

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Hepatobiliäre Chirurgie und Transplantationschirurgie

Prof. Dr. med. Björn Nashan FACS, FRCSC, FEBS

Klinische und histologische Charakterisierung von Leberzelladenomen – eine retrospektive Analyse

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Anna Maria Platzmann
aus Berlin

Hamburg 2012

(wird von der Medizinischen Fakultät ausgefüllt)

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 12.02.2013**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Björn Nashan

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Christoph Schramm

Prüfungsausschuss, dritter Gutachter: Prof. Dr. Hansjörg Schäfer

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	6
1.1	Allgemeines.....	6
1.2	Genotyp-Phänotyp Klassifikation von Leberzelladenomen.....	9
1.2.1	Genetische Grundlagen.....	10
1.3	Die Bordeaux Klassifikation.....	12
1.4	Die Heidelberger Klassifikation.....	13
1.5	Fragestellung.....	16
2	Patienten und Methoden.....	17
2.1	Patienten.....	17
2.2	Methoden.....	17
2.2.1	Histologie und Immunhistochemie.....	17
2.2.2	Gewebeeinbettung und Herstellung ungefärbter Schnittpräparate (sog. „Leerschnitte“)......	18
2.2.3	Angewandte Verfahren.....	18
2.2.4	Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung.....	19
2.2.5	Immunhistochemie.....	19
2.2.5.1	Färbungen mit dem Autostainer.....	20
2.2.5.2	Färbungen mit dem BOND-Automaten.....	21
2.2.6	Befund-Erhebung.....	22
2.3	Statistik.....	24
3	Ergebnisse.....	24
3.1.	Histologie.....	24
3.1.1	Genetisch fettreiche Adenome.....	24
3.1.2	Sekundär fettreiche Adenome.....	25
3.1.3	Inflammatorische Adenome.....	26
3.1.4	Beta-Catenin-positive Adenome.....	27
3.1.5	Sonstige Adenome.....	28
3.1.6	Adenom/Karzinom.....	28
3.2.	Statistik.....	29
3.2.1	Geschlechterverteilung.....	29
3.2.2	Alter.....	30

3.2.3	BMI.....	30
3.2.4	Einnahme oraler Kontrazeptiva.....	31
3.2.5	Diagnosestellung.....	32
3.2.6	Adenomgröße.....	33
3.2.7	Adenomanzahl.....	34
3.2.8	Operationen und Tumorlokalisationen.....	35
3.2.9	OP-Komplikationen.....	36
3.2.10	Comorbiditäten.....	37
3.2.11	Labor.....	38
3.2.12	Tumormarker.....	39
3.2.13	Follow-Up und Tumorrekurrenzen.....	39
4	Diskussion.....	41
4.1	Histologie.....	41
4.1.1	Morphologie der Subtypen.....	41
4.1.2	Allgemeines zur Histologie.....	42
4.2.	Klinik.....	44
4.2.1	HNF1- α mutierte Subtyp (genetisch fettreicher Subtyp).....	44
4.2.2	Sekundär fettreicher Subtyp.....	45
4.2.3	Inflammatorischer Subtyp.....	46
4.2.4	β -Catenin mutierter Subtyp.....	47
4.2.5	Sonstige Adenome.....	48
4.2.6	Adenom/Karzinom.....	49
4.3	Statistische Auswertung.....	50
4.3.1	Geschlechterverteilung und Alter.....	51
4.3.2	BMI.....	51
4.3.3	Einnahme oraler Kontrazeptiva.....	51
4.3.4	Diagnosestellung.....	51
4.3.5	Adenomgröße.....	51
4.3.6	Tumoranzahl.....	51
4.3.7	Tumorlokalisation.....	52
4.3.8	Labor.....	52
4.3.9	Tumormarker.....	52

4.3.10	Operationen.....	53
4.3.11	Komplikationen.....	53
4.3.12	Rekurrenzen/Rezidive.....	54
4.4	Schlussfolgerung und Ausblick.....	55
5	Zusammenfassung.....	59
6	Abkürzungsverzeichnis.....	61
7	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	62
8	Literaturverzeichnis.....	64
9	Danksagung.....	72
10	Lebenslauf.....	73
11	Eidesstattliche Erklärung.....	74

1 Einleitung und Problemstellung

1.1 Allgemeines

Epidemiologie: Das Hepatozelluläre Adenom (HCA) ist ein seltener, primär gutartiger, epithelialer Tumor der Leber. Es tritt bevorzugt bei Frauen im gebärfähigen Alter auf, die orale Kontrazeptiva einnehmen. Die Krankheit existierte vor Einführung der oralen Antikonzeptiva kaum, vor 1954 wurden nur 2 Fälle unter 5000 Autopsien über einen Zeitraum von 36 Jahren entdeckt (Edmondson 1958).

Weitere Risikofaktoren neben der Einnahme von oralen Kontrazeptiva sind die Einnahme von Anabolika und metabolische Störungen des Glukosestoffwechsels, wie z.B. Maturity-onset Diabetes of the Young (MODY) Typ III.

Inzidenz: Insgesamt ist die Inzidenz mit weniger als 5 Fällen pro 1 Million Einwohnern sehr gering (Luka 1964). Bei Frauen, die längere Zeit orale Antikonzeptiva nehmen, steigt sie jedoch auf 3-4 Fälle pro 100.000 Einwohner an (Rooks et al. 1979). Generell gilt, dass ein erhöhter Östrogenspiegel im Körper, der z.B. auch durch Adipositas erhöht sein kann, ein Leberzelladenom begünstigt.

Klinik: Das Leberzelladenom äußert sich bei den meisten Patienten durch Oberbauchschmerzen, es kann allerdings auch klinisch stumm sein und nur durch Zufall, z.B. durch erhöhte Transaminasen im Plasma entdeckt werden.

Differenzialdiagnosen: Die fokal noduläre Hyperplasie (FNH) und der dysplastische Knoten sind ebenfalls gutartige Tumoren der Leber. Die FNH zeichnet sich vor allem dadurch aus, dass sie ebenfalls bei jungen Frauen, die orale Kontrazeptiva einnehmen, auftritt, niemals maligne transformiert und im Gegensatz zum Adenom nur in Ausnahmefällen blutet. Histologisch lässt sie sich gut vom Adenom unterscheiden. Die Ausnahme bildet ein Subtyp, die sog. teleangiektatische FNH, der neuerdings zu den Adenomen gezählt wird (Bioulac-Sage et al. 2007).

Als andere Differenzialdiagnose gibt es das hepatozelluläre Karzinom (HCC), das vor allem im hochdifferenzierten Stadium auch histologisch oft nur schwer vom Adenom abgrenzbar ist. Das HCC ist als weltweit sechsthäufigster Tumor und als dritthäufigste tumorbedingte Todesursache (Parkin et al. 2002) eine sehr ernste Differenzialdiagnose und sollte unbedingt ausgeschlossen werden.

Adenomatose: Findet man in einer Leber 10 oder mehr Adenomknoten, bezeichnet man das Krankheitsbild als Adenomatose. Eine neuere Studie (Bioulac-Sage et al. 2009) besagt, dass nicht die Anzahl, sondern die Tumorgröße entscheidend für die Adenomtherapie und Prognose ist. Insgesamt ist die Adenomatose sehr selten und sollte an eine Stoffwechselstörung, wie den MODY3-Diabetes, denken lassen (Bioulac-Sage et al. 2009).

Komplikationen: Als mögliche Komplikation ist zum einen das Blutungsrisiko zu nennen. Dabei kann der Tumor entweder innerhalb der Leber oder aber auch durch Ruptur in das Peritoneum bluten. Das Blutungsrisiko ist umso größer, je größer der Tumor ist (Buell et al. 2010). Als weitere Hauptkomplikation gilt das Transformationsrisiko zum HCC.

Bildgebung: Die meisten Adenome werden durch Ultraschall-Untersuchungen entdeckt, dort sind sie meistens echoarm, „...nicht lobuliert, dafür oft gekapselt. Dann grenzen sie sich scharf ab und erscheinen glatt konturiert.“ (Wermke 2006). Bei Vorliegen einer Kapsel erkennt man Adenome im Doppler-Ultraschall mit Kontrastmittel in der arteriellen Phase gut an den subkapsulären Gefäßen, die sie zentripetal durchbluten (Wermke 2006). In der portalvenösen Phase ist in der Regel kein Kontrastmittel mehr nachweisbar, da sich das Adenom schnell auswäscht (van den Esschert et al. 2010).

Jedoch können Adenome sehr verschieden aussehen, je nach Art der Veränderungen im Tumor: einfache Adenome sind echoarm, fetthaltige Adenome erscheinen echoreich, eingeblutete Adenome mit Nekrosen erscheinen echoarm- und reich; wenn sie Kalzifikationen haben, sind sie ebenfalls echoreich und haben einen Schallschatten (Hung et al. 2001).

Die FNH ist im Vergleich zum Adenom ebenso unterschiedlich im Ultraschall, typischerweise ist sie echoarm und enthält eine zentrale Narbe (van den Esschert et al. 2010).

In der Computertomographie (CT) sieht man ebenfalls eine Reihe unterschiedlicher Muster je nach Verfettung, Nekrose oder Einblutung im Adenom (van den Esschert et al. 2010). Besser eignet sich das Kontrastmittel-CT, in dem das Adenom in der frühen arteriellen Phase hyperdens und hyper- bis isodens in der portalvenösen Phase wird (van den Esschert et al. 2010). Bei großen subkapsulären Gefäßen kann es zu einer peripheren Kontrastmittelanreicherung kommen (Grazioli et al. 2001). In der Spätphase wird das Kontrastmittel ausgewaschen und der Tumor erscheint hypodens im Vergleich zur

normalen Leber (van den Esschert et al. 2010). Bei 25-30% der Tumoren gibt es eine Pseudokapsel (Grazioli et al. 2001).

In der Magnetresonanztomographie (MRT) sieht man das Adenom als hyper- bzw. isointens in T2 gewichteten Bildern. In T1 gewichteten Bildern gibt es alle Signalintensitäten zwischen hypo- und hyperintens (van den Esschert et al. 2010). Allgemein eignet sich die MRT aber besser, um auch kleine Mengen Fett aufzuspüren, die in Adenomen häufiger zu finden sind. Die Bilder sind sehr variabel je nach Verfettung, nekrotischen Arealen und Einblutungen (Laumonier et al. 2008). Kontrastmittel-MRT's erlauben eine ebenso variable und differenzierte Darstellung.

Histologie: Allgemeine histologische Kriterien für Leberzelladenome sind das Fehlen von Gallengängen, Zentralvenen und Portalfeldern bei gleichzeitigem Nachweis isolierter Arteriolen. Oft sind die Sinusoide zwischen den Hepatozyten erweitert, was gleichbedeutend einer Peliosis hepatis ist. Das Adenom selbst ist aus hochdifferenzierten hepatozellulären Tumorzellen aufgebaut, die in der Größe ungefähr den normalen Hepatozyten entsprechen (Schirmacher et Longerich 2009) und in der Regel keine zellulären Atypien aufweisen. Die FNH hat im Vergleich eine bindegewebige, sternförmige, zentrale Narbe und die Tumorzellen sind kleiner als die normalen Hepatozyten (Schirmacher et Longerich 2009). Die teleangiektatische FNH hat keine sternförmige Narbe und ist von der Genetik her ebenfalls mehr dem Adenom zuzuordnen, da sie – wie das Adenom – monoklonal ist und somit - im Gegensatz zu den anderen FNH-Formen neoplastischen Charakter hat (Paradis et al. 2004).

In den letzten Jahren wurden die Adenome histologisch subklassifiziert anhand von immunhistochemischen Markern. Dabei konnten vier verschiedene Subtypen identifiziert werden, wobei bei einem Subtyp ein höheres Risiko für die maligne Transformation postuliert wurde. Diese Subtypisierung wird in den Kapiteln 1.2, 1.3 und 1.4 genauer beschrieben.

Probebiopsie: Bei unklarer Bildgebung kann zur Differenzialdiagnose eine Biopsie durchgeführt werden. Bei Vorliegen eines Adenoms, kann dann u.U. immunhistochemisch eine Unterscheidung in verschiedene Subtypen erfolgen. Probleme an diesem Vorgehen ergeben sich daraus, dass ggf. kein repräsentatives Areal biopsiert wurde (sog. sampling

error) und dass das gewonnene Gewebe zur exakten histopathologischen Beurteilung nicht ausreichend ist.

Therapie: Da der Tumor gutartig ist, gibt es keine generelle OP-Indikation. Dennoch erfolgt die Resektion in Abwägung der Risiken bei 89% aller Adenome (Stoot et al. 2010), da ein hohes Rupturrisiko mit Blutungen in die Bauchhöhle bei jedoch geringem Risiko zur malignen Entartung bestehen. Die Tumoren werden meist erst ab einer Größe von 5cm im Durchmesser reseziert, da kleinere Tumoren selten einbluten (Deneve et al 2009).

Die Mortalität bei Ruptur beträgt bei Frauen bis zu 11,4% (Rooks et al. 1979), was bei einem Rupturrisiko von bis zu 25% (Deneve et al. 2009) gravierend ist.

Ein weiterer Grund für die Resektionen ist, dass das Leberzelladenom histologisch oft nur schwer vom hochdifferenzierten HCC abzugrenzen ist, bei dem eine klare Operationsindikation besteht. Das Risiko (bei insgesamt geringen Fallzahlen), ein hochdifferenziertes HCC zu haben, bei Verdacht auf Adenom beträgt in der Studie von Deneve et al. (2009) 4%, bei Cho et al. (2008) sind es 5%, bei Zucmann-Rossi et al. (2006) ebenfalls 6,5%.

Die Adenome werden durchschnittlich zwischen 2 und 20 cm im Durchmesser groß (Böcker et al. 2004); daher kann die Resektion sehr umfangreich sein und erweiterte Leberresektionen erforderlich machen. Da das genaue Entartungsrisiko bildmorphologisch nicht einzuschätzen ist, wäre eine histologische Einteilung, bei der gewisse Merkmale mit dem Risiko zur Entartung korrelieren, erstrebenswert. So ließen sich einerseits unnötige Resektionen vermeiden und andererseits auch klare OP-Indikationen erstellen.

Ein höheres Risiko für Malignität liegt bei Deneve et al. (2009) nur bei größeren Tumoren > 8 cm vor. Dennoch kann nie mit Sicherheit eine maligne Entartung vorhergesagt werden. Bessere histologische Kriterien, die sich nach allgemeinen Risikofaktoren wie Alter, Gewicht, Familienanamnese, Leberzustand und speziellen immunhistochemischen Kriterien richten, wären sehr erstrebenswert, um ein sicheres Risikoprofil erstellen zu können.

1.2 Genotyp-Phänotyp Klassifikation von Leberzelladenomen

Zucman-Rossi et al. haben 2006 eine Studie mit 96 Lebertumoren durchgeführt, die mit großer Wahrscheinlichkeit Leberzelladenome zu sein schienen (Zucman-Rossi et al. 2006). Anhand der Genanalyse dieser Tumoren gelang ihnen eine Einteilung in drei Gruppen:

Gruppe 1: Adenome mit mutiertem hepatocyte nuclear factor 1 α -Rezeptor

(HNF1 α) (46%)

Gruppe 2: Adenome mit β -Catenin Aktivierung (12%)

Gruppe 3: Adenome ohne Mutation

Gruppe 3a) mit inflammatorischem Infiltrat Gruppe 3b) ohne inflammatorisches Infiltrat

Nach der Genanalyse wurden die Adenome histologisch untersucht und man stellte Folgendes fest:

Die Tumoren der Gruppe 1 waren sehr steatotisch, während die in Gruppe 2 häufig „pseudoglanduläre Formationen“, sowie „zytologische Abnormalitäten“ aufwiesen. Die Gruppe 3a mit inflammatorischem Infiltrat zeigte deutliche Gefäßanomalien „...und ähnelte der teleangiektatischen FNH“.

Für alle drei Gruppen wurden noch Assoziationen mit dem HCC untersucht. Von Interesse war, ob es Anteile eines HCC im Adenom oder Übergangsformen von Adenom zu HCC gab:

Die HNF1 α mutierten Adenome hatten nur in 7% der Fälle Assoziation mit einem HCC, während die β -Catenin aktivierten Adenome in 46% der Fälle mit einem HCC assoziierten und die nicht mutierten, nicht inflammatorischen (Gruppe 3b) immerhin in 13% der Fälle (Gruppe 3a hatte 0% Assoziation). Daraus schlussfolgerte die Gruppe, dass eine β -Catenin Mutation im Adenom mit einem höheren Risiko der malignen Transformation einhergeht.

1.2.1 Genetische Grundlagen

Für ein besseres Verständnis der Mutationen möchte ich auf eine Studie von Laurent-Puig und Zucman-Rossi aus dem Jahr 2006 verweisen, die sich mit den genetischen Veränderungen beim HCC beschäftigt haben (Laurent-Puig et Zucman-Rossi 2006).

Dabei fanden sie zwei verschiedene Wege der genetischen Veränderung: zum einen die Veränderungen, die spezifisch für hepatozelluläre Tumoren sind, in diese Gruppe zählt die HNF1 α Mutation, zum anderen die ätiologisch nicht-spezifischen Veränderungen, zu denen die β -Catenin Mutation zählt.

HNF1 α selbst ist ein Transkriptionsfaktor für die Hepatozyten-Differenzierung und die Leber-spezifische Expression vieler Gene, z.B. Albumin (Baumhueter et al. 1990). Kodiert wird HNF1 α vom Transkriptionsfaktor 1 (TCF1), der bei einer Mutation in beiden Allelen

zur Inaktivierung von HNF1 α führt. Dabei gibt es Keimbahnmutationen (die in den Keimzellen vorliegen) und somatische Mutationen, die erst im differenzierten Gewebe auftreten. Interessanterweise wurde ein Zusammenhang zwischen heterozygoten Keimbahnmutationen in TCF1/HNF1 α und dem Auftreten des MODY3 entdeckt (Yamagata et al. 1996). Dies erklärt wohl den Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines Adenoms und dieser sehr seltenen Diabetes-Form. Die meisten Mutationen bei den HNF1 α inaktivierten Adenomen sind jedoch somatisch.

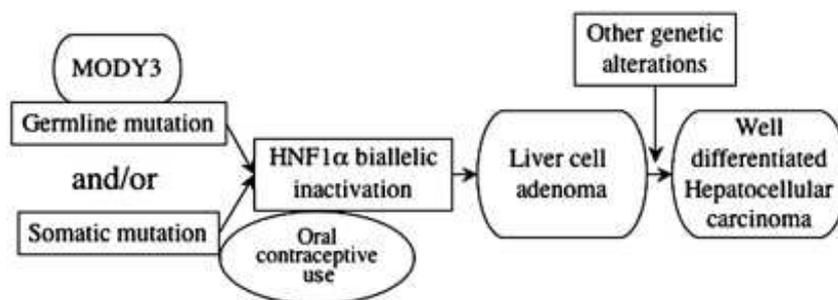


Abbildung 1: TCF1 Mutationen in der HCA Tumorgenese (Bluteau et al. 2002).

Das β -Catenin ist ein Verbindungsprotein zwischen Zelladhäsionsproteinen mit dem Zellzytoskelett; gleichzeitig ist es auch ein Teil des Wnt-Signalweges, bei dem es durch Aktivierung in den Zellkern gelangt und dort als Teil eines Transkriptionsfaktors wirkt und somit ein Protoonkogen ist. Diese Aktivierung passiert bei dominanten Mutationen im N-Terminus des β -Catenins (Morin et al. 1997). Bei diesen Mutationen verliert das β -Catenin seine Phosphorylierungsbindungen, wodurch es frei im Zytoplasma schwimmt und nicht mehr herunterreguliert werden kann. Es wandert in den Zellkern und aktiviert dort die Transkription der Wnt-Gene. Unter den Zielgenen findet man in Abbildung 2 auch die Glutaminsynthetase (GS), auf die in dieser Arbeit noch später eingegangen wird.

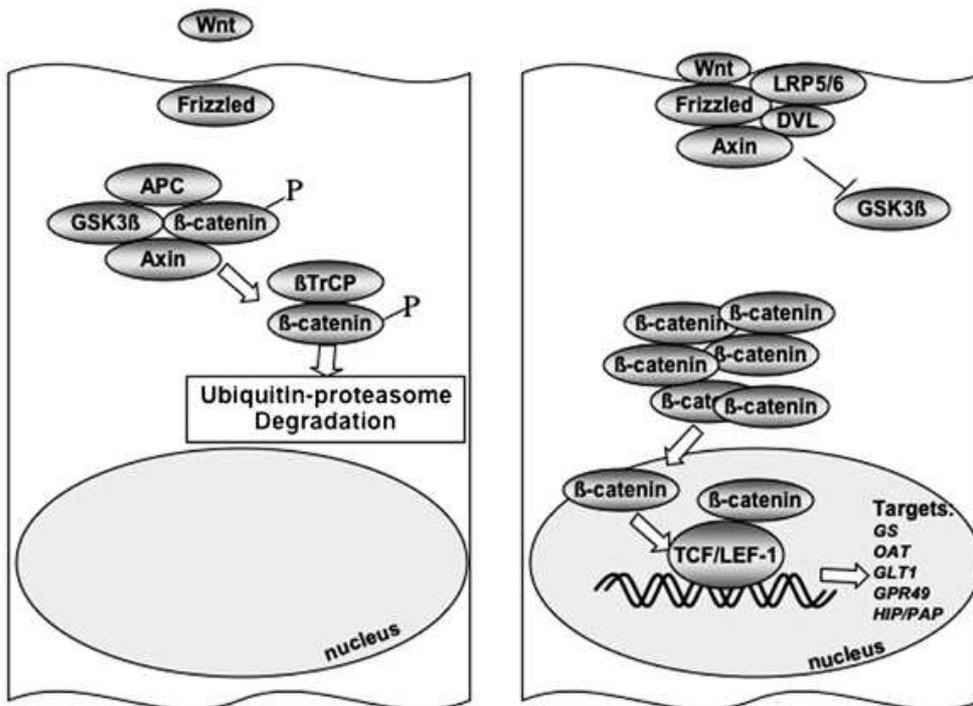


Abbildung 2: Wnt-Signalweg. Im linken Bild sieht man das β -Catenin im nichtaktivierten Zustand, wenn es phosphoryliert im Zytoplasma gebunden ist. Im rechten Bild sieht man, wie das β -Catenin nach der Aktivierung in den Zellkern wandert und dort die Zielgene des Wnt-Signalweges aktiviert (Laurent-Puig et Zucman-Rossi 2006).

1.3 Die Bordeaux Klassifikation

Bioulac-Sage et al. haben 2007 eine Folgestudie durchgeführt, in der sie für die von Zucman-Rossi entdeckten molekulargenetischen Subtypen immunhistochemische Marker fanden, die eine erleichterte Subtypisierung ermöglichten (Bioulac-Sage et al. 2007). Dafür führten sie zunächst eine quantitative Reverse Transkriptase Polymerase Kettenreaktion (QRT-PCR) durch und entdeckten, dass FABP1 (liver fatty acid binding protein) in HNF1 α inaktivierten Adenomen herunterreguliert ist. Außerdem entdeckten sie, dass die GS in β -Catenin-mutierten Adenomen überexprimiert wird und SAA2 (Serum-Amyloid A2) und CRP (C-reaktives Protein) im inflammatorischen Adenom hochreguliert sind. Anschließend validierten sie die immunhistochemischen Marker und differenzierten so 4 verschiedene Subtypen:

1. Adenome, die kein liver fatty acid binding protein (LFABP) exprimieren als Adenome mit mutiertem HNF1 α -Gen. In dieser Gruppe fanden sie häufiger „...Steatose ([im] Tumor), Mikroadenome...und zusätzliche gutartige Knoten...“ (Bioulac-Sage et al. 2009).
2. Adenome mit „...aberrierender nukleärer β -Catenin-Expression...“ (Bioulac-Sage et al. 2009) und vermehrt exprimierter Glutaminsynthetase (Bioulac-Sage et al. 2007) als

Adenome mit β -Catenin Mutation. Sechs Patienten von 128 entwickelten HCC...“, von diesen gehörten alle in die β -Catenin positive Gruppe (Bioulac-Sage et al. 2009).

3. Adenome, die „...inflammatorische Proteine [wie] SAA und/oder C-reaktives Protein (CRP) [exprimieren] als inflammatorische Adenome...“ (Bioulac-Sage et al. 2009). Ein „...Body Mass Index (BMI) größer 25, Peliose ([im] Tumor) und Steatose in der Hintergrundleber waren häufiger in inflammatorischen Adenomen.“ Unter den inflammatorischen Adenomen fanden sie einige, die ebenfalls eine vermehrte nukleäre β -Catenin Expression aufwiesen, diese zählten sie dann zur β -Catenin positiven Gruppe (Bioulac-Sage et al. 2009). 2007 fiel ihnen auf, dass inflammatorische Adenome mehr makroskopische und mikroskopische Blutungen haben (Bioulac-Sage et al. 2007).

4. Adenome ohne die o.g. phänotypischen Marker

Anhand dieser Ergebnisse kamen sie zum gleichen Schluss wie Zucman-Rossi et al. 2006, dass Adenome mit vermehrter β -Catenin Aktivierung, in diesem Fall die vermehrte nukleäre Expression, mit einem höheren Transformationsrisiko einhergehen (Bioulac-Sage et al. 2009).

1.4 Die Heidelberger Klassifikation

Schirmacher und Longerich haben ebenfalls im Jahr 2009 in Heidelberg eine genauere Beschreibung der Subklassifikationen vorgenommen:

1. Typ 1 ist „der klassische Typ“, der „...durch eine verminderte Expression des HNF1 α -abhängigen <Liver-Fatty Acid Binding Protein> LFABP auch immunhistologisch dargestellt werden kann“ (Schirmacher und Longerich, 2009). In diesen LFABP negativen Adenomen fände man typischerweise eine vermehrte Verfettung, dafür „...keine inflammatorischen Infiltrate und kein Transformationsrisiko“ (Schirmacher und Longerich, 2009).

2. Typ 2 beschreiben die Heidelberger als „atypische Adenome“, „...die durch zelluläre Atypien und fehlende Verfettung gekennzeichnet...“ (Schirmacher und Longerich, 2009) seien. Dabei sei eine β -Catenin Mutation des Öfteren die molekulare Grundlage, welche immunhistochemisch durch eine nukleäre β -Catenin Aktivierung oder eine Aktivierung der

Glutaminsynthetase (GS) nachweisbar sei. Bei diesem Typ wisse man um das hohe Risiko der malignen Entartung, weshalb eine primäre OP Indikation bestehe.

3. Typ 3 ist der sogenannte „inflammatorische Typ“, der durch „...den Nachweis Zytokeratin-(CK-)7-positiver duktilärer Strukturen“ gekennzeichnet ist, „...die sonst im Leberzelladenom in der Regel fehlen“ (Schirmacher und Longerich, 2009). Zytokeratin 7 wird typischerweise in Gallengängen exprimiert, die normalerweise im Adenom nicht vorhanden sind. Diese Formationen werden als neoduktiläre Metaplasien bezeichnet. Morphologisch ist dieser Subtyp zusätzlich „durch weite, blutgefüllte (peliosisartige) sinusoidale Ektasien, inflammatorische Foci bzw. portalfeldartige Strukturen...“ auffällig. Dieser Typ betreffe meist Frauen mit erhöhtem Body-Mass-Index, weise kein erhöhtes Transformationsrisiko auf und habe ein höheres Blutungsrisiko. Vereinzelt gebe es Adenome, „...die eine Kombination des inflammatorischen Subtyps und des atypischen Subtyps (β-Catenin-Aktivierung) [seien] und damit auch ein hohes Transformationsrisiko...“ aufwiesen.

4. Als letzten Subtyp unterscheiden Schirmacher und Longerich noch die „...unklassifizierte[n] Adenome, die sich derzeit keiner der 3 anderen Gruppen zuordnen...“ lassen. Dieser Subtyp scheine ebenfalls kein erhöhtes Transformationsrisiko auf zu weisen. Als generelle Hilfestellung zur Diagnose sehen die Pathologen aus Heidelberg die sogenannte „Matrix-Diagnose“. Mit ihrer Hilfe kann man zunächst einmal das Grundrisiko von klinischer Seite her bestimmen, wie wahrscheinlich eine bösartige Erkrankung der Leber ist:

Tabelle 1: Matrix-Diagnose

HCC/DN

Geschlecht: Männer > Frauen
Alter: 50. bis 70. Lebensjahr

Herkunft aus Endemiegebiet?
Prädisponierende Erkrankungen:
HBV, HCV, Hämochromatose,
(Alkohol)
Nicht-tumoröse Leber: chronische
Hepatitis, Zirrhose

HCC hepatozelluläres Karzinom, DN Dysplastischer Knoten, LCA
Leberzelladenom, FNH fokale noduläre Hyperplasie, HBV Hepatitis-B-Virus,
HCV Hepatitis-C-Virus.
(Schirmacher und Longeric, 2009)

LCA/FNH

Geschlecht: Frauen > Männer
Alter: 3./4. Dekade (LCA); alle
Altersstufen (FNH)
Nicht-tumoröse Leber: normal
Anamnese: Steroide, keine HCC-
Risikofaktoren

Schirmacher und Longeric weisen darauf hin, dass sich unter den atypischen Adenomen einige primäre, hochdifferenzierte, hepatozelluläre Karzinome verbergen könnten, die eine negative Matrixdiagnose haben.

Zur besseren Übersicht über die histologischen und klinischen Kriterien der drei vorgestellten Studien folgt eine Tabelle:

Tabelle 2: Histologische und klinische Kriterien der Adenomsotypen

Studie	Kriterium	HNF1alpha inaktivierte HCA	β-Catenin mutierte HCA	Inflammatorische HCA	Sonstige HCA
Zucman-Rossi et al. 2006	Histologie	Steatose im Tumor	Pseudoglanduläre Formationen, zytologische Abnormitäten	Deutliche Gefäßdystrophien	keine
Zucman-Rossi et al. 2006	Klinik	Assoziation mit HCC 7%	Assoziation mit HCC 46%	keine	keine
Bioulac-Sage et al. 2007 und 2009	Histologie	Steatose im Tumor, Mikroadenome, zusätzliche gutartige Knötchen, LFABP negativ	β-Catenin nukleär positiv im Tumor	Peliose im Tumor, Steatose in nicht-tumoröser Leber, SAA und CRP stark exprimiert	keine
Bioulac-Sage et al. 2007 und 2009	Klinik	keine	erhöhtes Transformationsrisiko	erhöhter BMI, erhöhte Blutungsneigung	keine
Schirmacher et Longeric 2009	Histologie	Steatose im Tumor, keine inflammatorischen Infiltrate, LFABP negativ	Zelluläre Atypien, fehlende Verfettung, nukleäre β-Catenin Positivität oder GS Aktivierung	Peliose, inflammatorische Foci, portalfeldartige Strukturen, CK7-positive, dukuläre Strukturen	keine
Schirmacher et Longeric 2009	Klinik	keine	erhöhtes Transformationsrisiko	Frauen mit erhöhtem BMI, erhöhtes Blutungsrisiko, kein Transformationsrisiko	kein erhöhtes Transformationsrisiko

1.5 Fragestellung

Das Ziel dieser Arbeit ist es, anhand einer klaren histologischen Subtypisierung der Leberzelladenomfälle des Universitätsklinikums Eppendorfs aus der Zeit zwischen 1996 und 2010 eine Indikation zur chirurgischen Therapie von Leberzelladenomen zu erstellen. Dabei dient vor allem die Bordeaux Klassifikation als Ansatz für die immunhistochemischen Färbungen, d.h. es wird versucht, eine ähnliche Einteilung der Adenomsubtypen vorzunehmen.

Anhand dieser Adenomsubtypen sollen folgende Fragen erörtert werden:

- 1.) Sind Adenome unterschiedlich?
- 2.) Sofern sie unterschiedlich sind, sind andere Studien wie z.B. die von Bioulac-Sage 2009 nachvollziehbar?
- 3.) Wo befindet sich der Übergang zum HCC?

Für den dritten Punkt wird das Augenmerk vor allem auf den β -Catenin mutierten Subtyp gerichtet, der laut Bioulac-Sage 2009 mit einem erhöhten Transformationsrisiko einhergeht. Außerdem sollen die Adenome genauer betrachtet werden, in denen sich bereits HCC-Anteile finden. Anhand der Betrachtung dieser β -Catenin-mutierten Subtypen und der Übergangsformen zwischen HCA und HCC im Zusammenhang mit der Klinik soll ein genaueres Risikoprofil für das Wiederauftreten eines Tumors sowie die maligne Transformation erstellt werden. Die Arbeitshypothese dafür lautet: Ist es möglich, anhand der immunhistochemischen Charakterisierung des Adenoms die Indikation zur chirurgischen Resektion zu stellen?

2 Patienten und Methoden

2.1. Patienten

Für diese retrospektive Analyse wurden aus dem Patientenkollektiv des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf von 1996 bis heute alle Patienten mit der Diagnose „Leberadenom“ aus dem Archiv des Institutes für Pathologie identifiziert. Anamnestische und klinische Daten wie zum Beispiel Alter und BMI (Body-Mass-Index) wurden auf Basis der Krankenakten erhoben. Diese Daten wurden statistisch in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biometrie ausgewertet, um mögliche Risikofaktoren für das Auftreten eines Adenoms zu erkennen und zu bewerten.

Insgesamt wurden seit 1996 46 Patienten mit einem Leberzelladenom am UKE behandelt. Dabei handelte es sich um 28 Männer und 18 Frauen mit dem durchschnittlichen Alter 38,71 Jahre (+23,28/-1,78 Jahre). Zum Vergleich wurden auch die Daten von 3 Patienten mit fokal nodulärer Hyperplasie (FNH) und 3 Patienten mit Hepatozellulärem Karzinom (HCC) mit einem Durchschnittsalter von 44,3 Jahren bzw. 61,7 Jahren ausgewertet. Die Patienten mit HCC waren alle männlich, während die FNH Patientinnen alle weiblich waren. Zum regulär stattfindenden Follow-up erschienen 24 Patienten von 46 Patienten.

2.2 Methoden

2.2.1 Histologie und Immunhistochemie

Das im Institut für Pathologie asservierte und in Paraffin eingebettete Gewebe von den Biopsien, Resektaten bzw. Explantaten der Leber wurde geschnitten und anschließend entsprechend gefärbt.

Insgesamt wurden von jedem Gewebeblock zwanzig Leerschnitte (siehe 2.2.2) angefertigt. Jeweils ein Leerschnitt pro Patient wurde nun mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt. Die HE-Färbung dient der guten Übersicht über das Gewebe und zur Beurteilung des Verfettungsgrades der Leber.

Von den restlichen Leerschnitten wurden nun jeweils sieben pro Patient der immunhistochemischen Diagnostik zugeführt, um anhand der folgenden sieben immunhistochemischen Reaktionen die Subklassifizierung durchzuführen:

- 1) β -Catenin
- 2) LFABP

- 3) SAA
- 4) Glypican-3
- 5) Mib-1
- 6) CK-7
- 7) Glutaminsynthetase

Die Aufarbeitung folgt dem üblichen Routineverfahren. Dieses sei im Folgenden skizziert:

2.2.2 Gewebeeinbettung und Herstellung ungefärbter Schnittpräparate (sog. „Leerschnitte“)

Zunächst wird das operativ entfernte Leberresektat aus der Operation oder die Leberstanze in vierprozentigem Phosphat-gepufferten Formalin fixiert. Es erfolgte das Zuschneiden der größeren Präparate in entsprechende, kleinere Gewebsproben. Der Wasserentzug und die Paraffineinbettung erfolgen maschinell mittels eines Gerätes, des „Pathcenter“ der Firma Thermo Shandon Runcom, folgendermaßen: Zunächst werden die Gewebstücke eine Stunde in vierprozentigem Formalin fixiert, danach folgt eine aufsteigende Alkoholreihe mit zunächst achtzigprozentigem Ethanol, das fünfundvierzig Minuten einwirkt, anschließend erneut achtzigprozentiges Ethanol für eine Stunde, dann zweimal hintereinander sechsundneunzigprozentiges Ethanol für jeweils eine Stunde und zum Schluss dreimal hintereinander hundertprozentiges Ethanol für jeweils eine Stunde, wobei im letzten Durchgang die Zeit auf anderthalb Stunden verlängert wird. Danach folgen zweimal für jeweils zwei Stunden Xylol, und anschließend viermal jeweils eine Stunde erhitztes, flüssiges Paraffin. Anschließend werden Paraffinblöcke mit dem Gewebe gegossen. Diese werden auf einer minus elf Grad Celsius kalten Kühlplatte für mindestens zehn Minuten lang gekühlt, bevor sie geschnitten werden können. Das Schneiden geschieht am „Mikrotom Finesse ME plus“ der Firma Thermo Shandon Runcom. Zunächst werden die Blöcke mit einer Schnittstärke von fünfzehn Mikrometer grob angeschnitten, bis die gesamte, auf dem Block enthaltene, Fläche des eingebetteten Gewebes angeschnitten ist. Danach reduziert man die Schnittstärke auf 2,5 Mikrometer und schneidet die erforderliche Anzahl an Schnitten vom jeweiligen Block ab. Die fertigen Schnitte werden zum Strecken auf die Oberfläche eines fünfzig Grad Celsius heißen Wasserbades gelegt, von wo aus sie mit einer Pinzette im unteren Drittel eines Superfrost Glas-Objektträgers aufgezogen werden. Anschließend werden die Schnitte auf dem Glas-Objektträger bei 60°Celsius im Brutschrank angetrocknet. Die ungefärbten, auf dem Glas-Objektträger angetrockneten Schnitte werden im Folgenden als „Leerschnitte“ bezeichnet.

2.2.3 Angewandte Verfahren

Im folgenden Teil werden häufiger die „auf- und absteigende Alkoholreihe“ vorkommen, weshalb an dieser Stelle kurz darauf eingegangen werden soll: Die aufsteigende Alkoholreihe dient dazu, überschüssiges Wasser aus dem Schnitt zu entziehen, wohingegen die absteigende Alkoholreihe dazu dient, den Schnitt zu entparaffinieren und in ein wässriges Milieu zu überführen.

Aufsteigende Alkoholreihe: Der Schnitt wird zweimal für jeweils 30 Sekunden in 80%-iges Äthanol getaucht, anschließend zweimal für jeweils 30 Sekunden in 96%-iges Äthanol, dann dreimal für jeweils 30 Sekunden in 100%-iges Äthanol und zum Schluss dreimal eine Minute in Xylol.

Absteigende Alkoholreihe: Der Schnitt wird für dreimal jeweils fünf Minuten in ein Bad mit Xylol eingetaucht, dann zweimal für jeweils zwei Minuten in 100%-iges Äthanol, anschließend zweimal für jeweils zwei Minuten in 96%-iges Äthanol und zu guter Letzt zweimal für jeweils zwei Minuten in 80%-iges Äthanol.

2.2.4 Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung:

Ein fertiger Leerschnitt wird der absteigenden Alkoholreihe (siehe 2.2.3) zugeführt. Darauf wird er zehn Minuten lang in ein Gefäß mit Hämatoxylin eingetaucht. Anschließend wird er zehn Minuten lang unter laufendem Leitungswasser gespült (sog. „Einbläuen“), um danach zehn Minuten in Eosin inkubiert zu werden. Der Leerschnitt wird nun abgespült und der aufsteigenden Alkoholreihe (siehe 2.2.3) zugeführt, wonach er zum Schluss mit Eukit und einem Deckelglas eingedeckt wird.

2.2.5 Immunhistochemie:

Das Prinzip der Immunhistochemie funktioniert folgendermaßen: Zunächst wird das untersuchte Antigen demaskiert, d.h. dass mit einer speziellen Vorbehandlung (z.B. einem Puffer oder einer Hitzebehandlung) Epitope des Antigens aus dem Paraffin herausgelöst werden, die vorher durch die Paraffineinbettung fest im fixierten Gewebe hafteten. Als nächstes wird ein spezifischer Primärantikörper hinzugegeben, der sich gegen das Antigenepitop richtet. Anschließend wird ein zweiter Sekundärantikörper hinzugegeben, der sich gegen den Primärantikörper richtet. Der zweite Sekundärantikörper ist mit einem Enzym gekoppelt, meist der Peroxidase, dass die Anfärbung verstärkt. Da die Peroxidase auch im umliegenden Gewebe vorkommt, wird in einem letzten Schritt noch die endogene Peroxidase gehemmt, um eine spezifische Anfärbung zu erzielen.

Für die Immunhistochemie im Rahmen dieser Studie werden zwei unterschiedliche Geräte und sieben verschiedene Antikörper angewandt. Die Geräte sind zum einen der halbautomatische Autostainer der Firma „Dako“ und zum anderen der vollautomatische Bond der Firma „Leica“. Für die verschiedenen Antikörper werden jeweils unterschiedliche Verdünnungen verwendet, die alle mit Dako Antibody Diluent S 2022 hergestellt werden.

Die β -Catenin und SAA Färbungen werden mit dem Autostainer durchgeführt. Die Leerschnitte wurden vor der Inkubation mindestens 30 Minuten im Brutschrank bei 60°C getrocknet. Dadurch wird ein „Abschwimmen“ der Schnitte bei den späteren Inkubationen vermieden.

Danach durchlaufen alle Leerschnitte die absteigende Alkoholreihe (siehe 2.2.3) Anschließend durchlaufen die entparaffinierten Leerschnitte je nach Antikörper unterschiedliche Verfahren:

2.2.5.1 Färbungen mit dem Autostainer:

Zuerst wird die Schnittzahl und die Anzahl der verschiedenen Antikörper sortiert in das Autoprogramm des Autostainers eingegeben. Die Färbemethode erfolgt nach dem jeweiligen Färbekit der Firma. Nachdem die Leerschnitte für β -Catenin und SAA eine Nacht im Brutschrank getrocknet sind und entparaffiniert wurden, erhalten sie nun eine unterschiedliche Vorbehandlung mit verschiedenen Demaskierungspuffern.

Für die β -Catenin Anfärbung wird für die Vorbehandlung ein Tris-EDTA-Citrat (TEC) Puffer angesetzt: Zunächst werden zur Herstellung einer Stammlösung 5 Gramm Trizma base der Firma Sigma T 1503 mit 10 Gramm EDTA der Firma Merck 1.08418 und mit 6,4 Gramm Tri-Natrium-Citrat der Firma Sigma C 09209 vermischt. Anschließend wird das fertige Gemisch 1:20 verdünnt, indem man 50 Milliliter Stammlösung in einen Liter Aqua dest. gibt.

Die Leerschnitte werden mit dem Puffer 25 Minuten bei 98°C im Dampfgerar vorgewärmt und anschließend 20 Minuten gekocht. Die erhitzten Schnitte kühlen 20 Minuten ab, werden danach in Leitungswasser und TBS-Puffer (Firma Dako 23006 1:10 mit Aqua dest.) gespült.

Für die zum SAA-Nachweis bestimmten Leerschnitte ist folgende Vorbehandlung nötig: Enzym Proteinase K der Firma „Dako“ S2019 wird in Verdünnungspuffer S2032 der Firma „Dako“ 1:40 verdünnt. Das Gemisch wird auf die Leerschnitte gegeben. Die Vorbehandlung findet im Autostainer statt.

Anschließend werden die Geräte mit Antikörperröhrchen und Funktionsröhrchen (Blocking Envision, Proteinase-K und DAB-Röhrchen) beladen und mit bis zu 48 Leerschnitten bestückt. Bei den verwendeten Funktionsröhrchen handelt es sich um folgende Produkte: Blocking-Peroxidase Solution (Dako S2023), Proteinase-K (Dako S2022 1:40 mit Dako 2023),

Envision (Dako Kit K5007 Fläschchen A), DAB (Dako Kit 5007, 1 Teil Fläschchen A+50 Teile Fläschchen B).

Die weitere Verarbeitung erfolgt nun automatisiert mit dem Autostainer. Anschließend findet die manuelle Kernfärbung statt: Eine Minute in Hämalaun färben, danach 5 Minuten bei laufendem Leitungswasser bläuen. Das Hämalaun ist ein Gemisch aus Hämatoxylin der Firma „Dako“ S2020, das 1:5 mit destilliertem Wasser (Aqua dest) vermischt wurde.

Die fertig gefärbten Schnitte werden mit der aufsteigenden Alkoholreihe (siehe 2.2.3) in Ethanol entwässert. Zum Schluss werden sie mit dem Folieneindecker eingedeckt. Die Schnitte trocknen ca. 10min unter laufendem Abzug.

2.2.5.2 Färbungen mit dem BOND-Automaten:

Die Leerschnitte für den Nachweis von Glutaminsynthetase, FABP, Glypican, CK-7 und MIB-1 können direkt nach der Entparaffinierung in das vollautomatische Gerät gegeben werden, da sie dort wie im Brutschrank „gebacken“ werden. Im gestarteten BOND-Gerät erfahren die Leerschnitte nun je nach Antikörper eine unterschiedliche Vorbehandlung: Glutaminsynthetase, FABP und Glypican-3 erfahren eine hitzeinduzierte Antigendemaskierung bei ph 6, während MIB-1 bei ph 9 Antigen demaskiert wird. CK-7 erfährt eine Enzymandauung mit Proteinase-K (Dako S2019 1:40 in Diluent Dako S2032) als Vorbehandlung.

Je nach Schnitzzahl ist das Gerät nach zwei bis vier Stunden fertig. Die Behandlung der Schnitte erfolgt inklusive Kernfärbung; danach können die Schnitte nach aufsteigender Alkoholreihe (2.2.3) entwässert werden. Die Eindeckung erfolgt wie beim Autostainer mit dem Folieneindecker. Zum Schluss trocknen die fertigen Schnitte für ca. 10 Minuten unter laufendem Abzug.

Zur besseren Übersicht über die verwendeten Antikörper dient nachfolgende Tabelle:

Tabelle 3: Übersicht über die Antikörper

Antikörper	Klon	Bezugsquelle	Temperatur	Spezies	Vorbehandlung	Verdünnung
Beta-Catenin	CAT-5H10	Zymed 18-0226	4°C	Maus	TEC	1+1000
Glutamin Synthetase	GS-6	Millipore MAB302	-20°C	Maus	Bond ER1	1+1000

MIB-1	MIB1	Dako M7240	4°-20°C	Maus	Bond ER2	1+400
SAA	mc1	Dako M0759	4°C	Maus	Enzym	1+50
Glypican-3	IGI2	DCS G1829 COS	4°C	Maus	Bond ER1	1+200
CK7	OV- TL12/30	Dako M7018	4°C	Maus	Bond Enzym	1+50
FABP	2G4	Abcam ab82157-100	4°C	Maus	Bond ER1	1+100

Erläuterung: Bond ER1=pH 6; Bond ER2=pH 9

2.2.6 Befund-Erhebung:

Nach den immunhistochemischen Färbungen wurde die eigentliche Befundung am Zeiss Axioskop durchgeführt. Die Befundung erfolgte unter Anleitung eines erfahrenen hepatobiliären Pathologen. Es erfolgten insgesamt 3 unabhängige Untersuchungsdurchgänge. Jede Gewebeprobe wurde auf folgende Gesichtspunkte hin untersucht:

- 1.) HE-Färbung mit exakter histologischer Diagnostik
- 2.) Immunhistochemische Färbungen
 - a) LFABP
 - b) SAA
 - c) Glutaminsynthetase
 - d) β -Catenin
 - e) Glypican
 - f) Mib-1
 - g) CK-7

1.) HE-Färbung: Die HE-Färbung dient als Übersicht, den Tumor und das normale Lebergewebe zu beurteilen. Zunächst wurde der Fettgehalt im Tumor bestimmt, um das Adenom in fettreich bzw. fettarm einordnen zu können. Anschließend wurde der Fettgehalt im umgebenden, normalen Lebergewebe bestimmt, um die generelle Steatosis der Leber einschätzen zu können. Daraufhin wurde der Peliosegrad, sowie das Vorhandensein von Einblutungen, inflammatorischen Infiltraten und Zellatypien beurteilt.

2.a) LFABP: Die LFABP Färbung dient der Einteilung in die HNF1 α -inaktivierten Adenome. Bei hohem Fettgehalt und gleichzeitigem Fehlen von LFABP kann man diesen Subtyp differenzieren. Dabei wurde zwischen diffus und fokal, sowie zwischen Anfärbung im Tumor und Anfärbung im umgebenden, normalen Lebergewebe unterschieden.

b) SAA : Die immunhistochemische Darstellung von SAA ist für die Einteilung in den inflammatorischen Subtyp entscheidend. Auch hier wurde zwischen einer diffusen und lokalen Anfärbung, sowie einer stärkeren Expression um die Gefäße unterschieden, da SAA auch im Blut zirkuliert.

c) Glutaminsynthetase: Die Anfärbung von Glutaminsynthetase dient zur Einschätzung des Transformationsrisikos, da sie ein Zielgen von β -Catenin und somit ein Bestandteil des Wnt- β -Catenin Signaling Weges ist. Da sie in den normalen Hepatozyten perivenös stark exprimiert wird, unterscheiden wir eine Anfärbung um Gefäße und eine diffuse Anfärbung, sowie die Anfärbung im Tumor und im normalen Lebergewebe.

d) β -Catenin: Als wichtigster Prognosemarker für das Transformationsrisiko wurde die β -Catenin Anfärbung im normalen Gewebe, sowie im Tumor im Zytoplasma und im Zellkern genau überprüft.

e) Glypican-3: Glypican dient zur Differenzialdiagnose zum HCC, da es dort meistens eine stark positive Anfärbung zeigt. Analog zu den anderen Markern wurde es im Tumor, sowie im normalen Lebergewebe überprüft.

f) Ki67-Antigen (=Mib-1): Dieser Marker dient der Einschätzung der Mitoserate. Normales Lebergewebe zeigt in weniger bis maximal 5% aller Zellen eine Zellteilung. Bei malignen Tumoren ist die Mitoserate signifikant erhöht, sodass die Adenome auf potenzielle Malignität hin überprüft wurden.

g) CK-7: Das CK-7 fungiert primär zur Diagnosesicherung des Adenoms, da es normalerweise nur in Gallengängen exprimiert wird und Adenome keine Gallengänge haben. Dabei eignet es sich ebenfalls gut zur Differenzialdiagnose hinsichtlich einer FNH, da diese im Gegensatz zum HCA Gallengänge aufweist. Einige Adenome haben allerdings cholangioduktuläre Metaplasien, die ebenfalls durch das CK-7 sichtbar gemacht werden

und laut Schirmacher und Longerich 2009 für den inflammatorischen Adenomsubtyp sprechen.

2.3 Statistik

Anschließend wurde anhand der regulären Patientenakten aus dem Archiv, in denen der prä- und postoperative Verlauf erfasst wurde, die retrospektive Krankengeschichte erfasst und entsprechend statistisch ausgewertet. Aufgrund der geringen Fallzahl wurden rein deskriptive Verfahren angewendet.

3 Ergebnisse

3.1 Histologie: Anhand der histologischen Betrachtung wurden die Adenome in insgesamt sechs Gruppen eingeteilt:

- 1.) genetisch fettreiche Adenome
- 2.) sekundär fettreiche Adenome
- 3.) inflammatorische Adenome
- 4.) β -Catenin positive Adenome
- 5.) sonstige Adenome
- 6.) Adenom/Karzinom

Die im Methodenteil genannten Marker wurden für alle Präparate bestimmt, jedoch sind hier nur die Ergebnisse für die jeweils relevanten Marker aufgeführt. Die Bewertung erfolgte jeweils zwischen negativ (= keine Anfärbung) und +++ (= sehr starke Anfärbung).

3.1.1: Genetisch fettreiche Adenome

Die genetisch fettreichen Adenome werden durch einen hohen Fettgehalt und das Fehlen von LFABP charakterisiert. Sie entsprechen den nach Bordeaux klassifizierten HNF1- α - inaktivierten Adenomen. Während das LFABP im fettreichen Tumor keine Anfärbung zeigte, ist es umso stärker positiv in den fettarmen Hepatozyten außerhalb des Tumors. Auffällig bei diesem Subtyp ist die zytoplasmatische Anfärbung von β -Catenin, die teilweise bis 2+ geht und stark mit CK7, d.h. den neoduktulären Metaplasien korreliert.

Tabelle 4: Genetisch fettreiche Adenome

Patienten-Nr.	Fett Tu	Fett insg	LFABP Tu dis	LFABP nLg dis	SAA Tu diss	GS Tu dif	β -Cat Tu zn	CK7
11	++	n.b.	negativ	n.b.	+	negativ	negativ	negativ
22	++	negativ	negativ	+++	++	negativ	+	+
24	+++	+	negativ	+++	negativ	negativ	++	+
15	+++	negativ	negativ	+++	negativ	+	++	++
28	++	negativ	negativ	++	+	negativ	++	+
25	negativ	negativ	negativ	+++	negativ	negativ	negativ	negativ

Legende: *Patienten-Nr.*= Patienten-Nummer, *Fett Tu*= Fettgehalt im Tumor, *Fett insg*= Fett in der normalen Leber, *LFABP Tu dis*= LFABP im Tumor disseminiert, *LFABP nLg dis*= LFABP im normalen Lebergewebe disseminiert, *SAA Tu diss*= SAA im Tumor disseminiert, *GS Tu dif*= Glutaminsynthetase im Tumor diffus, *β -Cat Tu zn*= β -Catenin im Tumor zytoplasmatisch, *CK7*= CK7 Gehalt im Tumor, *n.b.*= nicht beurteilbar

Beispielfoto LFABP Färbung am Übergang des normalen Lebergewebes zum Hepatozellulären Adenom:

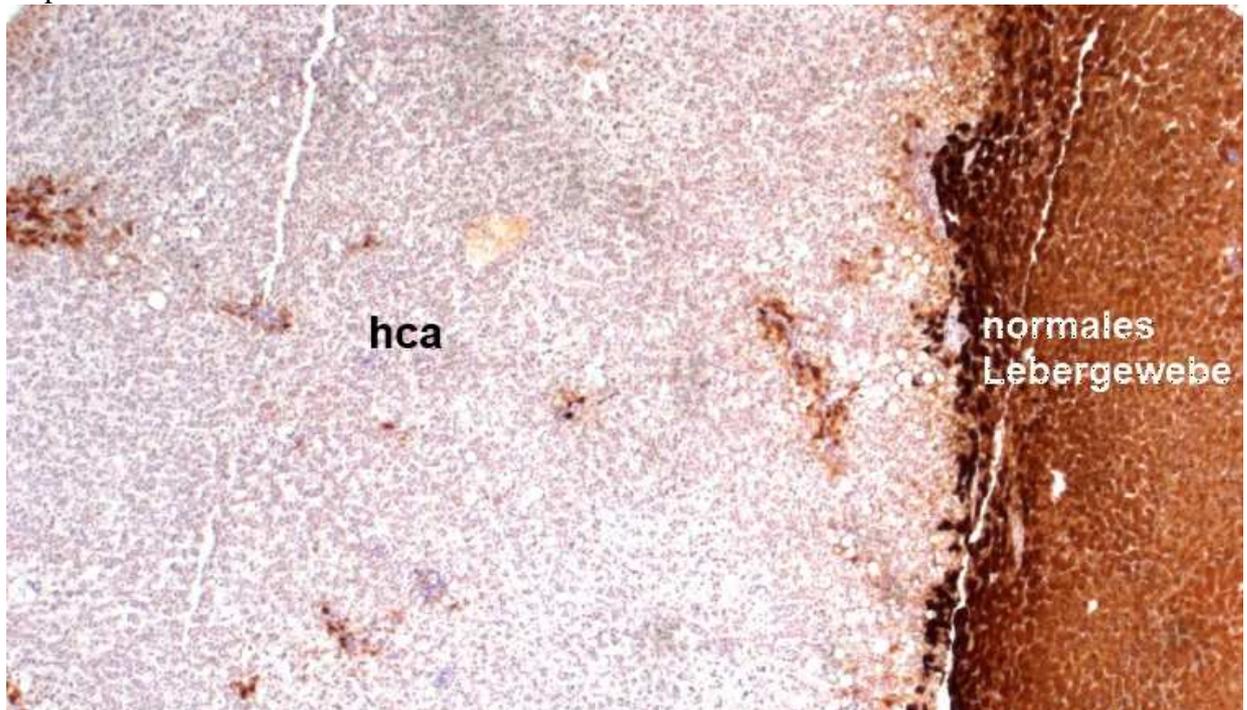


Abbildung 3: E03-07218 Patient Nr. 28, LFABP 2,5fache Vergrößerung

3.1.2: Sekundär fettreiche Adenome

Bei den sekundär fettreichen Adenomen wurde ein hoher Fettgehalt im Tumor bei einem gleichzeitig hohen LFABP- Gehalt gesehen. Die Bezeichnung als sekundär erfolgte, weil hier keine Mutation des HNF1- α -Gens vermutet wurde. Sollte diese vorliegen, wäre bekanntlich eine niedrige LFABP-Expression zu erwarten. Auffällig bei diesem Subtyp

war, dass das LFABP im normalen, fettarmen Lebergewebe ebenfalls sehr hoch exprimiert war. Außerdem gab es noch eine teilweise sehr starke Expression der Glutaminsynthetase.

Tabelle 5: Sekundär fettreiche Adenome

Patienten-Nr.	Fett Tu	Fett insg	LFABP Tu dis	LFABP nLg dis	SAA Tu diss	GS Tu dif	GS Tu periv	β -Cat Tu zn	CK7
10	++	negativ	++	++	+	negativ	+++	negativ	negativ
29	+++	negativ	++	++	+	negativ	negativ	++	negativ
34	+++	negativ	+++	++	negativ	negativ	++	negativ	negativ
36	++	++	++	++	+	negativ	negativ	negativ	++
50	+++	negativ	++	++	+	negativ	+++	++	++
8	++	negativ	++	++	negativ	++	negativ	++	++

Legende: *Patienten-Nr.*= Patienten-Nummer, *Fett Tu*= Fettgehalt im Tumor, *Fett insg*= Fett in der normalen Leber, *LFABP Tu dis*= LFABP im Tumor disseminiert, *LFABP nLg dis*= LFABP im normalen Lebergewebe disseminiert, *SAA Tu diss*= SAA im Tumor disseminiert, *GS Tu dif*= Glutaminsynthetase im Tumor diffus, *GS Tu perivenös*= Glutaminsynthetase im Tumor perivenös, *β -Cat Tu zn*= β -Catenin im Tumor zytoplasmatisch, *CK7*= CK7 Gehalt im Tumor

3.1.3: Inflammatorische Adenome

Die inflammatorischen Adenome zeichnen sich durch eine starke SAA-Anfärbung aus. Im Hamburger Kollektiv korreliert das SAA häufig mit dem LFABP, was in der Bordeaux Klassifikation nicht angegeben ist. Die Glutaminsynthetase ist teilweise ebenfalls sehr hoch und das β -Catenin ist zytoplasmatisch lokalisiert. Auffällig ist Patient Nr. 3, bei dem SAA, LFABP, GS und das Glypican sehr stark exprimiert wurden. Dieser Patient entwickelte ein Jahr später ein HCC und verstarb daran. Die β -Catenin Färbung war bei ihm zytoplasmatisch und nukleär negativ.

Tabelle 6: Inflammatorische Adenome

Patienten-Nr.	Fett Tu	LFABP Tu dis	SAA Tu diss	SAA nLg diss	GS Tu dif	GS Tu periv	β -Cat Tu zn	CK7	Glypican
39	+++	++	+++	++	++	+++	+	negativ	negativ
47	++	++	+++	+++	negativ	+++	++	negativ	negativ
2	+	++	+++	+	+	+++	+	+	negativ
3	negativ	+++	+++	n.b.	+++	negativ	negativ	negativ	+++
5	++	negativ	+++	+++	++	negativ	+	++	negativ
13	negativ	++	+++	+	negativ	negativ	++	++	negativ
20	negativ	++	+++	++	negativ	++	++	+	negativ
30	negativ	++	+++	+	negativ	+++	negativ	negativ	negativ
31	negativ	++	+++	+	+++	negativ	+	negativ	++
12	negativ	++	+	++	negativ	negativ	+	negativ	+
49	negativ	++	++	negativ	+++	negativ	negativ	negativ	negativ
16	negativ	+++	+++	n.b.	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ

Legende: *Patienten-Nr.*= Patienten-Nummer, *Fett Tu*= Fettgehalt im Tumor, *LFABP Tu dis*= LFABP im Tumor disseminiert, *SAA Tu diss*= SAA im Tumor disseminiert, *SAA nLg diss*= SAA im normalen Lebergewebe disseminiert, *GS Tu dif*= Glutaminsynthetase im Tumor diffus, *GS Tu perivenös*=

Glutaminsynthetase im Tumor perivenös, β -cat Tu zn= β -Catenin im Tumor zytoplasmatisch, CK7= CK7 Gehalt im Tumor, *Glypican*= Glypicananfärbung im Tumor, *n.b.*= nicht beurteilbar

3.1.4: β -Catenin positive Adenome

Diese Gruppe der β -Catenin positiven Adenome umfasst nur eine Patientin, bei der eine nukleäre Positivität in vereinzelt Tumorzellen nachgewiesen werden konnte. Bei allen anderen wurden nur zytoplasmatische Anfärbungen von unterschiedlicher Intensität gesehen. Bei dieser Patientin bestand gleichzeitig eine starke SAA Positivität, d.h. es handelt sich hier um einen Mischtyp aus inflammatorischem und β -Catenin positivem Adenom.

Tabelle 7: β -Catenin positive Adenome

Patienten-Nr.	Fett Tu	LFABP Tu dis	SAA Tu dis	GS Tu dif	β -cat Tu zn	β -Cat Tu nuk	β -Cat Tu chol	β -Cat nlg zn	CK7
6	negativ	++	+++	negativ	+	in Einzelzellen	++	+	+

Legende: *Patienten-Nr.*= Patienten-Nummer, *Fett Tu*= Fettgehalt im Tumor, *LFABP Tu dis*= LFABP im Tumor disseminiert, *SAA Tu diss*= SAA im Tumor disseminiert, *GS Tu dif*= Glutaminsynthetase im Tumor diffus, *β -cat Tu zn*= β -Catenin im Tumor zytoplasmatisch, *β -Cat Tu nuk*= β -Catenin im Tumor nukleär, *β -Cat Tu chol*= β -Catenin im Tumor cholangioduktulär, *CK7*= CK7 Gehalt im Tumor

Darstellung der nukleären β -Catenin Positivität:

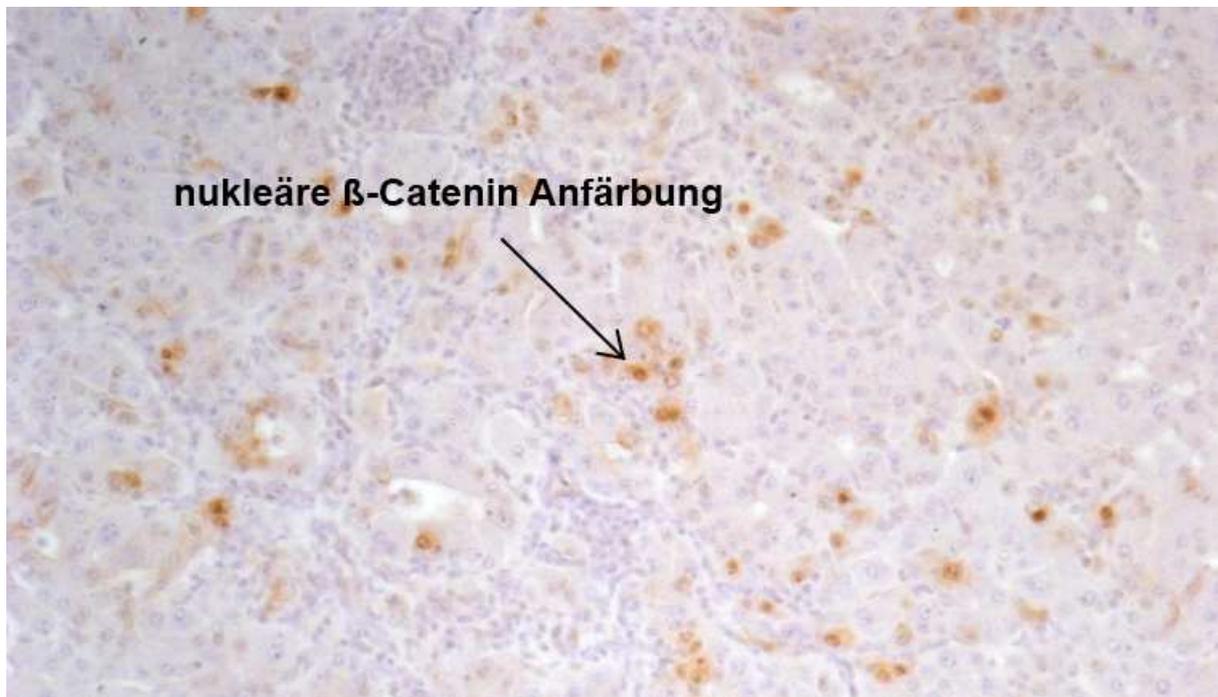


Abbildung 4: E97-22994 Patient Nr. 6 β -Catenin Färbung 10-fache Vergrößerung

3.1.5: Sonstige Adenome

Die sonstigen Adenome zeichnen sich durch keine spezifisch erhöhten Marker auf, sondern haben recht unterschiedliche Anfärbungen der einzelnen Marker.

Tabelle 8: Sonstige Adenome

Patienten-Nr.	Fett Tu	Fett insg	LFABP Tu dis	LFABP nLg dis	SAA Tu diss	SAA nLg dis	GS Tu dif	GS Tu periv	β -Cat Tu zn	CK7	Glypican
23	++	++	++	++	+	+	negativ	+++	++	++	negativ
56	+++	n.b.	++	n.b.	negativ	n.b.	++	negativ	+	n.b.	negativ
21	+	n.b.	+++	n.b.	+	n.b.	negativ	++	negativ	negativ	negativ
4	negativ	negativ	++	++	+	+	negativ	+++	++	+	negativ
19	negativ	++	++	++	++	+	negativ	+++	++	negativ	negativ
27	+	+	++	++	+	++	+++	negativ	negativ	++	+
32	negativ	++	++	++	+	+	+++	negativ	++	negativ	negativ
40	negativ	negativ	++	++	+	++	++	negativ	negativ	+	negativ
48	negativ	negativ	++	n.b.	negativ	negativ	negativ	+++	negativ	negativ	negativ
55	negativ	negativ	++	++	++	++	++	negativ	+	++	negativ
58	negativ	+	++	++	negativ	+	+	++	++	++	negativ
63	+	+++	++	++	+	++	negativ	++	+	negativ	negativ
18	negativ	negativ	+++	+++	+	+	+	+	+	negativ	negativ
7a	negativ	negativ	++	+++	+	++	+++	negativ	+	+	++

Legende: *Patienten-Nr.*= Patienten-Nummer, *Fett Tu*= Fettgehalt im Tumor, *Fett insg*= Fett in der normalen Leber, *LFABP Tu dis*= LFABP im Tumor disseminiert, *LFABP nLg dis*= LFABP im normalen Lebergewebe disseminiert, *SAA Tu diss*= SAA im Tumor disseminiert, *SAA nLg diss*= SAA im normalen Lebergewebe disseminiert, *GS Tu dif*= Glutaminsynthetase im Tumor diffus, *GS Tu periv*= Glutaminsynthetase im Tumor perivenös, *β -Cat Tu zn*= β -Catenin im Tumor zytoplasmatisch, *CK7*= CK7 Gehalt im Tumor, *Glypican*= Glypicananfärbung im Tumor, *n.b.*= nicht beurteilbar

3.1.6: Adenom/Karzinom

In dieser Gruppe finden sich Fälle, die sowohl Adenom-, als auch Karzinom-Anteile enthalten. Daher gibt es bei den Patienten Nr. 64, 41, 45, 51 und 65 in der angeführten Tabelle jeweils zwei Zeilen, da sich die Karzinom- und Adenomanteile teils stark in den Anfärbungen unterscheiden.

Tabelle 9: Adenom/Karzinom

Patienten-Nr.	Fett Tu	LFABP Tu dis	SAA Tu diss	GS Tu dif	β -Cat Tu zn	CK7	Mib>5%	Glypican
64 HCA	negativ	+++	++	++	+++	+	negativ	++
64 Ca	negativ	+++	++	++	+++	+	++	+++
54	negativ	+++	negativ	negativ	++	Ca +++	Ca ++	+++
26	negativ	+	+	+++	++	negativ	++	+++
41 HCA	negativ	+	+	+	+	negativ	++	negativ
41 Ca	negativ	++	+	++	+	negativ	++	+++
45 HCA	negativ	+++	+	negativ	++	negativ	+	negativ
45 Ca	negativ	+++	+++	negativ	+++	negativ	+	++
51 HCA	negativ	++	+	+	++	++	+	+
51 Ca	negativ	+++	++	+	++	++	+++	+++
65 HCA	negativ	+	++	+	+	negativ	+	negativ
65 Ca	negativ	++	negativ	+++	++	negativ	++	+++
9	negativ	+++	negativ	++	negativ	+	negativ	negativ

Legende: *Patienten-Nr.*= Patienten-Nummer, *Fett Tu*= Fettgehalt im Tumor, *LFABP Tu dis*= LFABP im Tumor disseminiert, *SAA Tu diss*= SAA im Tumor disseminiert, *GS Tu dif*= Glutaminsynthetase im Tumor diffus, *β-Cat Tu zn*= β-Catenin im Tumor zytoplasmatisch, *CK7*= CK7 Gehalt im Tumor, *Mib>5%*= Der Mib-Gehalt im Tumor ist größer als 5%, *Glypican*= Glypicangehalt im Tumor

3.2 Statistik:

Da die Fallzahl zu gering war, wurde nach Rücksprache mit den Biomathematikern nur begrenzt von statistischen Untersuchungen Gebrauch gemacht, sodass die Statistik tendenziell deskriptiven Charakter hat und keine Aussagen zur statistischen Signifikanz möglich sind.

3.2.1 Geschlechterverteilung:

Nach der histologischen Einteilung der unterschiedlichen Diagnosen erfolgt hier nun eine Aufschlüsselung der Anzahl der unterschiedlichen Diagnosen mit der dazugehörigen Geschlechtsaufteilung:

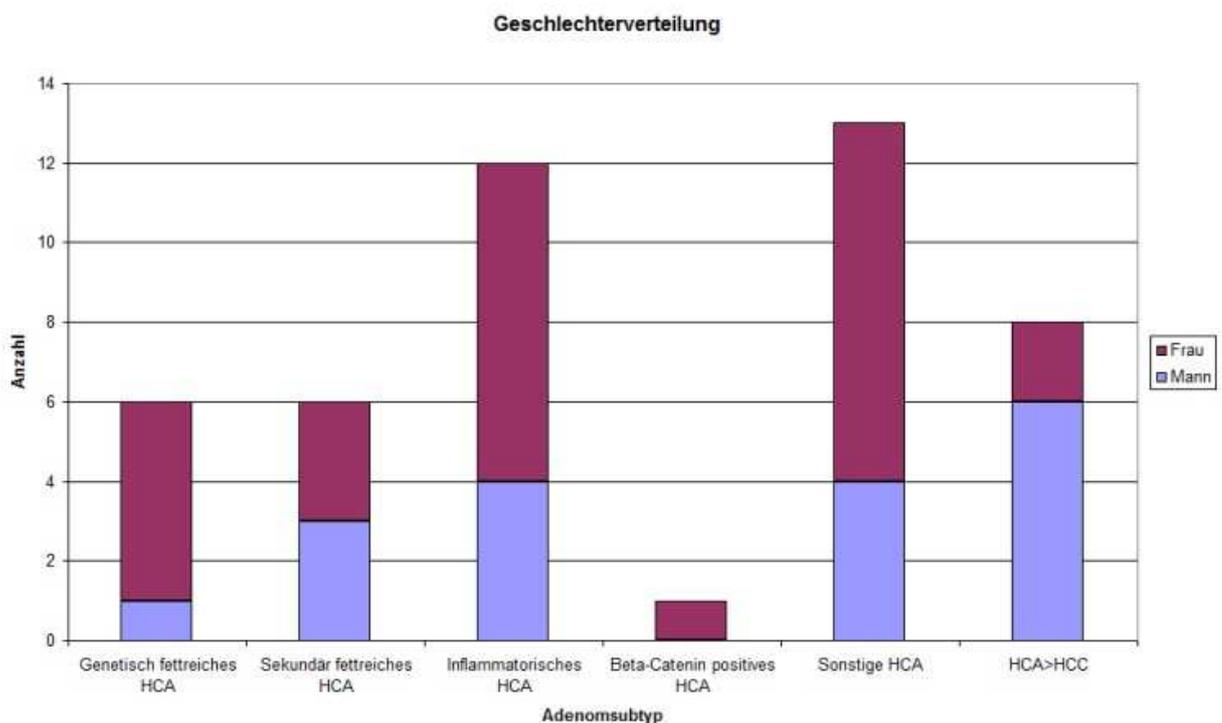


Abbildung 5: Geschlechterverteilung nach Adenomsubtyp

Frauen sind von allen Adenom Subtypen – abgesehen von den sekundär fettreichen – häufiger betroffen. Betrachtet man die HCA>HCC Gruppe, fällt auf, dass der Männeranteil nun deutlich steigt. Dies spiegelt die „Matrix-Diagnose“ aus Kapitel 1 wider, in der beim männlichem Geschlecht das Grundrisiko für Malignität höher ist.

3.2.2 Alter:

Beim Alter wurde ein deutlicher Unterschied zwischen Frauen und Männern gesehen, wie es bereits die „Matrix-Diagnose“ beschreibt: Frauen sind im Schnitt 36,93 Jahre alt, während Männer 62,0 Jahre alt sind. Im folgenden Diagramm ist der Mittelwert des Alters genauer nach Diagnosen aufgegliedert. Dort sieht man deutlich, dass die letzte Gruppe „HCA>HCC“ mehr Männer enthält, da der Altersschnitt um mehr als 25 Jahre angestiegen ist.

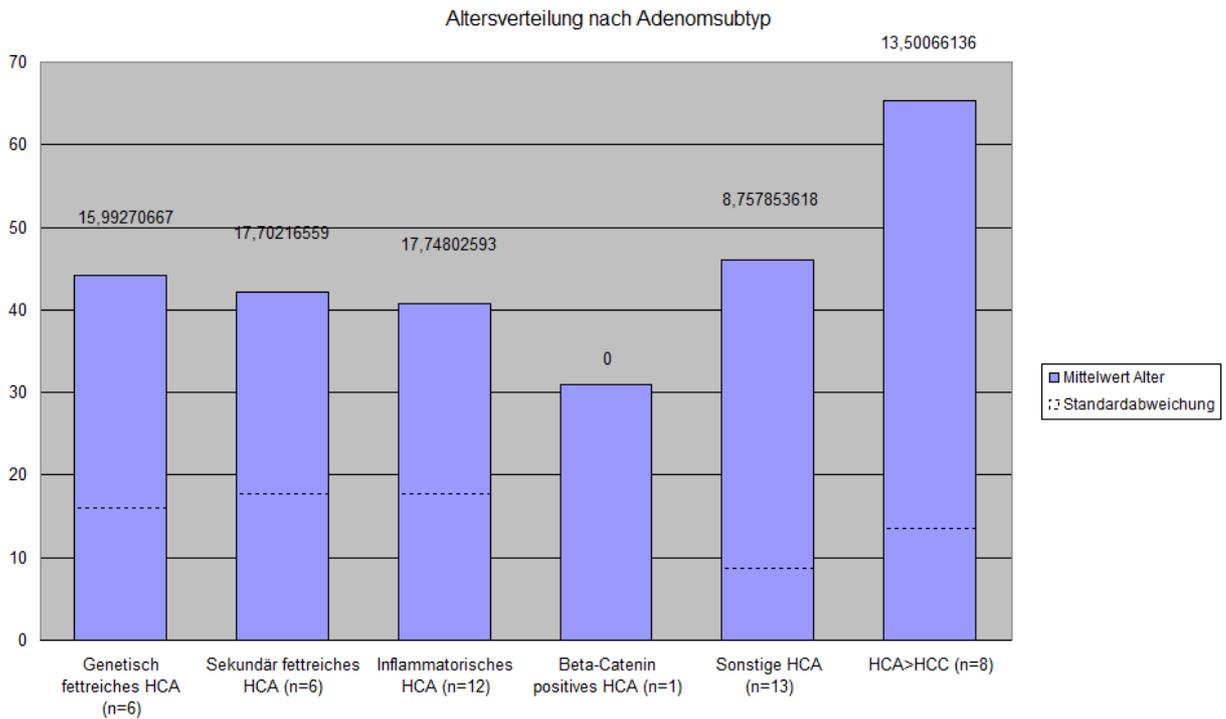


Abbildung 6: Altersverteilung nach Adenomsubtyp

3.2.3 BMI:

Der Body-Mass-Index liegt im Durchschnitt bei 27,28, d.h. im Bereich der Prä-Adipositas. Nachfolgende Abbildung zeigt uns den BMI nach Diagnosen aufgegliedert:

BMI nach Adenomsubtyp

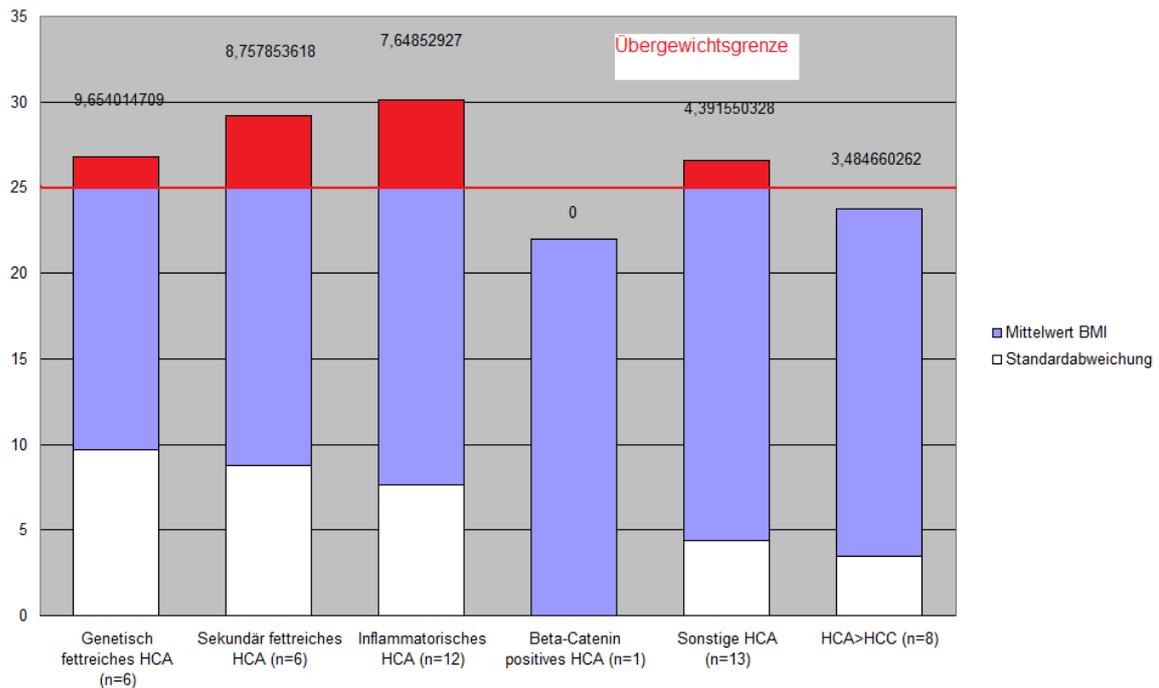


Abbildung 7: BMI nach Adenomsubtyp

Auffällig ist hier, dass der BMI in der letzten Gruppe „HCA>HCC“ mit 23,79 im Normalbereich liegt. Darüber hinaus sind Patienten mit inflammatorischem HCA tendenziell am schwersten, was jedoch statistisch nicht signifikant ist.

3.2.4 Einnahme oraler Kontrazeptiva:

Nur bei 16 von 28 Patientinnen geht aus den Akten hervor, dass sie Antikontrazeptiva genommen haben. Bei 9 von ihnen gibt es genaue Daten zur Dauer der Einnahme: im Durchschnitt 15,1 Jahre. Es ist allerdings davon auszugehen, dass unter den 9 Patientinnen, von denen es keine Angaben gibt, noch einige dabei sind, bei denen ebenfalls eine mehrjährige Einnahme vorliegt.

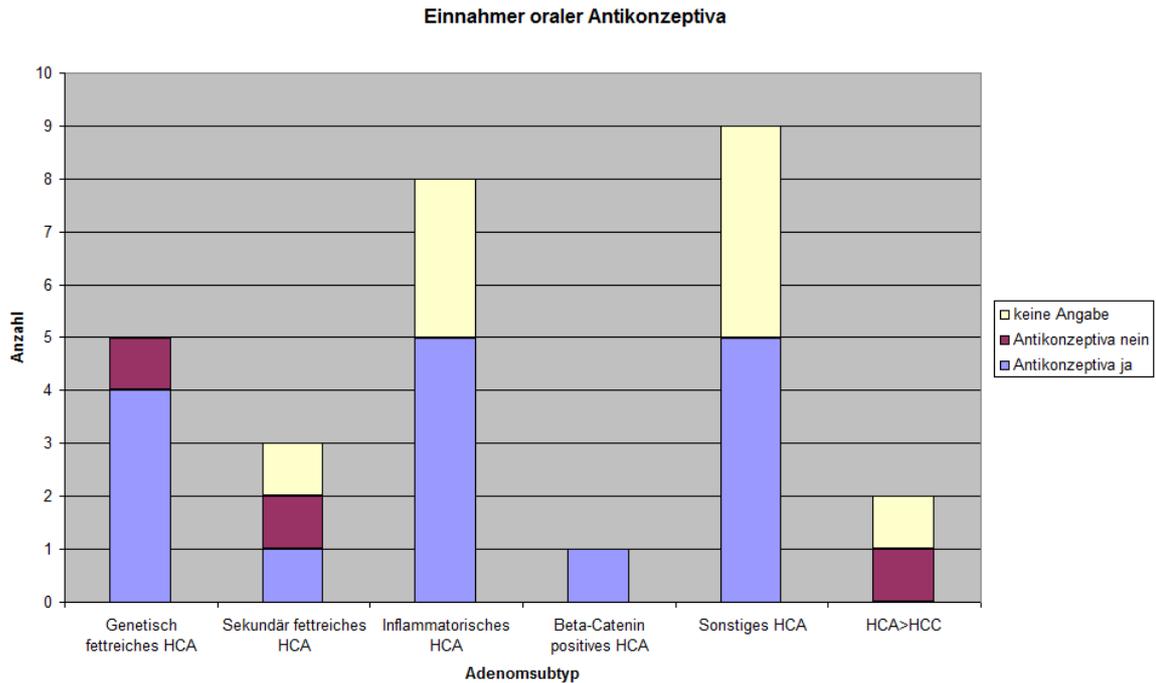


Abbildung 8: Einnahme oraler Antikonzeptiva nach Adenomsubtyp

3.2.5 Diagnosestellung:

Bei der Diagnosestellung fällt auf, dass 39 % der Adenome durch eine Sonographie entdeckt wurden, die aufgrund symptomatischer Beschwerden, d.h. unklarer Oberbauchschmerzen, gemacht wurde. Am zweithäufigsten ist das Adenom jedoch ein reiner Zufallsbefund, dem keine spezielle Symptomatik vorausgeht.

Bei den Patienten über 65 Jahren, die sich in der Gruppe „HCA>HCC“ befinden (siehe 3.2.2), kommen noch die Routineuntersuchungen dazu, die aufgrund des Alters und der Zusatzerkrankungen häufiger erfolgen.

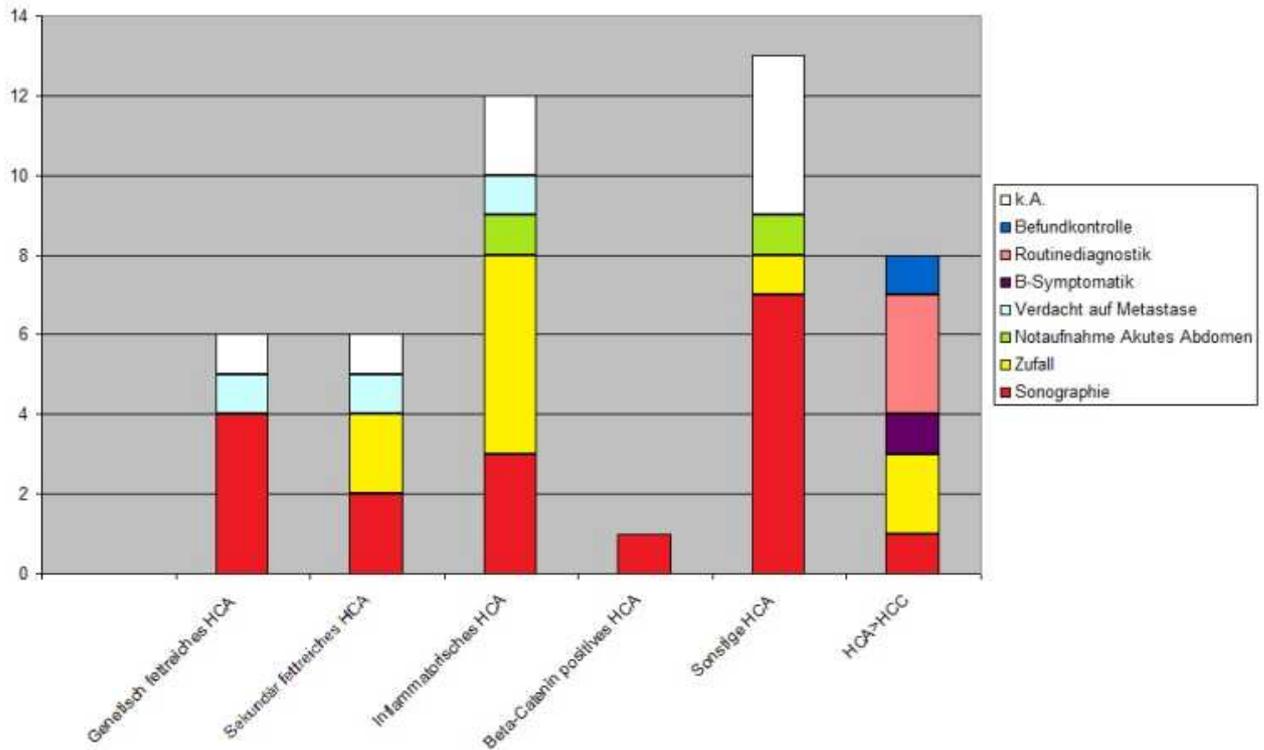


Abbildung 9: Initiale Gründe für die Diagnosestellung nach Adenomsubtyp

3.2.6 Adenomgröße:

Die Adenomgröße liefert aufgrund der Heterogenität der Gruppen keine aufschlussreichen Daten. Die Größe der Adenome reichte von 1,6 cm bis 26 cm. Bei fast allen Adenomsubtypen (außer in der Gruppe der genetisch fettreichen und der β -Catenin positiven Adenome) wurden auch Tumoren beobachtet, die zum Zeitpunkt der Diagnosestellung kleiner als 5cm waren. In der Gruppe der genetisch fettreichen Adenome fehlen bei drei Patienten genaue Angaben zur Tumorgöße und in der Gruppe der β -Catenin positiven Adenome gibt es nur eine Patientin, weshalb die Angabe zur Tumorsgröße nicht repräsentativ sein muss. Bei den Übergangstypen „HCA>HCC“ waren drei von acht Tumoren kleiner als fünf Zentimeter.

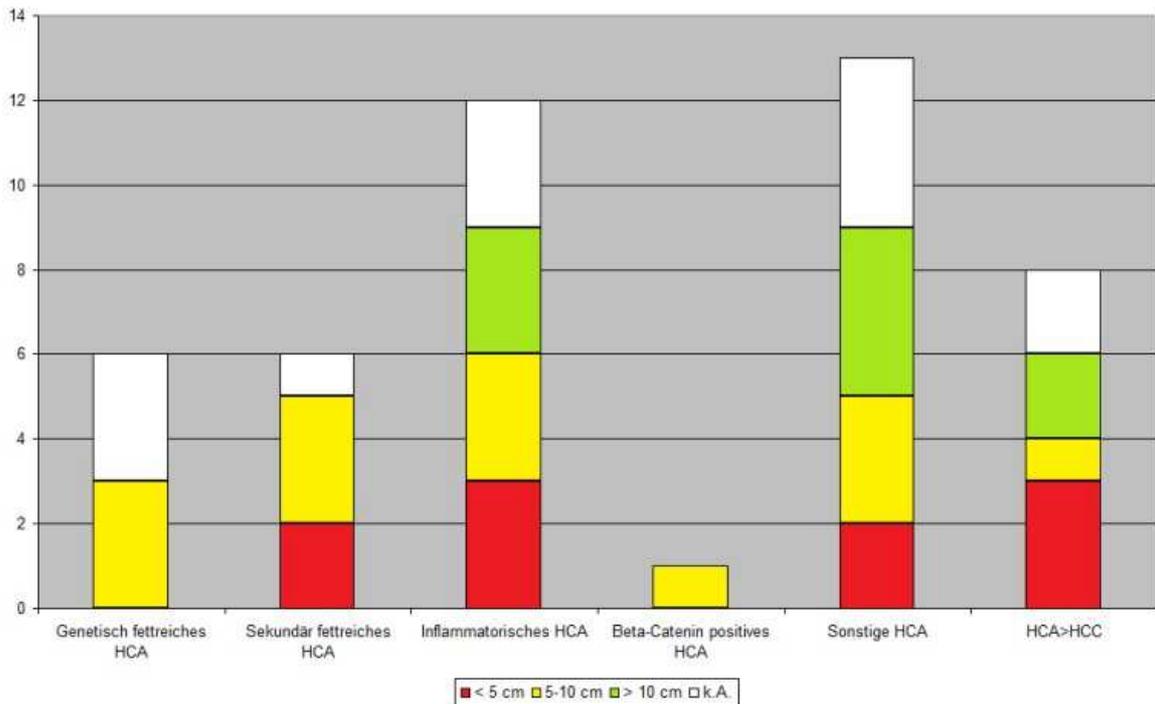


Abbildung 10: Tumorgröße nach Adenomsubtyp

3.2.7 Adenomanzahl:

Bei 34 von 46 Patienten (das entspricht 74%) lag ein singuläres Adenom vor. Bei den restlichen 12 Patienten lagen mindestens 2 (von 2 bis 7) Adenome vor.

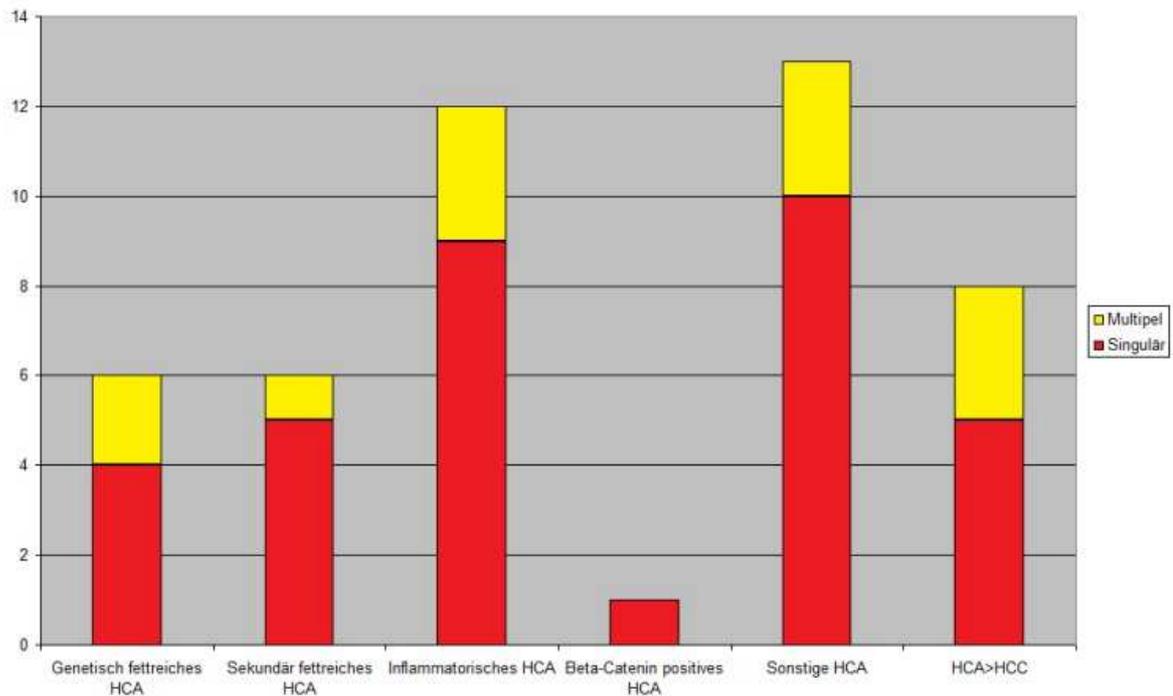


Abbildung 11: Adenomanzahl nach Adenomsubtyp

3.2.8 Operationen und Tumorlokalisation:

Von den 46 Adenompatienten wurden vier nicht operiert. Bei diesen erfolgte die sonographisch, bzw. CT-gesteuerte Biopsie. Die vier nicht operierten Patienten hatten singuläre Läsionen, die keine Atypien, Nekrosen oder Einblutungen zeigten. Die restlichen 42 Adenompatienten wurden operiert. Im Durchschnitt betrug die Operationszeit um die 200 Minuten. Es wurden siebenmal Hemihepatektomien rechts (das entspricht den Lebersegmenten V-VIII nach Couinaud), neunmal linkslaterale Resektionen (entspricht den Segmenten II und III), zwölfmal atypische Resektionen und 28 typische Segmentresektionen durchgeführt. Bei den Operationen erfolgte auf individueller Basis bei 22 von 42 Patienten eine Cholezystektomie.

Abbildung 12 gibt einen Überblick über die resezierten Areale nach Adenomsubtyp.

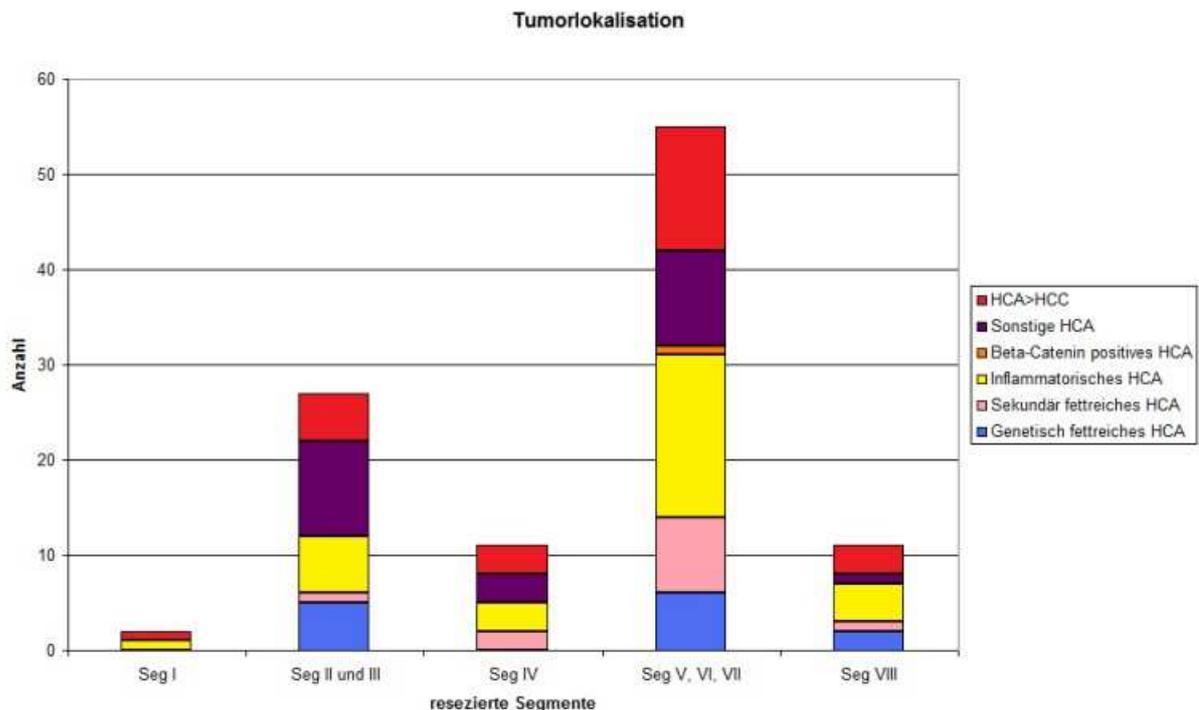


Abbildung 12: Tumorlokalisation nach Lebersegmenten

Hier fällt auf, dass zum einen die linkslateralen Segmente II und III, sowie die im rechten Leberlappen lokalisierten Segmente V, VI und VII am häufigsten entfernt wurden. Dabei war die rechte Leber die häufigste Lokalisation des Adenoms in dieser Studie. Zur besseren Übersicht dient die untere Abbildung Nr. 14, die die Lebersegmente nach Couinaud zeigt und in der ersichtlich wird, dass diese Lebersegmente Teil der rechten Leber sind. Couinaud erforschte 1954 in seiner Veröffentlichung „Lobes et segments hepaticques: notes sur l’architecture anatomique et chirurgicale de foie“ die intrahepatische

Leberanatomie zunächst anhand der Gallengänge und Äste der Arteria hepatica, um anschließend die Grenzen der typischen, d.h. anatomischen Lebersegmente, anhand des Verlaufes der Endäste der Vena portae zu studieren. Couinaud erkannte die Wichtigkeit der Vena portae, bei deren Verschluss es zu Nekrosen in den Lebersegmenten kommt. Für die heute Leberchirurgie haben diese Lebersegmente nicht an Bedeutung verloren, da sie vor allem bei malignen Tumoren den Vorteil bieten, dass sich der Tumor analog der Zuflüsse der portalen Strukturen und Gallengänge ausbreitet.

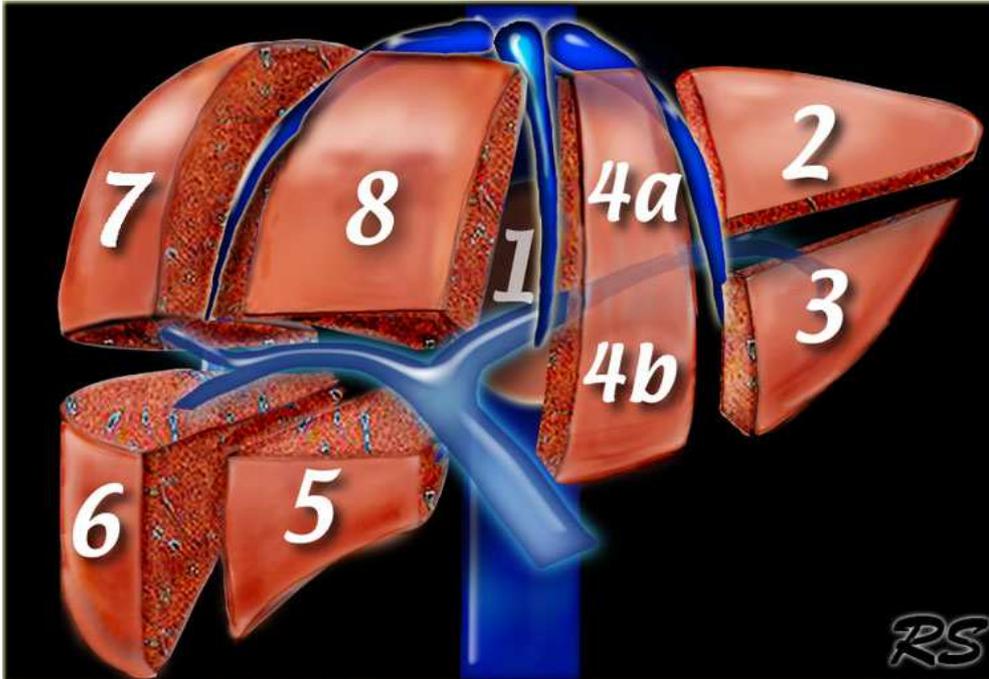


Abbildung 13: Anatomische Lebersegmente nach Couinaud von URL:
<http://www.radiologyassistant.nl/en/4375bb8dc241d> [12.05.2012 14:06 Uhr]

3.2.9 OP-Komplikationen:

Die Komplikationen bei den Resektionen wurden mit der Clavien-Dindo Klassifikation erfasst (Clavien et al. 2009). Insgesamt kam es bei 30,9% der Patienten (13 von 42) zu Komplikationen postoperativ. Acht Patienten erlitten Komplikationen vom *Grad Clavien I* bzw. *II*, das entspricht der Gabe von Medikamenten wie z.B. Analgetika oder Antiemetika oder Bluttransfusionen oder dem Öffnen von Wundinfektionen am Krankenbett. *Clavien Grad III* bezeichnet chirurgische, endoskopische oder radiologische Intervention, *IIIa*) ohne Vollnarkose, *IIIb*) mit Vollnarkose. Insgesamt kam es bei zwei Patienten zu einer Komplikation des Grades *IIIa*) oder *IIIb*). Bei 2 Patienten wurden Komplikationen des Grades *IVa*) behandelt, das entspricht einer lebensbedrohlichen Komplikation wie z.B. die Dialysebehandlung bei einem akuten Nierenversagen. Diese Patienten hatten eine operationsbedürftige Blutung sowie einen Re-Myokardinfarkt. Ein Patient verstarb an

einem Multiorganversagen nach einer Transplantation und anschließender Re-Transplantation bei primärem Transplantatversagen (*Clavien* Komplikation *Grad V*).

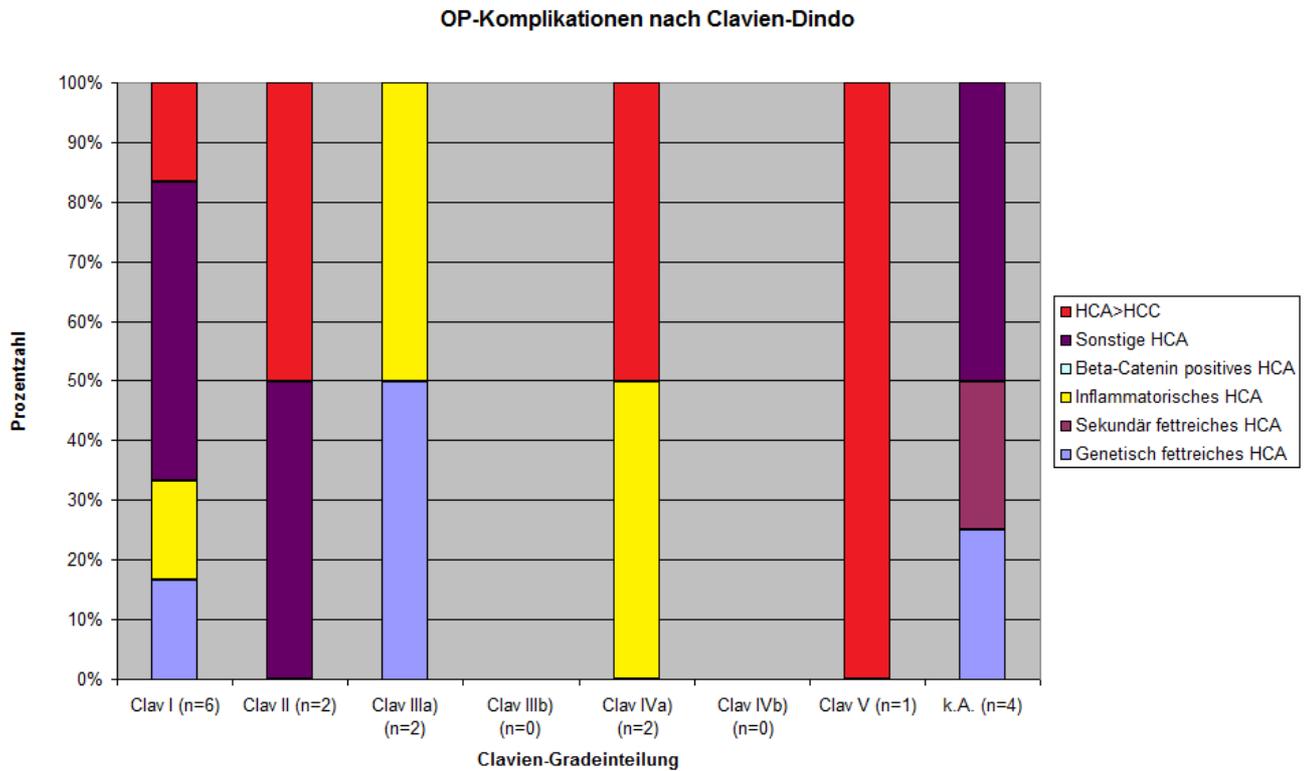


Abbildung 14: OP-Komplikationen nach Adenomsubtypen

3.2.10 Comorbiditäten:

An erster Stelle steht hier die Adipositas mit 28%, die ab einem BMI von 30 diagnostiziert wird. Direkt darauf folgten zusätzliche Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems, von denen jeder vierte Adenompatient betroffen ist, wobei arterieller Hypertonus hier die größte Gruppe bildet. Diabetes folgt mit 17%, welcher die Trias des metabolischen Syndroms komplettiert. Hier muss allerdings angemerkt werden, dass im Gegensatz zu Bioulac-Sage et al. 2009 nicht ein MODY-Diabetes gemeint ist, sondern der häufige Diabetes mellitus Typ II. Schilddrüsenerkrankungen zeigten 20% der Patienten.

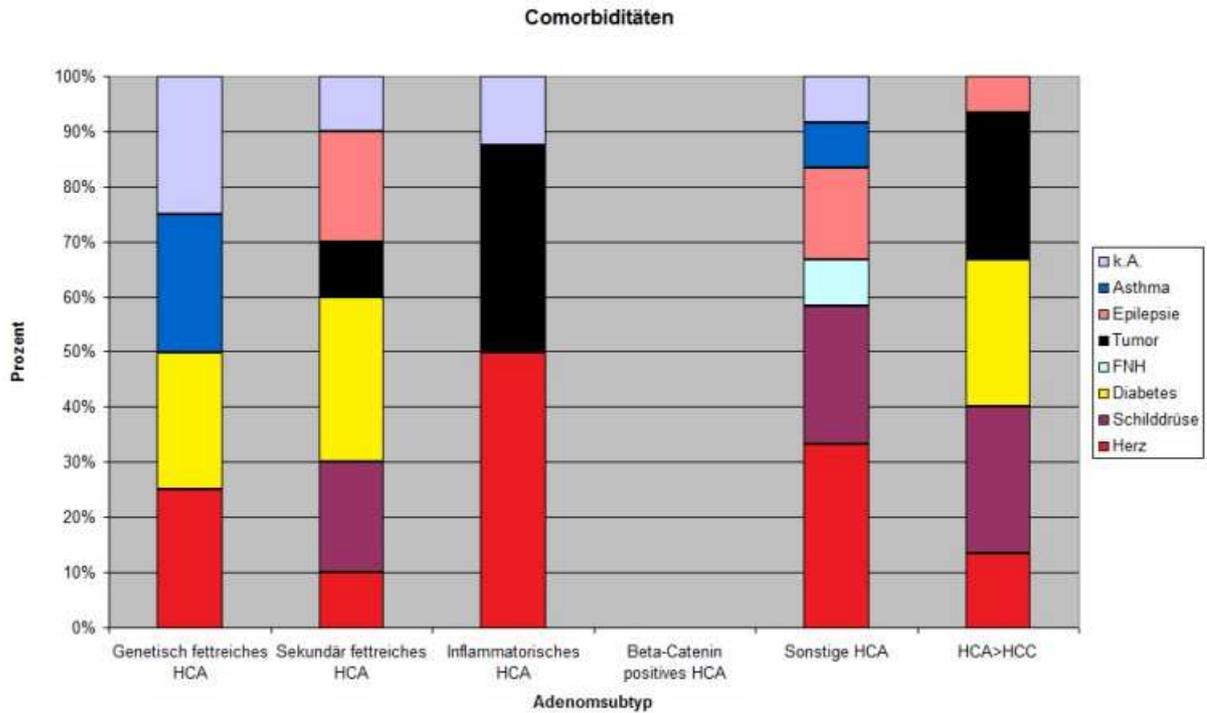


Abbildung 15: Comorbiditäten nach Adenomsubtyp

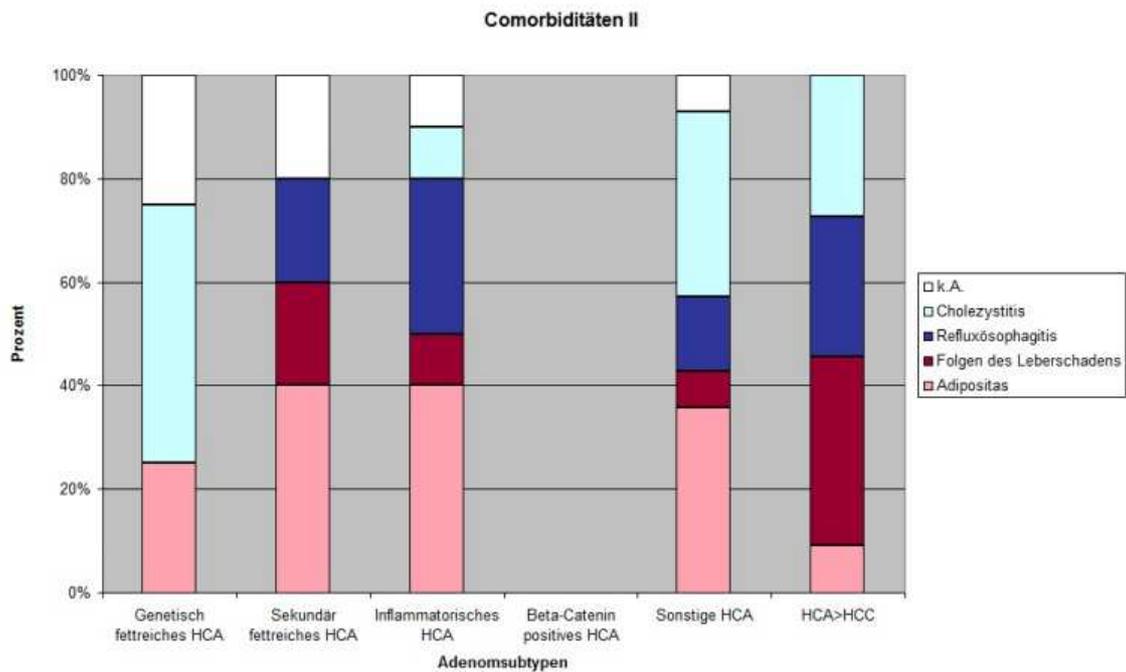


Abbildung 16: Comorbiditäten II nach Adenomsubtyp

3.2.11 Labor:

Bei den Labordaten wurden präoperativ bzw. vor der sonographischen Stanzbiopsie die leberspezifischen Transaminasen, CRP als Entzündungsmarker, Hämoglobin, Gerinnung und die Tumormarker bestimmt. Die Tumormarker sind separat unter dem Unterpunkt 3.2.12 aufgeführt.

Die Transaminasen ASAT und ALAT waren bei der Hälfte der Patienten außerhalb der Norm, die GGT war bei 30 von 46 Patienten (das entspricht 65%) auf durchschnittlich 153,3 U/L erhöht (Normwert < 38 U/L). INR und PTT für die Gerinnung waren unauffällig. Auf das CRP sollte noch ein Augenmerk gelegt werden, da es bei 72% der Patienten erhöht war, beim inflammatorischen Subtyp des HCA bei 10 von 12 Patienten, das entspricht 83%. Dies deckt sich mit dem Bericht von Sa Cunha et al. aus dem Jahr 2007, die von einem sog. „inflammatorischen Syndrom“ bei einem inflammatorischen HCA berichteten, das u.a. mit einem erhöhten CRP von 90 mg/L einherging.

Beim Hämoglobin sieht man bei der Hälfte der Patienten erniedrigte Werte, wobei diese meist sehr nah an den Grenzwerten lagen und nur bei einem einzigen Patienten im transfusionsbedürftigen Bereich mit 7,1 g/dl. Der Mittelwert des Hämoglobins lag jedoch bei keinem Subtyp unterhalb der Norm.

3.2.12 Tumormarker:

Als Tumormarker wurden CA19-9 sowie AFP präoperativ bestimmt. Dabei waren beide Marker jeweils dreimal erhöht und alle vier Patienten (bei zwei von ihnen war jeweils nur ein Marker erhöht) stammen aus der Gruppe „HCA>HCC“.

3.2.13 Follow-Up und Tumorrekurrenzen:

Wie bereits im Patienten- und Methodenteil unter 2.1 erwähnt, erschienen lediglich 24 von 46 Patienten zum Follow-Up. Unter diesen Patienten wurden insgesamt bei vier Patienten eine Rekurrenz des Tumors gefunden, darunter befanden sich zwei Adenome und 2 Hepatozelluläre Karzinome. Die Adenomrekurrenzen befanden sich in der Gruppe der sekundär fettreichen und der sonstigen Adenome. Im Gegensatz dazu fand man die HCC Rekurrenzen unter den sonstigen Adenomen und den Übergangsfällen „HCA>HCC“. In der β -Catenin positiven Gruppe fand man kein Rezidiv, allerdings enthält diese Gruppe nur einen Patienten. Erwähnenswert sind zum Schluss noch die primär geäußerten Verdachtsdiagnosen bei diesem Patientenkollektiv: Bei insgesamt 8 Patienten war die initial geäußerte Verdachtsdiagnose HCC oder HCA falsch. Zur besseren Übersicht dient nachfolgende Tabelle.

Definitive Histologie	6 genetisch fettreiche Adenome	6 sekundär fettreiche Adenome	1 β -Catenin positives Adenom	12 inflammatorische Adenome	13 sonstige Adenome	8 Adenome im Übergang zum HCC
Geschlecht	5♀ 1♂	3♀ 3♂	1♀	8♀ 4♂	9♀ 4♂	2♀ 6♂
Klinisch verdächtig HCC	2♀ (Pat. 24,25)	1♂ (Pat. 36)	∅	1♀ (Pat. 13)	3♂ (Pat. 32,55,58)	2♀ (Pat.54,64) 5♂ (Pat. 9, 41, 45, 51,65)
Klinisch verdächtig HCA	3♀, 1♂	3♀, 2♂	1♀	7♀, 4♂	9♀, 1♂	1♂ (Pat. 26)
Definitive Histologie HCC	∅ bestätigt	∅ bestätigt	∅	1♂ (Pat. 3)	∅	* 2♀ (Pat.54,64) 6♂ (Pat. 9,26,41, 45, 51,65)
Rekurrenz HCA	∅	1♀ (Pat. 10)	∅	∅	1♀ (Pat. 27)	∅
Rekurrenz HCC	∅	∅	∅	∅	1♂ (Pat. 7)	1♀ (Pat. 54)

Legende: ♀= Frau ♂= Mann ∅= keine *= bei diesen Patienten gab es einen Mischanteil von HCC und HCA in der Histologie

Tabelle 10: Übersichtstabelle der Ergebnisse

4 Diskussion

Ziel der Arbeit war es, die Indikation zur chirurgischen Resektion von Leberzelladenomen anhand einer immunhistochemischen Subtypisierung von Bioulac-Sage aus dem Jahr 2009 aus Bordeaux zu überprüfen. Dafür wurden die Gewebeproben von 46 Patienten, die von 1996 bis 2010 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf mit der Diagnose „Leberzelladenom“ entweder mittels einer Stanzbiopsie diagnostiziert, oder mittels der chirurgischen Resektion primär therapiert wurden, immunhistochemisch mit verschiedenen Antikörpern gefärbt. Die verwendeten Antikörper richteten sich gegen LFABP, SAA, GS, β -Catenin, CK7, Mib-3 und Glypican. Aus den unterschiedlichen Färbeeigenschaften wurden analog der Klassifikation aus Bordeaux Subtypen identifiziert und mittels Datenerhebung aus den klinischen Akten und Follow-Up Untersuchungen Risikoprofile für das Auftreten von Rezidiven und maligner Entartung erstellt. Dabei war vor allem von Bedeutung, ob anhand der Subtypisierung eine unterschiedliche Therapie resultiert, da z.B. der β -Catenin positive Subtyp nach der Studie von Bioulac-Sage (2009) ein höheres Risiko für eine maligne Entartung trage und somit die Indikation zur primär chirurgischen Therapie bestehe im Vergleich zum HNF1- α mutierter Subtyp, der nach der Studie aus Bordeaux kein erhöhtes Risiko für eine maligne Entartung trage und somit bei geringer Größe und Beschwerdefreiheit des Patienten nicht primär reseziert werden müsse.

4.1 Histologie

4.1.1 Morphologie der Subtypen:

a) HNF1- α mutierter Subtyp (genetisch fettreicher Subtyp):

Dieser Subtyp wurde durch eine fehlende Anfärbung von LFABP in einem fettreichen HCA charakterisiert. Die fettarme, das Adenom umgebende Leber zeigte eine normale Anfärbung von LFABP. Zusätzlich zeigte sich eine Korrelation zwischen der zytoplasmatischen Anfärbung von β -Catenin mit der Anfärbung von CK7, die sich bei neoduktulären Metaplasien positiv anfärben lässt.

b) Sekundär fettreicher Subtyp:

Dieser Subtyp wurde neu im Hamburger Patientenkollektiv identifiziert. Er manifestierte sich durch einen hohen Fettgehalt im Adenom, sowie der gleichzeitig starken Anfärbung von LFABP im Adenom und war als Entität nicht in der Studie von Bioulac-Sage beschrieben worden. Das LFABP zeigte bei diesem Subtyp sowohl im fettreichen

Adenom, als auch im fettarmen, gesunden Lebergewebe eine vermehrte Anfärbung. Zusätzlich wurde die GS im Adenom teilweise stark exprimiert. Die starke Anfärbung des LFABP bei gleichzeitig hohem Fettgehalt wurde als eine sekundäre, d.h. nicht genetische Mutation interpretiert.

c) Inflammatorischer Subtyp:

Dieser Subtyp wurde durch eine starke SAA Anfärbung charakterisiert. Zusätzlich wurde bei den Hamburger Patienten im Gegensatz zu Bordeaux eine Korrelation mit der LFABP Anfärbung gesehen.

d) β-Catenin mutierter Subtyp:

In dieser Studie wurde nur eine Patientin mit diesem Subtyp identifiziert. Die Leberbiopsie zeigte eine nukleäre und zytoplasmatische Anfärbung des β-Catenin Antikörpers im fettarmen Adenom. Zusätzlich zeigte sich noch eine starke SAA Anfärbung im Tumor sowie eine LFABP Anfärbung im Tumor.

e) Sonstige Adenome:

Dieser Subtyp wurde durch keine spezifische Anfärbung ausgezeichnet. Die Gewebeproben dieser Studie zeigten meist eine unspezifische LFABP-Anfärbung, sowohl des Adenoms, als auch des normalen Lebergewebes.

f) Adenom/Karzinom:

Bei diesem Subtyp zeigten sich sowohl Anteile eines benignen Adenoms, als auch Übergänge zum HCC. Die Anfärbungen der einzelnen Marker waren recht unterschiedlich. Die Karzinomanteile waren erwartungsgemäß im Gegensatz zu den Adenomen durch eine Positivität von Glypican-3 charakterisiert. Außerdem zeigte sich eine durchgehende Fettarmut dieser Tumoren.

4.1.2 Allgemeines zur Histologie:

Bei diesem Patientenkollektiv wurden einige Unterschiede bemerkt. Allgemein manifestierten sich die Subtypen bei Bioulac-Sage et al. 2009 spezifischer, d.h. dass zum Beispiel beim inflammatorischen Subtyp nur das SAA vermehrt exprimiert wurde, während die inflammatorischen Adenome dieser Studie zum Teil auch vermehrt LFABP exprimierten.

Als nächsten Unterschied sind die in dieser Studie als sekundär fettreich bezeichneten Adenome zu nennen, die es in der Bordeaux-Klassifikation nicht gibt. Bei ihnen exprimierten die fettreichen Adenome stets kein LFABP, während es im Hamburger Kollektiv sowohl fettreiche Adenome gab, die LFABP exprimierten, als auch solche, die es nicht taten.

Ein weiterer, klinisch sehr bedeutsamer Unterschied ist das Transformationsrisiko: Im Gegensatz zu der Bordeaux-Population haben im Hamburger Kollektiv der Übergangstyp sowie die unspezifischen Adenome („Typ der sonstigen Adenome“) ein erhöhtes Transformationsrisiko. Bei Bioulac-Sage et al. 2007 gab es β -Catenin Mutationen beim inflammatorischen und beim nichtmutierten, nichtinflammatorischen Subtyp. Dazu muss aber gleich angefügt werden, dass es nur einen einzigen nukleären positiven β -Catenin Fall gab, im Gegensatz zu den in Bordeaux genannten 15 Prozent. Dafür wurden in dieser Studie 8 von 46 Patienten gefunden, die neben Adenom- auch HCC- Anteile im Tumorbereich hatten. Das entspricht 17%, im Vergleich zu den bei Bordeaux genannten 5%. Bei den meisten dieser Risikofälle war- wie erwähnt- eine β -Catenin-Positivität als Risikoindikator nicht nachweisbar.

Das bedeutet, dass im Hamburger Patientenkollektiv ein deutlich höheres Transformationsrisiko bestand. Fast jeder fünfte Patient mit der Diagnose eines benignen Leberzelladenoms hatte oder entwickelte im Verlauf ein bösartiges Hepatozelluläres Karzinom. Zur besseren Übersicht werden die Subtypen nachfolgend einzeln diskutiert.

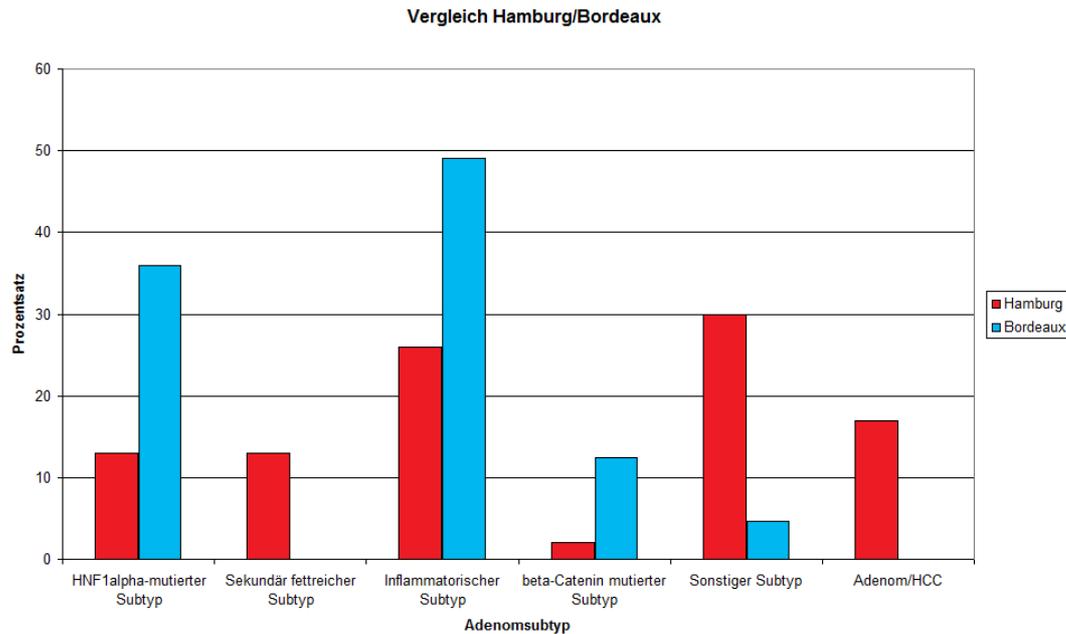


Abbildung 17: Vergleich der Subtypen in Hamburg und Bordeaux

4.2 Klinik:

4.2.1 HNF1- α mutierter Subtyp (genetisch fettreicher Subtyp):

Insgesamt ist dieser Subtyp in dieser Studie selten und Männer sind wenig betroffen mit nur einem von sechs Patienten. In der vorliegenden Studie haben 13% der Patienten diesen Subtyp im Vergleich zu den in Bordeaux genannten 36% (Bioulac-Sage et al. 2009). Von diesen Patienten hat Patient Nr. 11 eine berichtenswerte Krankengeschichte. Dieser Patient war primär nicht operiert worden. Er hatte 1999 ein Prostata-Karzinom und im Rahmen der Tumornachsorge hatte man im Jahr 2008 im Lebersegment VIII eine 4,6x4,1cm große Raumforderung gesehen. In der Stanzbiopsie zeigte sich das Adenom ohne erhöhte Proliferationsrate und einem negativen Glypican. In der nachträglichen Färbung im Rahmen dieser Studie wurde ein HNF1 α -negatives Adenom diagnostiziert. Auch das β -Catenin war negativ. Im April 2011 wurde er erneut vorstellig bei Größenprogredienz der Läsion auf 7,6x7,2cm. Im Befund der externen Computertomographie beschreibt der Radiologe eine Raumforderung, die vereinbar mit einem größenprogredienten Biliom sei, allerdings differentialdiagnostisch auch eine zentral nekrotische Lebermetastase des Prostatakarzinoms sein könnte. Passend zur Metastasenhypothese hätte er multiple paraaortale und iliaceale Lymphknotenmetastasen. Der Patient wollte sich nicht erneut einer Probebiopsie unterziehen. Daher kann man nicht ausschließen, dass es sich bei dem Befund lediglich um ein größenprogredientes Adenom oder ein zum HCC transformierten Adenom handelt.

Bei Patientin Nr. 25 bestand initial die Verdachtsdiagnose eines HCC. Diese Patientin litt zuvor ein Jahr lang unter einem Druckgefühl und bewegungsabhängigem Schmerz im rechten Oberbauch. Im MRT fand man ein zentral nekrotisches HCA von 11,5cm x 8,3cm x 9,5 cm Größe ohne sichere Abgrenzung zum HCC. Die Tumormarker waren negativ. Nach der Resektion identifizierte man ein Adenom, welches nach der nachträglichen Immunhistochemie als HNF1 α -negatives Adenom klassifiziert wurde, obwohl kein signifikanter Fettanteil im Tumor nachweisbar war. Dafür waren alle Marker negativ, außer LFABP, das im Tumor negativ, im normalen Lebergewebe aber stark positiv war. Daraus wurde erschlossen, dass dieses Adenom von der Genetik her ein HNF1 α -negatives Adenom ist.

Eine Alkoholanamnese hat keiner dieser sechs Patienten. Analog dazu haben Jeannot et. al kürzlich (2011) herausgefunden, dass dieser Subtyp zumindest bei Ratten nicht häufiger bei Ethanolexposition auftritt, d.h. Alkohol ist kein Risiko für die HNF1- α Mutation.

4.2.2 Sekundär fettreicher Subtyp:

Dieser Subtyp ist ebenfalls mit 13% der Fälle (6 Patienten) selten. Es waren gleich viele Frauen wie Männer betroffen.

Patientin Nr. 10 stellte sich 2008 mit diffusen Bauchschmerzen und Übelkeit in der Notaufnahme vor. Zuvor hatte sie im Jahr 2006 multiple Einblutungen in der Leber, die konservativ therapiert wurden. In der damals durchgeführten CT-Untersuchung konnte keine exakte Diagnose gestellt werden. Es wurde der Verdacht auf Hämangiome geäußert. Bei der Operation 2008 entfernte man den 8x6x6 cm großen Tumor zusammen mit einem 500mL messenden, alten Hämatom. In der Immunhistochemie zeigte sich ein β -Catenin negatives, stark LFABP positives Adenom. Der Proliferationsmarker MIB-3 war in 3 % der Tumorzellen positiv, das Glypican negativ. Die Patientin hat bis heute keine Rezidiv.

Bei Patient Nr. 36 bestand initial der Verdacht auf ein HCC. Vor seiner Operation erfolgte zweimalig eine Leberstanzbiopsie, wobei sich kein Malignom zeigte. Bei typischer Anamnese mit Alkoholabusus und einer allergisch-toxischen Zirrhose bei fraglichem Z.n. Hepatitis bestand dennoch der hochgradige V.a. ein HCC. Nach der Operation mit Resektion des 6,4x4,3cm großen Tumors wurde ein Leberzelladenom ohne Malignität festgestellt, das sehr fettreich war und eine starke LFABP Positivität zeigte. Der Patient zeigt inzwischen eine Alkoholabstinenz und hat keine Rezidiv.

Zu diesem Subtyp gibt es keine Vergleichsdaten, da diese Tumorentität im Rahmen dieser Studie erstmalig abgegrenzt wurde.

4.2.3 Inflammatorischer Subtyp:

In dieser Studie gehören 26% der Adenome diesem Subtyp an, im Vergleich zu Bioulac-Sage 2009 ist das sehr wenig, bei ihnen sind 49% aller Adenome inflammatorisch.

Walther et Jain haben 2011 gesagt, dass dies der häufigste Subtyp bei Männern ist. Hier sind von den 12 Patienten 4 männlichen Geschlechts, das sind insgesamt 8,6% der Hamburger Adenome und somit ebenfalls der häufigste Subtyp, wenn man von der Adenom/Karzinom Gruppe absieht.

Wie bereits im Ergebnisteil berichtet, entwickelte Patient Nr. 3, der nicht operiert worden war, ein Jahr später ein HCC, an dem er verstarb. Die Leberstanzbiopsie hatte man 1996 bei dem damals 47-jährigen Patienten entnommen und erst im Rahmen dieser Studie retrospektiv immunhistochemisch gefärbt, mit dem Ergebnis, dass die Glypican Färbung deutlich positiv war. Die Transaminasen bei diesem Patienten waren damals nur geringgradig erhöht (ASAT 69 U/L, 66 U/L), Tumormarker hatte man nicht bestimmt. Ansonsten war der Patient bis auf eine Aortenklappeninsuffizienz gesund. Das β -Catenin in der Immunhistochemie zeigte sich negativ, ebenso wie die Glutaminsynthetase. Dieser Patient ist ein gutes Beispiel für die Notwendigkeit die Indikationsstellung zur Operation weiter auszulegen und prinzipiell Adenome frühzeitig zu resezieren. Darüber hinaus zeigt dieses Beispiel, dass auch junge, weitgehend gesunde Menschen ohne Risikofaktoren ein HCC entwickeln können.

Möglicherweise ist dies auch ein Fall des sogenannten sampling errors, d.h. dass das HCC u.U. schon zum Zeitpunkt der Leberstanzbiopsie bestand, jedoch nicht im Bereich der Leberstanz.

Zu den anderen Patienten kann gesagt werden, dass in dieser Studie eine hohe Korrelation zwischen der SAA Positivität und der LFABP Positivität besteht. Nach den Bordeaux-Subtypen sind die Hamburger inflammatorischen Subtypen folglich streng genommen bis auf Patient Nr. 5 gar keine, da bei allen anderen auch das LFABP erhöht ist. Sie wurden dennoch in die Gruppe der inflammatorischen Adenome eingeordnet, da die SAA Färbung als entscheidend betrachtet wurde.

Patientin Nr. 5 ist weiblich, mit einem BMI von 29 deutlich übergewichtig und hatte jahrelang orale Kontrazeptiva eingenommen. Im Alter von 26 entwickelte sie einen Lebertumor, der zunächst beobachtet wurde und im Rahmen einer Größenprogredienz auf 15x15cm 2 Jahre später reseziert wurde. Der Tumor war stark eingeblutet und nekrotisch. In der nachträglichen Immunhistochemie zeigte er sich als inflammatorisches Adenom.

4.2.4 β -Catenin mutierter Subtyp:

In dieser Studie gab es nur einen Fall von nukleärer β -Catenin Positivität bei Patientin Nr. 6. Dies entspricht 2% aller Adenompatienten. Bei Bioulac-Sage et al. 2009 sind es 12,5% β -Catenin positive Adenome, von denen 4,7% rein in diesen Subtyp gehören und der Rest inflammatorische Adenome mit einer β -Catenin Positivität waren. Wenn das ebenso betrachtet worden wäre, könnte man diese Patientin eigentlich ebenso in die Gruppe der inflammatorischen Adenome einordnen, die β -Catenin positiv ist. Zum Vergleich haben bei Walther et Jain 2011 10% aller Adenome ein positives β -Catenin, bei ihnen charakterisiert sich dieser Subtyp durch diffuse GS-Anfärbung, sowie nukleäre β -Catenin Anfärbung. Zudem sei er häufiger bei Männern und gehe oft mit Pseudoazini und Dysplasie einher (Walther et Jain 2011).

Allgemein kann gesagt werden, dass diese Studie für diesen Subtyp allein aufgrund der geringen Anzahl keine Aussage über das Transformationsrisiko von β -Catenin mutierten Tumoren treffen kann.

Bei Patientin Nr. 6 hatte man im Jahre 1997 aufgrund von häufiger Übelkeit ohne Erbrechen oder Durchfall eine Blutentnahme gemacht, wobei man erhöhte Transaminasen feststellte. Die Tumormarker waren negativ. Daraufhin folgte ein Ultraschall der Leber, bei dem sich eine 9,7x5,6x7 cm große Raumforderung in Segment VI darstellte. In einer Feinnadelpunktion zeigte sich eine Peliosis der Leber und ein starker Verdacht auf ein Leberzelladenom. Wegen der Gefahr der Blutung und Entartungsrate entschied man sich für eine Operation, bei der sich damals in der Histologie keine Zellatypien zeigten. Bei der erneuten Immunhistochemie 13 Jahre später wurden zahlreiche Zellatypien entdeckt, außerdem eine starke Glypican Positivität, β -Catenin Positivität, sowie SAA-Positivität. Bedauerlicherweise ist diese Patientin nicht zum Follow-Up gekommen und es kann keine Aussage über eine Rekurrenz des Tumors getroffen werden.

4.2.5 Sonstige Adenome:

Mit 14 Patienten in dieser Gruppe entspricht das 30% aller untersuchten Adenome und ist die größte Gruppe in dieser Studie. Im Vergleich dazu ist es bei Walther et Jain 2011 die kleinste Gruppe mit 5%, in Bordeaux sind es 4,6% der Patienten (Bioulac-Sage et al. 2009). Das mag unterschiedliche Gründe haben, zum einen könnten die Hamburger Färbungen unspezifischer sein, d.h., dass es vielleicht vermehrt zu einer Anfärbung kam, die in Bordeaux negativ gewesen wäre. Zweitens kann es ebenso sein, dass in anderen Studien eine z.B. bei uns 1+ Positivität in Bordeaux als negativ gewertet wurde.

In dieser Gruppe gab es in dieser Studie eine Rekurrenz und ein Rezidiv.

Patientin Nr. 27 stellte sich im Frühjahr 2003 im Uniklinikum Eppendorf vor, nachdem sie seit September 2002 unter Druckschmerzen im Oberbauch mit kolikartigen Blähungen litt. Die Transaminasen waren erhöht: ASAT 218 U/L, ALAT 202 U/L, GLDH 43 U/L, GGT 36 U/L. Die Tumormarker waren negativ. Nach Resektion des 13cm großen Tumors zeigte sich histologisch ein LFABP positives, nicht fettreiches Adenom. In der nachträglich durchgeführten Immunhistochemie zeigte sich außerdem eine starke Positivität für die GS und eine Positivität für Glypican. In der Nachkontrolle zeigte ein CT vom 2008 eine 1 cm große Raumforderung im Bereich der ehemaligen Resektionszone. Die Patientin wurde bis heute nicht operativ versorgt.

Bei Patient Nr. 7a wurde 2000 im Rahmen einer Routineuntersuchung beim Hausarzt ein Tastbefund der Leber auffällig, der sich im CT als stark HCC verdächtiger, 10cm große Raumforderung der linken Leber, nur schwer abgrenzbar vom Pankreaskorpus zeigte. Der Patient hatte keinerlei B-Symptomatik und keine erhöhten Tumormarker. Zum Ausschluss eines Primärtumors erfolgten eine Ösophagogastroduodenoskopie, sowie eine Koloskopie, die beide keinen Hinweis auf einen eventuellen Primarius ergaben. Nach der Operation zeigte sich in der Histologie ein 6x8cm großes Adenom. 2004 stellte der Patient sich erneut mit einer zunehmenden Oberbauchsymptomatik und einem Völlegefühl vor, in der Sonographie und in der Angio-CT zeigten sich mehrere Raumforderungen im rechten Leberlappen mit zentraler Nekrose, passend zu Adenomen oder differentialdiagnostisch auch multizentrischem HCC. Die Stanzbiopsie ergab einen hepatozellulären Knoten ohne Malignitätshinweise, vereinbar mit einem Adenom. Bei den Tumormarkern zeigte sich lediglich CA 19-9 mit 41,3 kU/L (Grenzwert: bis 27 kU/L) erhöht. Nach der Operation ergab die endgültige Histologie ein maximal 19,5cm durchmessendes HCC pT3, G1. Seither geht es dem Patienten gut, in der diesjährigen Kontrolle zeigte sich die Leber tumorfrei. In der nachträglich durchgeführten Immunhistochemie seines OP-Resektates aus

dem Jahr 2000 wurde ein fettarmes, stark LFABP positives, stark GS positives und stark Glypican positives Adenom gefunden. Das β -Catenin zeigte nur zytoplasmatisch geringe Aktivität. Dieser Patient ist ein gutes Beispiel für die gute Prognosefähigkeit des Markers Glypican, da dieses bereits im Primärtumor besorgniserregend hoch war und vier Jahre später das Adenom maligne transformierte.

4.2.6 Adenom/Karzinom:

In dieser Gruppe gibt es 8 Patienten, das entspricht 17% und ist somit eine sehr hohe Zahl im Vergleich zu den genannten 4,2% bei Stoot et al. 2010. Die meisten der Patienten waren Männer mit einer Verteilung von zwei Drittel zu einem Drittel Frauen. In dieser Gruppe gab es ein Rezidiv des HCC's und einen Todesfall.

Patientin Nr. 54 bekam im November 2007 im Rahmen eines gastrointestinalen Infekts eine Oberbauch-Sonographie. Dabei entdeckte man einen Tumor im rechten Oberbauch, der, wegen der Größe von 26cm und des massiv erhöhten AFP von 1161 kU/L, sofort operativ mittels einer erweiterten Hemihepatektomie rechts reseziert wurde. Dabei ergab sich histologisch ein multifokales bilobuläres HCC G2, pT3, R0, von 26cm Durchmesser in einem Adenom. Im Juni 2008 zeigte sich in der Nachkontrolle ein HCC Rezidiv durch erhöhte Laborparameter und im CT Abdomen. Somit erhielt die Patientin im Juni 2008 eine Splitlebertransplantation und lebt seither rezidivfrei.

Patient Nr. 45 wurde 2008 bei bekannter äthyltoxischer Zirrhose für eine Lebertransplantation evaluiert. Im November 2009 erfolgte die Transplantation. Bei primärer Non-Funktion erfolgte am Folgetag die Re-Transplantation. Er verstarb kurz nach der Operation an einer unstillbaren Massenblutung. In der Explantat-Leber zeigte sich dann das Adenom.

Auffällig an dieser Gruppe ist die durchgehende Fettarmut der Tumoren. Ebenfalls auffällig sind die Unterschiede beim Mib und Glypican zwischen den Karzinomanteilen und den Adenomanteilen. Dort sieht man bereits wie schwierig eine exakte Zuordnung der Tumoren ist, die nur in bereits mutierten Arealen eine erhöhte Positivität für Mib oder Glypican zeigten. Bei nicht resezierten Tumoren kann die Stanze folglich einen benignen Befund anzeigen, wenn an dem mutierten Areal vorbei gestanzt wird.

4.3 Statistische Auswertung

Aufgrund des kleinen Patientenkollektivs wurde eine rein deskriptive Statistik durchgeführt.

4.3.1 Geschlechterverteilung und Alter:

Die Patienten dieser Studie waren zu 61% weiblichen Geschlechts und zu 39% männlichen Geschlechts. Dies ist im Vergleich zu anderen Studien wie z.B. Leese et al. 1988 mit 83% weiblichen und 17% männlichen Patienten, oder van Aalten et al. 2010 mit 97% weiblichen und 3% männlichen Patienten eher untypische Verteilung. Das mag verschiedene Gründe haben, wie zum Beispiel eine Selektions-Bias, so dass vermehrt Männer mit unklaren Lebertumoren in dem tertiären Leberzentrum des UKE vorgestellt wurden, während bei Frauen eher die typische Diagnose des HCA gestellt wurde, die entsprechend ambulant auswärtig weiter betreut wurde. Zudem mögen auch verschiedene Ernährungsgewohnheiten eine Rolle spielen.

Ein weiterer Grund mag das Gesundheitssystem in Frankreich sein. Beim Altersdurchschnitt wurde festgestellt, dass die Männer im Schnitt bereits 62,0 Jahre alt waren. In Deutschland geht man in diesem Alter häufiger zum Arzt, da es einige Präventionsuntersuchungen gibt, genauso wie den jährlichen Check-up beim Hausarzt, bei dem routinemäßig die Transaminasen mitbestimmt werden. In Frankreich nimmt der Allgemeinarzt kein Blut ab und führt keine Diagnostik wie z.B. Ultraschall durch, sodass der Patient immer zu Spezialisten überwiesen werden muss (Butters 2002). Dadurch werden möglicherweise Patienten übersehen, die in Deutschland bei den Routineuntersuchungen auffallen.

4.3.2 BMI:

Beim Body-Mass-Index wurde gesehen, dass alle Gruppen im übergewichtigen Bereich liegen außer der β -Catenin Patientin und der Gruppe mit HCA und HCC. Die β -Catenin Patientin ist als Einzelperson nicht repräsentativ. Bei den Übergangsfällen ist das niedrigere Körpergewicht erklärbar durch das unterschiedliche Patientenkollektiv mit älteren, männlichen und multimorbiden Patienten. Zudem kann die maligne Transformation ebenfalls zu einer Gewichtsabnahme führen. Ein vermindertes Gewicht scheint mit der malignen Transformation zu korrelieren.

4.3.3 Einnahme oraler Kontrazeptiva:

Bei 57% der Patientinnen ist die Pilleneinnahme bekannt, bei 11% gab es keine Pilleneinnahme und bei den restlichen 32% fehlen die Daten. Beim Blick auf die Gruppenverteilung fällt auf, dass Frauen in allen Gruppen orale Kontrazeptiva eingenommen haben außer in der Übergangsform. Somit scheint die Pille kein Risikofaktor für einen spezifischen Adenomsubtyp zu sein, sondern nur ein genereller Risikofaktor für ein Adenom. Im Übergangssubtyp fehlen Daten, d.h. es ist unklar, ob und wieviele Patientinnen orale Kontrazeptiva eingenommen haben.

4.3.4 Diagnosestellung:

Bei der Diagnosestellung wurde gesehen, dass die meisten Adenome nur bei jungen Patienten mit einem Durchschnittsalter von 36,93 Jahren bei Symptomen mittels eines Ultraschalls oder durch Zufall entdeckt wurden. Bei den älteren Patienten im Alter von 62,0 Jahren wurden mehr Fälle gesehen, bei denen das Adenom im Rahmen einer Routineuntersuchung festgestellt wurde. Dies lässt den Schluss zu, dass, wenn jüngere Menschen häufiger eine Generaluntersuchung hätten, man sicherlich mehr Adenome entdecken würde.

4.3.5 Adenomgröße:

Die Größe der Tumore zeigte sich in allen Gruppen ähnlich verteilt, 10 Tumoren waren kleiner als 5cm, 14 Tumoren zwischen 5 und 10cm und 9 Tumoren größer als 10cm. Drei der acht Tumoren aus der Gruppe „HCA>HCC“ waren kleiner als 5 cm. Die Größe eines Tumors lässt also keine Schlüsse auf seine Dignität zu. Dies widerspricht den Operationskriterien von Bioulac-Sage et al. 2009, die erst ab einer Tumorgöße von 5cm Durchmesser eine Operationsindikation sehen. Hier unterscheidet sich diese Studie von anderen, wie z.B. Stoot et al. 2010, die bei 1635 Adenomfällen nur drei Fälle einer malignen Transformation gesehen haben, die kleiner als 5 cm waren (bei ihnen entsprach das 4,4% aller Fälle einer malignen Transformation oder 0,18% aller Fälle).

4.3.6 Tumoranzahl:

Die meisten Tumoren waren singulär. Das macht sie im Ultraschall schwierig zu entdecken, vor allem wenn sie kleiner als 5 cm groß sind. Das sind in dieser Studie 16% der Tumoren. Dies lässt die Annahme zu, dass viele Tumoren übersehen werden könnten und bei der Stanzbiopsie vielleicht eine Biopsie aus einem gutartigen Knoten genommen

wird, während der bösartige Knoten mit dem Adenom im Übergangsstadium verborgen bleibt. Generell ist auch die Durchführung einer Leberstanzbiopsie umso schwieriger, je kleiner der Tumorknoten ist. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, ist die Erkennung des Adenoms im Ultraschall schwierig, da sie durch ihre individuellen Eigenschaften (wie z.B. Fettgehalt oder Einblutungen) sehr unterschiedlich aussehen (van den Esschert et al. 2010). Auch im CT grenzen sie sich nicht zu hundert Prozent vom HCC ab, Hoffmann et al. geben an, „dass CT gesteuerte Biopsien [eines Leberherdes] eine Treffsicherheit von über 90 Prozent haben und eine Sensitivität von 91% bei einer Spezifität von 100% besitzen“. Auch für das MRT ergeben sich sehr unterschiedliche Bilder von hyper- bis zu isointens in T2- gewichteten Bildern (van den Esschert et al. 2010).

4.3.7 Tumorlokalisation:

Auffällig war, dass vor allem in der rechten Leber oder in der linkslateralen Leber Tumorgewebe reseziert wurde. Dies mag vor allem daran liegen, dass man bevorzugt an Stellen reseziert, wo man einen guten Zugriff hat und wiederum Tumoren, die z.B. in Segment I liegen, vermehrt beobachtet werden, als sie primär zu resezieren.

4.3.8 Labor:

Das Labor war mit Ausnahme des CRP nicht aussagekräftig. Bei Verdacht auf ein Adenom lässt ein stark erhöhtes CRP an den inflammatorischen Adenomsubtyp denken, was jedoch nicht spezifisch ist. Ohne den spezifischen Verdacht auf ein Adenom ist ein erhöhtes CRP mit erhöhten Transaminasen bei einer Oberbauchsymptomatik noch unspezifischer, da es sich z.B. auch um eine Cholezystolithiasis, eine Hepatitis oder eine Pankreatitis handeln könnte. Beim einem erniedrigten Hämoglobin-Wert sollte berücksichtigt werden, dass es mehr Frauen in der Studie gab und viele Frauen mit einem erniedrigten Hämoglobin beschwerdefrei leben bzw. es natürliche Schwankungen z.B. durch die Menstruation gibt.

4.3.9 Tumormarker:

Die Tumormarker waren bei keinem einzigen reinen Adenom erhöht, nur bei den Übergangsformen vereinzelt. Dies entspricht den Erwartungen, da Tumormarker bei gutartigen Läsionen nicht erhöht sein sollten, wie es auch Assy et al. 2009 berichten: „No tumor markers were detected in patients with benign lesions.“

4.3.10 Operationen:

Die Resektionsrate im UKE betrug 91,3% und deckt sich mit den Literaturangaben von Stoot et. al 2010. Letztlich ist aber unklar, wie hoch die Resektionsrate in der Gesamtbevölkerung tatsächlich anzusetzen ist. Es ist davon auszugehen, dass einige typische Adenome nicht zur chirurgischen Evaluation vorgestellt werden.

4.3.11 Komplikationen:

Terkivatan et al. 2001 geben 27% für die Morbidität und 3 % für die Mortalität als Komplikationen nach Adenomresektion an. In Hamburg gab es 30,9% Morbidität (13 von 42 operierten Patienten) und 2,3% Mortalität (1 von 42 operierten Patienten) zum Vergleich. Ein direkter Vergleich ist generell schwierig, da im Schrifttum die Komplikationen nicht einheitlich klassifiziert werden. Die Komplikationen dieser Studie wurden nach Clavien-Dindo bewertet, und dabei muss erwähnt werden, dass von den 13 Patienten 8 Patienten lediglich Komplikationen 1. oder 2. Grades erlitten. Es ergibt sich dann ein Anteil von 11,92% (5 von 42) schweren Komplikationen.

Folgende Tabelle ergibt eine Übersicht über die schweren Komplikationen:

Patienten-Nummer	Komplikationseinteilung nach Clavien	Genauere Komplikation
9	IVa	Operationsbedürftige Blutung, Pneumozystis carinii Pneumonie, akutes dialysepflichtiges Nierenversagen, beidseitige punktionswürdige Pleuraergüsse, Critical Illness Polyneuropathie, Anlage einer Tracheotomie, Galleleck an der Anastomose.
45	V	Transplantation bei Äthyltoxischer Leberzirrhose mit HCC (in der Histologie Adenom Anteile), mit initialem Transplantversagen, Retransplantation und Multiorganversagen.
49	IVa	Re-Myokardinfarkt bei vorbestehender koronarer Herzkrankheit.
15	IIIa	Postoperatives Galleleck, ERCP mit Stenteinlage.
31	IIIa	Postoperativer Pneumothorax links, Pleuraerguss rechts.

Tabelle 11: Übersicht über schwere Komplikationen

4.3.12 Rekurrenzen/Rezidive:

Insgesamt gab es 4 Rekurrenzen in dieser Studie, das entspricht 8,7% und davon 2 Rezidive, die maligne transformiert waren, wobei die β -Catenin positive Patientin kein Rezidiv bekam. Vielleicht liegt es daran, dass der Beobachtungszeitraum nicht lang genug war, dennoch kann die Hypothese aufgestellt werden, dass die anderen Adenomsotypen ebenfalls gefährlich sind, da sie ebenfalls zu einer malignen Transformation führen können.

52,2% der Patienten nahmen eine Follow-Up Untersuchung wahr, warum kann letztlich nur spekuliert werden. Eine allgemeine Tumornachsorge für alle Leberadenompatienten erscheint aber prinzipiell erstrebenswert, dies auch im Hinblick auf die nicht auszuschließende Disposition als Präkanzerose.

Auf der anderen Seite fällt auch eine hohe Anzahl an Fehldiagnosen auf, Patienten wurden mit der Verdachtsdiagnose HCC oder mit der Verdachtsdiagnose HCA beim Übergangstyp eingeliefert. Das sind insgesamt 8 Fälle, bei 46 Patienten hatte man sich folglich bei jedem Sechsten getäuscht und diese Fehldiagnose war nur durch eine Operation mit der nachfolgenden, gründlichen histologischen Aufarbeitung des Gewebes sicher zu beheben.

Im Vergleich dazu war die Diagnose bei Hilal et al. 2011 bei 11 von 46 Patienten präoperativ unklar, bei einer Person von diesen 11 stellte sich nach der OP ein HCC in der Histologie heraus. Wie in der Einleitung erwähnt, liegt das Risiko, sich im Vorhinein zu täuschen, d.h. bei Verdacht auf HCA ein hochdifferenziertes HCC zu haben in Studien von Deneve et al. 2009, Cho et al. 2008 und Zucman-Rossi et al. 2006 um die 5%. Im Hamburger Kollektiv sind es mit 8 von 46 Patienten 16,67% Risiko einer Fehldiagnose.

Mit einer einfachen Stanzbiopsie kann man eine Fehldiagnose nicht sicher ausschließen, sondern auch das Gegenteil bewirken: eine Diagnose wie z.B. Adenom sichern, obwohl am atypischen Gewebe vorbeigestanzt wurde. Nicht einmal das MRT kann an dieser Stelle weiterhelfen, da es winzige Übergangsherde nicht aufspüren kann.

Von den 4 Rekurrenzen waren zwei Adenome und zwei HCC's, das entspricht 4,3% maligner Transformation im Vergleich zu 2% maligner Transformation bei Foster und Berman 1994, 10% maligner Transformation bei Barthelmes und Tait 2005 und 4,2% bei Stoot et al. 2010.

Stoot et al. 2010 postulierten auch, dass die meisten malignen Transformationen zeitgleich mit dem Adenom entdeckt wurden und nicht im Verlauf auftraten. Sie unterscheiden damit also auch maligne Transformation von Rezidiv. Wenn das in dieser Studie ebenso betrachtet worden wäre, wäre die komplette Gruppe Adenom/Karzinom ebenfalls maligne transformiert, somit gäbe es in Hamburg 10 statt 2 Fälle, das entspräche 21,7% maligner Transformation!

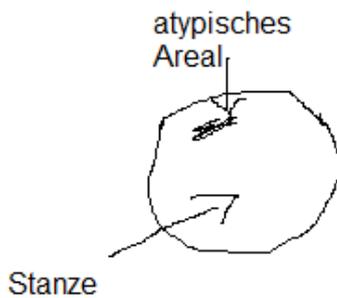


Abbildung 18: Stanzbiopsie

4.4 Schlussfolgerung und Ausblick:

Die histologische Subklassifikation von Bioulac-Sage aus Bordeaux war primär am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durchführbar. Insgesamt muss jedoch nach dieser Studie die klinische Bedeutung der histologischen Subklassifikation der Leberzelladenome in Frage gestellt werden:

- 1.) Die immunhistochemischen Färbungen waren nicht eindeutig, oftmals korrelierte das SAA mit dem LFABP und die Einteilung in inflammatorischen Subtyp war nicht eindeutig.
- 2.) Es gab bei allen Adenomsotypen (außer den genetisch fettreichen, den inflammatorischen und dem β -Catenin positiven Fall) Rekurrenzen, bei den sekundär fettreichen Adenomen eine gutartige Rekurrenz, d.h. ein erneutes Adenom, bei den sonstigen Adenomen eine gutartige und eine bösartige Rekurrenz in Form eines HCC, und bei den Übergangsformen eine bösartige in Form von HCC.
- 3.) Der Vorteil der histologischen Subklassifikation liegt in der Vermeidung von gegebenenfalls nicht indizierten Operationen, falls eine maligne Entartung sicher mittels Biopsie ausgeschlossen werden könnte. Dies gilt umso mehr, da unter den vier Fällen, bei

denen nur eine Stanzbiopsie erfolgte, bereits ein Patient dabei ist, der ein Jahr später an einem HCC verstarb. Bei ihm wird ein sog. sampling error vermutet, d.h. es wurde am bereits atypisch veränderten Gewebe vorbeigestanzt (siehe Abbildung 19). Den Daten dieser Studie zufolge sollte unter Abwägung der Risiken eine radikale, chirurgische Sanierung erfolgen, aus der eine repräsentative Histologie gewonnen werden kann und die späte maligne Entartung im verbliebenen Adenom verhindert werden kann. In diesem Zusammenhang muss natürlich auch an das Gegenteil gedacht werden: unnötige Operationen. Bereits im Jahr 2001 beschrieben Terkivatan et al. das Dilemma, welches zwischen dem Übersehen eines Tumors im prämaligen Stadium und der Resektion eines ungefährlichen Adenoms besteht.

Auch andere Studien zeigen Patienten, bei denen man von einem gutartigen Befund ausging, der sich jedoch im Verlauf änderte. Kogure et al 2009 berichteten von einem Patienten, dessen CT Befund zunächst einen fetthaltigen, also gutartigen Tumor zeigte, der sich aber im Verlauf änderte, sodass sie von einem HCC ausgingen. Nach der Resektion konnte man glücklicherweise ein Adenom bestätigen. Diese Fälle zeigen, dass ohne Resektion nie genau bestimmt werden kann, um welche Dignität es sich handelt.

Um dem vom Terkivatan et al. 2001 beschriebenen Dilemma wenigstens zum Teil Rechnung zu tragen, ist es daher erforderlich, eine chirurgische Sanierung in jedem Fall anzustreben.

4.) Zusammenfassend kann man festhalten, dass die Klassifikation für den klinischen Alltag nur sinnvoll wäre, wenn sie etwas über die Prognose des Patienten aussagen könnte. Das kann in dieser Studie anhand der gewonnenen Daten nicht getan werden: an diesem Kollektiv können die Ergebnisse der Bordeaux Klassifikation nicht nachvollzogen werden. Hier muss allerdings auf einige Unterschiede und somit eventuelle, methodische Fehler hingewiesen werden:

- In Hamburg gab es ein eigenes Patientenkollektiv: Zwar haben die Hamburger Patienten ebenso wenig Erbkrankheiten wie Glykogenose oder Mody Diabetes wie bei Bioulac-Sage et al. 2009, aber sie hatten z.B. einen höheren BMI und ernährten sich anders.

- Die molekulargenetische Untersuchung fehlt in dieser Studie und ist aktuell noch Gegenstand weiterer Untersuchungen: Gerade der β -Catenin Marker ist schwierig zu

bestimmen und zu sehen und eine molekulare Untersuchung hätte das vielleicht erleichtert. Zusätzlich muss darauf hingewiesen werden, dass zuerst alle vorhandenen Blöcke angeschaut wurden und dann die besten, (bei denen man sowohl den Tumor als auch das umliegende normale Lebergewebe gut sehen konnte) für die Anfertigung von Schnitten und die Durchführung der immunhistochemischen Färbungen ausgewählt wurden. Somit kann es sein, dass in einem anderen Block des Tumors das β -Catenin vielleicht positiv gewesen wäre und in den Fällen, in denen es eine Rekurrenz gab, diese vielleicht molekulargenetisch β -Catenin positiv gewesen wären. Vielleicht hatte die Studie um Bioulac-Sage auch zufällig ein großes Kollektiv an β -Catenin mutierten Tumoren, da auch in den USA eine Gruppe kürzlich 41 Adenome untersucht hat und ebenfalls keinen β -Catenin mutierten Fall gefunden hat (Gru A et al. 2011).

Im Gegenzug zu den β -Catenin mutierten Tumoren wurde das Augenmerk dieser Studie auf die Übergangstypen gerichtet, die Adenom- und Karzinomanteile enthalten. Dort wird der Schlüssel für die Zukunft der Adenomtherapie vermutet, da an dieser Stelle im Genom eine Adenom- Karzinom Sequenz ähnlich wie beim Kolon Karzinom liegen könnte.

Tao postulierte bereits 1991, dass Zellatypien bzw. Dysplasien das fehlende Glied zwischen Adenom und Karzinom sind. Zudem stellte er fest, dass Leberzelladenome nicht gefährlich seien, da sie reversibel seien, sofern man die pathogenen Agenzien, wie z.B. die Pille weglasse. Adenome, die bereits Zellatypien aufwiesen, seien im Gegenzug gefährlicher, da diese Atypien irreversibel seien und so Mutationspotential zum HCC aufwiesen. Dieser Ansatz kann aus dem Hamburger Kollektiv gut nachvollzogen werden, da die atypischen Adenome ebenfalls maligne transformiert sind.

Die Adenom-Karzinom-Sequenz gilt es in der Zukunft zu erforschen, um herauszufinden, inwieweit das Adenom bei Erstdiagnose bereits mutiert ist. Lang et Broelsch 2007 behaupten, dass die Adenom-Karzinom-Sequenz bei Leberzelladenomen nicht existiert und dass analog dazu Adenome „...bei prämenopausalen Frauen, Ausschluss sonstiger Risikofaktoren wie Zirrhose, Hepatitis, Stoffwechselerkrankungen oder genetische[n] Erkrankungen...keine Vorläuferläsion des HCC darstellt...“ (Lang et Broelsch 2007) und somit nicht primär reseziert werden müssen. Sie beziehen sich auf molekularbiologische Untersuchungen von Lehmann et al. 2005, die Adenomgewebe, FNH-Gewebe, HCC-Gewebe und normales Lebergewebe im Vergleich auf 9 unterschiedliche Gene hin untersuchten und dabei feststellten, dass das Leberzelladenomgewebe mehr molekulargenetische Verwandtschaft mit dem normalen Lebergewebe als mit dem HCC

aufweist. Tannapfel et al. 2002 haben Adenome auf Mutationen im INK4a-ARF-Genlocus untersucht, die zu Lebertumoren führen, da sie für Proteine der Zellzyklusregulation kodieren. Dabei konnten sie jedoch nur uneinheitliche Exonmutationen nachweisen, ein eindeutiger Nachweis in allen Adenomen dieser veränderten Gensequenz misslang.

Gerade auch die kleineren Tumoren können gefährlich sein und bereits im Übergang zum HCC stehen. Außerdem hat man gesehen, dass Männer gefährdeter für einen Übergangstumor sowie eine bösartige Rekurrenz sind. Von daher sollte man Patienten männlichen Geschlechts immer operieren und eine enge Nachsorge anstreben. Bei weiblichen Patientinnen unter 50 Jahren sollte man den Tumor zunächst über einen Zeitraum von einem Jahr alle drei bis 6 Monate mittels MRT kontrollieren und bei Größenzunahme entfernen, bei älteren Patientinnen über 50 Jahren wird nach dieser Studie eine analoge Therapie zu Patienten männlichen Geschlechts empfohlen, d.h. primär die Operation. Nur durch eine Operation kann ausgeschlossen werden, etwas zu übersehen. Flemming et al. 2006 sind anderer Meinung, da sie behaupten, man könne auf eine operative Entfernung des Tumors bei sicherer molekularpathologischer Charakterisierung aus onkologischen Gründen verzichten.

Bereits 1994 haben Foster und Berman gesagt: „Einzelne gutartige Adenome sollten reseziert werden, wann immer es möglich ist.“ Fünf Jahre später kamen Nufer et al. 1999 zu dem Schluss, dass Adenome immer operiert werden sollten wegen des Transformations- und Blutungsrisiko. Sie haben dabei noch einmal das OP-Risiko betont, dass bei einem elektiven Eingriff die Letalität 5% betrage, im Gegenzug zur Notoperation (z.B. beim rupturierten Adenom), bei dem die Mortalität bei 5-7% liege. Heutzutage werden immer mehr Operationen laparoskopisch durchgeführt, dennoch sagen Hilal et al. noch 2011, dass die OP-Indikationen für gutartige Lebertumoren nicht geändert werden sollten.

Abschließend soll betont werden, dass das Adenom mehr als einem Fünftel maligner Transformationsrate ein nicht zu unterschätzender Tumor ist, und die Indikation zur Operation entsprechend großzügig gestellt werden sollte. Die Subklassifikation aus Bordeaux wird in diesem Zusammenhang als ungeeignet betrachtet, zumal auch durch sie der sog. *sampling error* v.a. bei β -Catenin mutierten Zellen in Adenomen nicht ausgeschlossen werden kann.

Von Bedeutung ist auch die Wertigkeit einer differenzierten Hepatopathologie. Im Hamburger Kollektiv kam es nach erneuter histopathologischer Aufarbeitung so in 8 von 46 Fällen zu einer Änderung oder Nuancierung der Diagnose. Dies lässt eine Zweitbegutachtung von zumindest zweifelhaften Gewebeproben durch einen Referenz-Pathologen sinnvoll erscheinen.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser retrospektiven Untersuchung war es, zum einen die immunhistochemischen Klassifikation aus Bordeaux auf ihre Praktikabilität zu überprüfen, zum anderen anhand dieser die Indikationen für die chirurgische Therapie von Leberzelladenomen kritisch zu evaluieren.

Zu diesem Zweck wurden die resezierten Operationspräparate und Stanzbiopsien der Adenompatienten, die von 1996 bis 2010 im Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf behandelt worden waren, nachträglich immunhistochemisch analysiert. Die Auswahl der verwendeten immunhistochemischen Marker richtete sich nach der Bordeaux-Klassifikation von Bioulac-Sage aus dem Jahr 2007. Insgesamt wurden 46 Patienten untersucht, von denen 42 Patienten operiert und 4 Patienten biopsiert wurden. Von diesen Patienten wurden jeweils Färbungen auf β -Catenin, Glutaminsynthetase, Glypican-3, LFABP, SAA, Ki67-Antigen (=Mib-1) und CK-7 durchgeführt. Parallel dazu wurden statistische Daten, sowohl präoperative wie Alter und BMI, als auch postoperative wie z.B. Komplikationen und Verlauf mit der Frage nach Rezidiven und Rekurrenzen erhoben.

Auffällig war der niedrige Anteil der β -Catenin mutierten Tumoren (in dieser Studie nur 1 Patientin) und der hohe Anteil an maligner Transformation von 21,7%. In der Studie von Bioulac-Sage et al. aus dem Jahr 2007 wurde behauptet, dass die maligne Transformation von Adenomen mit der β -Catenin Mutation korreliert, d.h. dass alle Tumoren, die in dieser Studie HCC Anteile hatten, oder später im Verlauf ein HCC entwickelt haben, β -Catenin mutiert waren. In dieser Studie wurde nachgewiesen, dass auch Tumoren ohne immunhistochemisch nachweisbare, mutierten β -Catenin maligne transformieren können. Die anderen Marker, die Bioulac-Sage für ihre Subtypisierung verwendeten, erwiesen sich jedoch als durchaus geeignet und nachvollziehbar für eine morphologische Klassifikation der Leberzelladenome.

Zusammenfassend kann somit gesagt werden, dass die immunhistochemische Charakterisierung zur Hilfe für die histologische Subtypisierung geeignet ist, jedoch keine Hilfe für die Erstellung einer chirurgischen Indikation ist. Dies hat zwei Gründe:

1. Selbst wenn man eine exakte Diskriminierung erreichen könnte, gäbe es immer noch den sampling error.
2. Aufgrund des hohen Transformationsrisikos sollten HCA generell operiert werden, und nur bei wenigen typischen Fällen verlaufskontrolliert werden.

Die Biopsie kann vielleicht in Grenzfällen hilfreich sein, um bei multimorbiden Patienten eine zusätzliche Entscheidungshilfe zu erhalten. Auch bei diesen muss man sich jedoch stets des Wissens um den sampling error bewusst sein. Hiermit bleibt bei kritischer Bewertung der histopathologischen Aufarbeitung des Gewebes und unter Berücksichtigung der Verläufe bei den Patienten die dringende Empfehlung, Patienten mit dem V.a. ein Adenom prinzipiell zu operieren.

6 Abkürzungsverzeichnis

α	Alpha
AFP	Alpha-Feto-Protein
ALAT	Alanin Transaminase
Aqua dest	destilliertes Wasser
ASAT	Aspartat Transaminase
β	Beta
BMI	Body-Mass-Index
CA 19-9	Carbohydrate-Antigen 19-9
CK-7	Zytokeratin 7
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
d.h.	das heißt
FABP1	liver fatty acid binding protein 1
FNH	Fokal noduläre Hyperplasie
GS	Glutaminsynthetase
HCA	Hepatozelluläres Adenom
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HE	Hämatoxylin-Eosin
HNF1 α	Hepatozyten nukleärer Faktor 1 α
INR	International Normalized Ratio
kU	Kilo Units = Kilo Einheiten
Mib3	Mindbomb Antibody 3
MODY	Maturity-onset Diabetes of the Young
MRT	Magnetresonanztomographie
OP	Operation
PTT	Prothrombinzeit
QRT-PCR	quantitative Reverse Transkriptase - Polymerase Kettenreaktion
SAA2	Serum-Amyloid A2
TCF1	Transkriptionsfaktor 1
u.U.	unter Umständen
V.a.	Verdacht auf
Wnt	Wingless type

z.B. zum Beispiel
Z.n. Zustand nach

7 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: TCF1 Mutationen in der HCA Tumorgenese (Bluteau et al. 2002)

Abbildung 2: Wnt-Signalweg.

Abbildung 3: E03-07218 Patient Nr. 28, LFABP 2,5fache Vergrößerung

Abbildung 4: E97-22994 Patient Nr. 6 β -Catenin Färbung 10-fache Vergrößerung

Abbildung 5: Geschlechterverteilung nach Adenomsubtyp

Abbildung 6: Altersverteilung nach Adenomsubtyp

Abbildung 7: BMI nach Adenomsubtyp

Abbildung 8: Einnahme oraler Kontrazeptiva nach Adenomsubtyp

Abbildung 9: Diagnosestellung nach Adenomsubtyp

Abbildung 10: Tumorgröße nach Adenomsubtyp

Abbildung 11: Adenomanzahl nach Adenomsubtyp

Abbildung 12: Tumorlokalisation nach Lebersegmenten

Abbildung 13: Anatomische Lebersegmente nach Couinaud von URL:

<http://www.radiologyassistant.nl/en/4375bb8dc241d> [12.05.2012 14:06
Uhr]

Abbildung 14: OP-Komplikationen nach Clavien-Dindo

Abbildung 15: Comorbiditäten nach Adenomsubtyp

Abbildung 16: Comorbiditäten II nach Adenomsubtyp

Abbildung 17: Vergleich Hamburg / Bordeaux

Abbildung 18: Stanzbiopsie

Tabelle 1: Matrix-Diagnose

Tabelle 2: Histologische und klinische Kriterien der Adenomsubtypen

Tabelle 3: Übersicht über die Antikörper

Tabelle 4: Genetisch fettreiche Adenome

Tabelle 5: Sekundär fettreiche Adenome

Tabelle 6: Inflammatorische Adenome

Tabelle 7: β -Catenin positive Adenome

Tabelle 8: Sonstige Adenome

Tabelle 9: Adenom/Karzinom

Tabelle 10: Übersichtstabelle der Ergebnisse

Tabelle 11: Übersicht über schwere Komplikationen

8 Literaturverzeichnis

Abu Hilal M, Di Fabio F, Teng MJ, Godfrey DA, Primrose JN, Pearce NW

Surgical Management of Benign and Indeterminate Hepatic Lesions in the Era of Laparoscopic Liver Surgery.

Dig Surg 2011;28:232-236

Assy N, Nasser G, Djibre A, Beniashvili Z, Elias S, Zidan J.

Characteristics of common solid liver lesions and recommendations for diagnostic workup.

World J Gastroenterology 2009; 15 (26): 3217-3227.

Barthelme L, S. Tait I.

Liver cell adenoma and liver cell adenomatosis.

HPB, 2005; 7; 186-196.

Baumhueter S, Mendel DB, Conley PB, Kuo CJ, Turk C, Graves MK, Edwards CA, Coutois G, Crabtree GR.

HNF-1 shares three sequence motifs with the POU domain proteins and is identical to LF-B1 and APF.

Genes Dev. 1990 Mar;4(3):372-9.

Bioulac-Sage P, Rebouissou S, Thomas C, Blanc J-F, Saric J, Sa Cunha A, Rullier A, Cubel G, Couchy G, Imbeaud S, Balabaud C, Zucman-Rossi J.

Hepatocellular Adenoma Subtype Classification Using Molecular Markers and Immunohistochemistry

J Hepatology 2007;46:740-748

Bioulac-Sage P, Laumonier H, Couchy G, Le Bail B, Sa Cunha A, Rullier A, Laurent C, Blanc J-F, Cubel G, Trillaud H, Zucman-Rossi J, Balabaud C, Saric J.

Hepatocellular Adenoma Management and Phenotype Classification: the Bordeaux Experience.

J Hepatology 2009; Volume 50; 2; 481-489.

Bluteau O, Jeannot E, Bioulac-Sage P, Marqués JM, Blanc JF, Bui H, Beaudoin JC, Franco D, Balabaud C, Laurent-Puig P, Zucman-Rossi J.

Bi-allelic inactivation of TCF1 in hepatic adenomas.

Nat Genet. 2002 Oct;32(2):312-5. Epub 2002 Sep 23.

Böcker W, Denk H, Heitz P.

Gutartige (benigne) epitheliale Tumoren

In: Pathologie, 3. Auflage, Seite 790, Urban & Fischer 2004.

Buell JF, Tranchart H, Cannon R, Dagher I.

Management of benign hepatic tumors.

Surg Clin North Am. 2010 Aug;90(4):719-35.

Cho SW, Marsh JW, Steel J, Holloway SE, Heckman JT, Ochoa ER, Geller DA, Gamblin TC.

Surgical management of hepatocellular adenoma: Take it or leave it?

Ann Surg Oncol. 2008;15: 2795-803

Clavien PA, Barkun J, de Oliveira ML, Vauthey JN, Dindo D, Schulick RD, de Santibanes E, Pekolj J, Slankamenac K, Bassi C, Graf R, Volanthen R, Padbury R, Cameron JL, Makuuchi M.

The Clavien-Dindo classification of surgical complications: five-year experience.

Ann Surg. 2009 Aug;250(2):187-96.

Couinaud C.

Lobes et segments hépatiques: notes sur l'architecture anatomique et chirurgicale de foie.

Presse Med. 1954;62:709-712.

Deneve JL, Pawlik TM, Cunningham S, Clary B, Reddy S, Scoggins CR, Martin RC, D'Angelica M, Staley CA, Choti MA, Jarnagin WR, Schulick RD, Kooby DA.

Liver cell adenoma: A Multicenter analysis of risk factors for rupture and malignancy.

Ann Surg Oncol. 2009;16:640-648.

Edmondson HA.

Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts.

1958 In: Atlas of tumor pathology. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology.

Flemming P, Lehmann U, Steinemann D, Kreipe H, Wilkens L.

Leberzelladenom- Entartungspotenzial und Abgrenzung vom hepatozellulären Karzinom.

Pathologe 2006;27:238-243.

Foster JH, Berman MM.

The malignant transformation of liver cell adenomas.

Arch. Surg. 1994 Jul;129 (7):712-7.

Giusti S, Donati F, Paolicchi A, Bartolozzi C.

Hepatocellular adenoma: imaging findings and pathological correlation.

Dig Liver Dis 2005; 37: 200-205

Grazioli L, Federle MP, Brancatelli G, Ichikawa T, Olivetti L, Blachar A.

Hepatic adenomas: imaging and pathologic findings.

Radiographics 2001; 21: 877-892

Gru A, Pai RK, Brunt EM

Clinicopathologic and molecular characterization of hepatocellular adenomas and focal nodular hyperplasias.

Modern Pathology. In press

Hung CH, Changchien CS, Lu SN, Eng HL, Wang JH, Lee CM, Hsu CC, Tung HD.

Sonographic features of hepatic adenomas with pathologic correlation.

Abdom Imaging. 2001 Sep-Oct;26(5):500-6.

Jeannot E, Pogribny IP, Beland FA, Rusyn I.

Chronic administration of ethanol leads to an increased incidence of hepatocellular adenoma by promoting H-ras-mutated cells.

Cancer Lett. 2011 Feb 28;301(2):161-7.

Kerlin P, Davis GL, McGill DB, Weiland LH, Adson MA, Sheedy PF 2nd.

Hepatic adenoma and focal nodular hyperplasia: clinical, pathologic, and radiologic features.

Gastroenterology 1983; 84: 994-1002

Kogure T, Ueno Y, Sekiguchi S, Ishida K, Igarashi T, Wakui Y, Iwasaki T, Shimosegawa

T. Liver cell adenoma showing sequential alteration of radiological findings suggestive of well- differentiated hepatocellular carcinoma.

World J of Gastroenterology 2009; 15 (10):1267-1272.

Lang H, Broelsch CE.

Resektion und Transplantation bei Lebertumoren.

Internist 2007;48:30-39.

Laumonier H, Bioulac-Sage P, Laurent C, Zucman-Rossi J, Balabaud C, Trillaud H.

Hepatocellular adenomas: magnetic resonance imaging features as a function of molecular pathological classification.

Hepatology 2008; 48: 808–818.

Laurent-Puig P, Zucman-Rossi J.

Genetics of hepatocellular tumors.

Oncogene 2006; 25: 3778-3786

Leese T, Farges O, Bismuth H.

Liver cell adenomas. A 12-year surgical experience from a specialist hepato-biliary unit.

Ann Surg.1988 Nov;208(5):558-64.

Lehmann U, Berg-Ribbe I, Wingen LU, Brakensiek K, Becker T, Klempnauer J,

Schlegelberger B, Kreipe H, Flemming P.

Distinct Methylation Patterns of Benign and Malignant Liver Tumors Revealed by Quantitative Methylation Profiling.

Cin Cancer Res 2005;11:3654-3660.

Luka N.

On the clinical aspects and therapy of hepatocellular adenoma.

Helvetica Chirurgica Acta. 1964; 31: 470-92

Longerich T, Schirmacher P.

Neue Entwicklungen in der Biopsiediagnostik früher und unklarer Lebertumoren.

Z Gastroenterologie 2009; 47; 30-36.

Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, Kinzler KW.

Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC.

Science 1997 Mar 21; 275 (5307):1787-90

Nufer M, Stuckmann G, Decurtins M.

Benigne Tumoren der Leber: Diagnostik und Therapie- eine Übersicht

Schweiz Med Wochenschr 1999;129:1257-64

Paradis V, Benzekri A, Dargère D, Bièche I, Laurendeau I, Vilgrain V, Belghiti J, Vidaud M, Degott C, Bedossa P.

Telangiectatic focal nodular hyperplasia: a variant of hepatocellular adenoma.

Gastroenterology. 2004 May;126(5):1323-9.

Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P.

Global cancer statistics, 2002.

CA Cancer J Clin. 2005;55:74–108.

Sa Cunha A, Blanc JF, Lazaro E, Mellottee L, Le Bail B, Zucman-Rossi J, Balabaud C, Bioulac-Sage P.

Inflammatory syndrome with liver adenomatosis: the beneficial effects of surgical management.

Gut. 2007 Feb; 56(2):307-9.

Schirmacher P, Longerich T.

Hochdifferenzierte Lebertumoren.

Der Pathologe 2009; 30:200-206.

Stoot JH, Coelen RJ, De Jong MC, Dejong CH.

Malignant transformation of hepatocellular adenomas into hepatocellular carcinomas: a systematic review including more than 1600 adenoma cases.

HPB (Oxford). 2010 Oct;12(8):509-22.

Tannapfel A, Busse C, Geißler F, Witzigmann H, Hauss J, Wittekind C.

IKN4a-ARF alterations in liver cell adenoma.

Gut 2002; 51: 253-258.

Tao LC.

Oral contraceptive-associated liver cell adenoma and hepatocellular carcinoma.

Cytomorphology and mechanism of malignant transformation.

Cancer. 1991 Jul 15;68(2):341-7.

Terkivatan T, de Wilt JH, de Man RA, van Rjin RR, Zondervan PE, Tilanus HW, Ijzermans JNM.

Indications and Long-Term Outcome of Treatment for Benign Hepatic Tumors: a critical appraisal.

Arch Surg. 2001Sep;136(9):1033-8.

van Aalten SM, Verheij J, Terkivatan T, Dwarkasing RS, de Man RA; Ijzermans JN.

Validation of a liver adenoma classification system in a tertiary referral centre:

Implications for clinical practice.

J Hepatol (2011), doi:10.1016/j.jhep.2010.10.030

van den Esschert JW, van Gulik TM, Phoa SS.

Imaging Modalities for Focal Nodular Hyperplasia and Hepatocellular Adenoma

Dig Surg 2010;27:46–55

Walther Z, Jain D.

Molecular Pathology of hepatic neoplasms: Classification and clinical significance.

Patholog Res Int. 2011 Apr 7;2011:403929.

Wermke W.

Echoarmer Leberherd

In: Sonographische Differenzialdiagnose, Leberkrankheiten, Lehrbuch und systematischer Atlas, 2006, Deutscher Ärzte Verlag; Seite 229

Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Furuta H, Vaxillaire M, Southam L, Cox RD, Lathrop GM, Boriraj VV, Chen X, Cox NJ, Oda Y, Yano H, Le Beau MM, Yamada S, Nishigori H, Takeda J, Fajans SS, Hattersley AT, Iwasaki N, Hansen T, Pedersen O, Polonsky KS, Bell GI, et al.

Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3)

Nature 1996 Dec 5;384(6608):455-8.

Zucmann-Rossi J, Jeannot E, Tran Van Nhieu J, Scoazec J-Y, Guettier C, Rebouissou S, Bacq Y, Leteurtre E, Paradis V, Michalak S, Wendum D, Chiche L, Fabre M, Mellottee L, Laurent C, Partensky C, Castaing D, Zafrani E S, Laurent-Puig P, Balabaud C, Bioulac-Sage P.

Genotype-Phenotype Correlation in Hepatocellular Adenoma: New Classification and Relationship with HCC

J Hepatology 2006;43:515-524

Internetquellen:

-Abbildung Lebersegmente:

Anatomische Lebersegmente nach Couinaud von URL:

<http://www.radiologyassistant.nl/en/4375bb8dc241d> [12.05.2012 14:06 Uhr]

-HCC – ablative & minimalinvasive Behandlungsmethoden

Dr. med. Ralf-Thorsten Hoffmann, T.F. Jakobs, M.F. Reiser

Institut für Klinische Radiologie, Klinikum München-Großhadern LMU von URL:

<http://www.bayer-internisten.de/abstracts-hepa/AbstractHoffmann.pdf> [08.06.2012, 14:30]

-Butters Ingo (2002): 20 Euro pro Besuch [Online im Internet] URL:
<http://www.sueddeutsche.de/politik/frankreich-euro-pro-besuch-1.310676> [13.07.2011,
14:44]

9 Danksagung

Als erstes möchte ich gerne meinem Doktorvater, Prof. Dr. med. Björn Nashan, für die Einführung in die spannende Welt der Leberchirurgie und das in mich gesetzte Vertrauen danken. Dank seiner beeindruckenden, rhetorischen Fähigkeiten habe ich mich für die Leberchirurgie begeistern können und diese Arbeit gewählt.

Ebenso gebührend möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Hansjörg Schäfer bedanken, der mit unheimlich viel Ausdauer und Geduld die komplette pathologische Beurteilung der Präparate übernommen hat.

Mein besonderer Dank gilt darüber hinaus meinem Betreuer, Dr. med. Asmus Heumann, der mir stets zur Seite stand und alle auftauchenden Fragen und Probleme kompetent und zügig gelöst hat.

Auch möchte ich den Medizinisch Technischen Assistentinnen des Immunhistochemischen Labors in der Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, insbesondere der Laborleiterin Frau Thieke, für die viele zusätzliche Arbeit der hunderten Färbungen danken, die sie neben der Tagesarbeit durchgeführt haben.

Als letztes möchte ich mich bei meinen Eltern und Großeltern bedanken, die mir das Medizinstudium ermöglicht haben und mir in Rat und Tat beiseite stehen.

10 Lebenslauf

entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

11 Eidesstaatliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift: