.** (2004). "Endocrine tumors of the gut and pancreas tumor biology and classification." *Neuroendocrinology* 80 Suppl 1: 12-5.
 40. **Rindi, G., Kloppel, G., et al.** (2006). "TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system." *Virchows Arch* 449(4): 395-401.

41. **Rindi, G., Kloppel, G., et al.** (2007). "TNM staging of midgut and hindgut (neuro) endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system." *Virchows Arch* 451(4): 757-762.
42. **Scholzen, T. und Gerdes, J.** (2000). "The Ki-67 protein: from the known and the unknown." *J Cell Physiol* 182(3): 311-322.
43. **Schürmann, G., Raeth, U., et al.** (1992). "Serum chromogranin A in the diagnosis and follow-up of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic tract." *World J Surg* 16(4): 697-701; discussion 701-2.
44. **Shebani, K. O., Souba, W. W., et al.** (1999). "Prognosis and survival in patients with gastrointestinal tract carcinoid tumors." *Ann Surg* 229(6): 815-821; discussion 822-3.
45. **Sondenaa, K., Sen, J., et al.** (2004). "Chromogranin A, a marker of the therapeutic success of resection of neuroendocrine liver metastases: preliminary report." *World J Surg* 28(9): 890-5.
46. **Stivanello, M., Berruti, A., et al.** (2001). "Circulating chromogranin A in the assessment of patients with neuroendocrine tumours. A single institution experience." *Ann Oncol* 12 Suppl 2: S73-7.
47. **Stridsberg, M., Eriksson, B., et al.** (2003). "A comparison between three commercial kits for chromogranin A measurements." *J Endocrinol* 177(2): 337-41.
48. **Taupenot, L., Harper, K. L., et al.** (2003). "The chromogranin-secretogranin family." *N Engl J Med* 348(12): 1134-49.
49. **Tomassetti, P., Campana, D., et al.** (2005). "Endocrine pancreatic tumors: factors correlated with survival." *Ann Oncol* 16(11): 1806-1810.
50. **Tomoda, H., Furusawa, M., et al.** (1989). "The policy of surgery for small carcinoid tumors of the rectum." *Jpn J Surg* 19(5): 544-548.
51. **Turner, G. B., Johnston, B. T., et al.** (2006). "Circulating markers of prognosis and response to treatment in patients with midgut carcinoid tumours." *Gut* 55(11): 1586-91.

52. **Van Gompel, J. J., Sippel, R. S., et al.** (2004). "Gastrointestinal carcinoid tumors: factors that predict outcome." *World J Surg* 28(4): 387-392.
53. **Vinik, A. I., McLeod, M. K., et al.** (1989). "Clinical features, diagnosis, and localization of carcinoid tumors and their management." *Gastroenterol Clin North Am* 18(4): 865-896.
54. **Vogelsang, H. und Siewert, J. R.** (2005). "Endocrine tumours of the hindgut." *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 19(5): 739-51.
55. **Westberg, G., Wangberg, B., et al.** (2001). "Prediction of prognosis by echocardiography in patients with midgut carcinoid syndrome." *Br J Surg* 88(6): 865-872.
56. **Williams, E. D.** (1963). "The Classification of Carcinoid Tumours." *The Lancet*: 238-239
57. **Williams, G. T.** (2007). "Endocrine tumours of the gastrointestinal tract-selected topics." *Histopathology* 50(1): 30-41.
58. **Woltering, E. A., Hilton, R. S., et al.** (2006). "Validation of serum versus plasma measurements of chromogranin a levels in patients with carcinoid tumors: lack of correlation between absolute chromogranin a levels and symptom frequency." *Pancreas* 33(3): 250-4.
59. **Zatelli, M. C., Torta, M., et al.** (2007). "Chromogranin A as a marker of neuroendocrine neoplasia: an Italian Multicenter Study." *Endocr Relat Cancer* 14(2): 473-482.
60. **Zuetenhorst, J. M., Bonfrer, J. M., et al.** (2003). "Carcinoid heart disease: the role of urinary 5-hydroxyindoleacetic acid excretion and plasma levels of atrial natriuretic peptide, transforming growth factor-beta and fibroblast growth factor." *Cancer* 97(7): 1609-1615.

7.5 Tabellarischer Lebenslauf

*Seite 76 (Lebenslauf) enthält persönliche Daten.
Sie ist deshalb nicht Bestandteil der Online-Veröffentlichung.*

7.6 Verzeichnis der akademischen Lehrerinnen und Lehrer

Meine akademischen Lehrerinnen und Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Damen und Herren:

Alter, Arnold, Aumüller, Barth, Blaser, Basler, Bauer, Baum, Baumann, Becker, Berger, Braun, Cetin, Czubayko, Daut, Dabrock, Dettmeyer, Eberhardt, Feuser, Fuchs-Winkelmann, Gerdes, Görg, Grundmann, Grzeschik, Gudermann, Hadji, Hermann-Lingen, Hanschmann, Hertl, Hilt, Hoffmann, Jungclas, Kann, Klaus, Klose, Koolman, Krieg, Kroll, Lang, Lenz, Lill, Lohoff, Löffler, Lüers, Maisch, Maier, Mann, Martin, Mittag, Moll, Moosdorf, Müller, Müller-Brüsselbach, Mutters, Neubauer, Oertel, Pagenstecher, Plant, Renz, Richter, Röhm, Rothmund, Schäfer, Schmidt, Schneider, Seitz, Steiniger, Suske, Tibesku, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Werner, Westermann, Wulf

7.7 Danksagung

Mit der Einreichung der Dissertationsschrift möchte ich mich nochmals bei denjenigen bedanken, die mich besonders und in vielfältiger Weise begleitet und unterstützt haben.

Zunächst bedanke ich mich bei Herrn Dr. König für das Bereitstellen des Themas und der Hilfe bei der Auswertung der Patientendaten, sowie bei Herrn Prof. Dr. Ellenrieder für die schnelle und zuverlässige Hilfe in der Endphase der Arbeit.

Ein besonderes Wort des Dankes möchte ich an meinen Freund Fabian richten, der mir nicht nur bei technischen und inhaltlichen Problemen stets zur Seite stand. Geduldig ertrug er Höhen und Tiefen, überstand mit mir die Zeiten der überstrapazierten Nerven und gab mir mit konstruktiver Kritik und vielen Ideen immer wieder den nötigen Aufschwung. Ganz besonders danken möchte ich auch meinen Eltern, die mich nicht nur in finanzieller Hinsicht während des Studiums unterstützt haben. Für die mentale Unterstützung und Aufmunterung, sowie die Korrektur der Arbeit möchte ich Frau Dr. Mittenzwey und Frau Goldberg danken, die damit einen wichtigen Beitrag zum Gelingen meiner Doktorarbeit geleistet haben.

7.8 Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Chromogranin A als Parameter bei der Diagnosestellung und in der Verlaufsbeobachtung von Patienten mit gastroenteropankreatischen neuroendokrinen Tumoren des hindgut“ in der Klinik für Gastroenterologie unter Leitung von Prof. Dr. med. Thomas M. Gress in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg, ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

.....

Ort , Datum

.....

Unterschrift