

**Somatostatin- und  
CXCR4-Rezeptor-Expression  
in MALT-Lymphomen  
verschiedener Lokalisationen**

**Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von  
Susann Stollberg  
geboren am 29. April 1983 in Zittau

**Gutachter:**

1. Frau Prof. Dr. Amelie Lupp, Jena
2. PD Dr. Daniel Kämmerer, Bad Berka
3. Prof. Dr. Markus Raderer, Wien/Österreich

**Tag der öffentlichen Verteidigung:**

15.12.2017

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Erklärung</b>
ABVD	Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Ala	Alanin
ANA	Antinukleärer Antikörper
AP	Alkalische Phosphatase
AS	Aminosäuren
Asn	Asparagin
Bax	Bcl-2-associated X protein
BEACOPP	Bleomycin, Etoposid, Adriamycin, Cyclophosphamid, Vincristin, Prednisolon, Procarbazin
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CD	Cluster of Differentiation
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
CRP	C-reaktives Protein
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokin-Rezeptor 4
Cys	Cystein
d. F.	der Fälle
DLBCL	Diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom
EBV	Epstein-Barr-Virus
EF-RT	extended-field-Radiotherapie
EHPG	European Helicobacter Pylori Study Group
FL	Follikuläres Lymphom
Gamma-GT	Gamma-Glutamyltransferase
GCSF	Granulocyte-Colony Stimulating Factor
GEP	gastroenteropankreatisch
GH	Growth Hormone
GIT	Gastrointestinaltrakt
Gly	Glycin
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor

GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
Gy	Gray
HE	Hämatoxylin-Eosin
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HL	Hodgkin-Lymphom
HNO	Hals-Nasen-Ohren
H.p.	Helicobacter pylori
HPV	Humane Papillomaviren
HRS	Hodgkin-Sternberg-Reed
IBL	Immunoblastisches Lymphom
IF	involved field
IF-RT	involved-field-Radiotherapie
IRS	Immunreaktiver Score
kDa	Kilodalton
LDH	Lactatdehydrogenase
Lys	Lysin
MAK	mikrosomale Antikörper
MALT	mukosa-associated lymphoid tissue
MCL	Mantelzelllymphom
mRNA	messenger-RNA
mi-RNA	micro-RNA
MZL	Marginalzonenlymphom
NET	neuroendokrine Tumoren
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
n.u.	nicht untersucht
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PET-CT	Positronen-Emissions-Tomographie/Computer-Tomographie
Phe	Phenylalanin
PKA	Proteinkinase A
PLC	Phospholipase C
R-CHOP	Rituximab, Cyclophosphamid, Hydroxydaunorubicin, Vincristin, Prednisolon
RT-PCR	Reverse-Transkriptase Polymerase-Kettenreaktion
SDF-1	stromal cell derived factor 1
Ser	Serin
SLE	systemischer Lupus erythematodes

SSA	Sjögren-Syndrom A
SSB	Sjögren-Syndrom B
SST	Somatostatin
SSTR	Somatostatin-Rezeptor(en)
Thr	Threonin
TK	Tyrosin-Kinase
TNM	Tumor, Lymphknoten (Nodes), Metastasen
TPO-AK	Thyreoperoxidase-Antikörper
TRH	Thyreotropin-Releasing-Hormon
Trp	Tryptophan
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
T3	Triiodthyronin
T4	Tetraiodthyronin
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
WHIM	Warzen-Hypogammaglobulinämie-Immundefizienz-Myelokathexis-Syndrom
WHO	World Health Organisation
ZBL	Zentroblastisches Lymphom

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
<b>1 Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>2 Einleitung</b>	<b>4</b>
2.1 Das Polypeptid Somatostatin	4
2.1.1 Somatostatin-Rezeptoren	5
2.1.2 Somatostatin-Analoga	9
2.2 Der Chemokin-Rezeptor CXCR4	13
2.3 Der Proliferationsindikator Ki-67	15
2.4 Das lymphatische System	16
2.5 Klassifikation der Lymphome	18
2.6 Die malignen Lymphome	20
2.6.1 Das Hodgkin-Lymphom	21
2.6.1.1 Morphologie und Pathogenese	21
2.6.1.2 Klinische Stadien und Prognose	24
2.6.1.3 Klinik und Diagnose	25
2.6.1.4 Therapie	25
2.6.2 Das Non-Hodgkin-Lymphom	27
2.6.2.1 Morphologie und Pathogenese	27
2.6.2.2 Klinische Stadien und Prognose	28
2.6.2.3 Klinik und Diagnose	29
2.6.2.4 Das MALT-Lymphom	32
2.7 Begleiterkrankungen	35
2.7.1 Autoimmunerkrankungen	35
2.7.1.1 Sjögren-Syndrom	35
2.7.1.2 Hashimoto-Thyreoiditis	36
2.7.2 Helicobacter-pylori-Infektion	37
<b>3 Zielsetzung der Arbeit</b>	<b>39</b>

<b>4</b>	<b>Material und Methodik</b>	<b>40</b>
4.1	Patientendaten und -proben	40
4.1.1	Votum der Ethikkommission	40
4.2	Immunhistochemie	40
4.2.1	Materialien und Gerätschaften für die Immunhistochemie	40
4.2.2	Prinzip der Immunhistochemie	43
4.2.3	Durchführung der Immunhistochemie	45
4.2.4	Die Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung	47
4.2.5	Auswertung der immunhistochemischen Färbungen	48
4.2.5.1	Lichtmikroskopische Auswertung	48
4.2.5.2	Scores	48
4.3	Statistik	50
<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>51</b>
5.1	Patientendaten	51
5.2	Klinische Daten	52
5.2.1	Tumorlokalisation	52
5.2.2	Klassifikation	54
5.2.3	Begleiterkrankungen	54
5.3	Immunhistochemie	57
5.3.1	Somatostatin-Rezeptor-Subtypen	57
5.3.2	CXCR4	61
5.3.3	Ki-67	62
5.3.4	Häufigkeitsverteilung der Rezeptor-Subtypen	63
5.4	Statistik	68
5.4.1	Korrelationen zwischen den Rezeptorexpressionsintensitäten	68
5.4.2	Unterschiede in der Rezeptorexpression in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation	69
5.4.3	Ki-67-Auswertung	77
5.4.4	Zusammenhang zwischen dem Erkrankungsalter und der Rezeptor-Expression beziehungsweise dem Ki-67-Index	79

5.4.5	Zusammenhang zwischen dem Stadium der Erkrankung und der Rezeptor-Expression beziehungsweise dem Ki-67-Index	80
5.5	Zusammenhang zwischen den Begleiterkrankungen und der Rezeptor-Expression beziehungsweise dem Ki-67-Index	80
5.5.1	Einfluss einer Autoimmunerkrankung auf die Rezeptor-Expression beziehungsweise auf den Ki-67-Index	80
5.5.2	Einfluss einer Autoimmunerkrankung auf das Tumorstadium zum Diagnosezeitpunkt	81
5.5.3	Einfluss einer Autoimmunerkrankung auf das Erkrankungsalter	82
5.5.4	Einfluss einer Helicobacter-pylori-Infektion auf die Rezeptor-Expression beziehungsweise den Ki-67-Index	82
5.5.5	Einfluss einer Helicobacter-pylori-Infektion auf das Tumorstadium zum Diagnosezeitpunkt	82
5.5.6	Einfluss einer Helicobacter-pylori-Infektion auf das Erkrankungsalter	83
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>84</b>
6.1	Alters- und Geschlechtsverteilung	84
6.2	Tumorlokalisation	84
6.3	Stadien	85
6.4	Immunhistochemische Untersuchung der Patientenproben	86
6.4.1	Somatostatin-Rezeptor-Expression	86
6.4.2	CXCR4-Rezeptor-Expression	88
6.4.3	Ki-67-Index	89
<b>7</b>	<b>Schlussfolgerungen</b>	<b>91</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>92</b>
<b>9</b>	<b>Anhang</b>	<b>109</b>
9.1	Ehrenwörtliche Erklärung	109
9.2	Danksagung	110

## 1 Zusammenfassung

Maligne Lymphome entstammen entarteten Zellen des lymphatischen Gewebes und werden in Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphome unterteilt. Alle Entitäten, bei denen die für das Hodgkin-Lymphom typischen aus B-Lymphozyten hervorgehenden Hodgkin-Reed-Sternberg-Zellen fehlen, werden als Non-Hodgkin-Lymphome bezeichnet (ausgenommen lymphozyten-prädominantes Hodgkin-Lymphom). Insgesamt handelt es sich bei Non-Hodgkin-Lymphomen gemäß der aktuellen WHO-Klassifikation der malignen Lymphome um weit über 70 einzelne Entitäten, welche anhand ihrer histologischen, genetischen und immunchemischen Eigenschaften näher klassifiziert werden, um die spezifisch erforderliche Therapie festzulegen. Eine dieser Entitäten stellt das Marginalzonen-Lymphom des mukosa-assoziierten lymphatischen Gewebes, das MALT-Lymphom, dar. Dieses tritt in der überwiegenden Mehrheit der Fälle im Gastrointestinaltrakt und hier bevorzugt im Magen auf. Da MALT in allen Organen vorkommen kann, in die beispielsweise im Rahmen von Entzündungs- oder Autoimmunprozessen Lymphozyten einwandern können, ist der menschliche Magen bei weitem nicht der einzige Manifestationsort dieses Tumors. Ihren pathogenetischen Ursprung haben MALT-Lymphome häufig in der Lymphozytenmigration in Organe, in denen physiologischerweise keine Lymphfollikel vorkommen. Bekannt ist zum Beispiel, dass eine Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* oder das Auftreten des Sjögren-Syndroms das Risiko, an einem MALT-Lymphom zu erkranken, signifikant steigern. Darüber hinaus existiert eine Vielzahl weiterer Risikofaktoren.

Zahlreiche Tumore weisen eine verstärkte Expression von Rezeptoren für bestimmte regulative Peptidhormone auf. Diese Überexpression solcher Proteine stellt die molekulare Basis sowohl für die in-vivo-Lokalisation der Tumore, zum Beispiel mittels Szintigraphie oder PET-CT, als auch für die gezielte Pharmakotherapie oder Radiorezeptortherapie mit Hilfe von stabilen Rezeptor-Liganden dar.

Chemokin-Rezeptoren sind membranständige G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, deren Aktivierung eine Wanderung von Zellen in Richtung der höchsten Chemokin-Konzentration auslöst. Der Chemokin-Rezeptor CXCR4 wird von vielen Zellen des blutbildenden Systems, aber auch von vielen Stammzellen exprimiert. Der einzige bekannte natürliche Ligand ist das Chemokin SDF-1 (Stromal cell-derived factor 1; CXCL12), welches noch an einem weiteren Rezeptor, dem CXCR7, bindet.

Aus der Literatur ist bekannt, dass etwa 70 Prozent aller Tumore eine Überexpression des CXCR4 aufweisen. Hierbei wird ein Zusammenhang mit der Aggressivität der Tumore und ihrem Metastasierungsverhalten diskutiert.

Wie beim CXCR4 handelt es sich auch bei den fünf Somatostatin-Rezeptoren (SSTR) um G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die in zahlreichen menschlichen Geweben nachweisbar sind.

Darüber hinaus konnten verschiedene Somatostatin-Rezeptor-Subtypen, insbesondere der SSTR2A und der SSTR5, auch in diversen Tumoren und hierbei vor allem in gut differenzierten neuroendokrinen Tumoren gefunden werden. Da in diesem Kontext bislang umfassende Daten beispielsweise in Bezug auf diagnostische oder therapeutische Optionen fehlen, war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, die SSTR-Subtyp- und CXCR4-Expression in MALT-Lymphomen zu untersuchen.

Hierzu wurden MALT-Lymphome verschiedener Lokalisationen von insgesamt 55 Patienten immunhistochemisch untersucht. Diese wurden vom Institut für Pathologie der Universität Wien und der Universitätsklinik für Innere Medizin I, Klinische Abteilung für Onkologie der Universität Wien, Österreich, zur Verfügung gestellt.

Die immunhistochemische Färbung der Proben wurde mit spezifischen Antikörpern gegen die Somatostatin-Rezeptoren 1 bis 5 sowie gegen den CXCR4 vorgenommen. Anschließend wurde jedes Präparat lichtmikroskopisch untersucht und mit Hilfe des Immunreaktiven Scores nach Remmele und Stegner ausgewertet, um eine Aussage über die Expressionsmenge und -intensität der jeweiligen Rezeptoren treffen zu können. Weiterhin wurde die Expression des Proliferationsmarkers Ki-67 lichtmikroskopisch durch Auszählung des prozentualen Anteils an positiven Zellkernen erfasst.

92,9 Prozent der Präparate zeigten eine Positivität für den CXCR4. In 50 Prozent der Fälle lag eine SSTR5-Expression vor, in 35,7 Prozent der Fälle fand sich der SSTR3, in 26,8 Prozent der Fälle der SSTR2. Bei 17,9 Prozent der Proben war der SSTR4 nachweisbar. Der SSTR1 war nur in einem Fall (1,8 Prozent der Fälle) anfärbbar.

Die erreichbare Punktzahl im IRS lag zwischen 0 und 12 Punkten. Die SSTR1-Expression zeigte einen IRS-Mittelwert von 0,04 Punkten. Der SSTR2A erreichte einen mittleren IRS von 1,39 Punkten und der SSTR3 von 1,86 Punkten. Auch der SSTR4 zeigte mit einem IRS-Mittelwert von 1,20 Punkten nur eine geringe Expression in den untersuchten Proben. Der SSTR5 wies von allen Somatostatin-Rezeptoren die höchsten IRS-Werte auf und erreichte im Mittel 2,70 Punkte. Am intensivsten war die immunhistochemische Markierung des CXCR4. Sie erreichte einen IRS-Mittelwert von 6,60 Punkten.

Das Ki-67-Protein konnte im Durchschnitt bei 19,30 Prozent der ausgezählten Zellen immunhistochemisch nachgewiesen werden.

Die untersuchten MALT-Lymphome entstammten fünf unterschiedlichen Lokalisationen (Unterkieferspeicheldrüse, Ohrspeicheldrüse, Augenhöhle, Schilddrüse, Magen). Sie wurden im Verlauf der vorliegenden Untersuchung über die Einzelbetrachtung hinaus noch in gastrisch und extragastrisch lokalisierte Tumore klassifiziert. Insgesamt zeigten die gastrischen MALT-Lymphome in Bezug auf alle untersuchten Rezeptoren eine höhere Expression im Vergleich zu den extragastrisch lokalisierten Tumoren. Der hier gefundene Unterschied war vor allem für die SSTR-Subtypen 3, 4 und 5 signifikant.

Weiterhin fand sich ein Zusammenhang zwischen der Expression des CXCR4 und des SSTR3 sowie des Ki-67-Proteins, wobei in Tumoren mit starker Positivität für die beiden Rezeptoren auch mehr Ki-67-Protein nachweisbar war. Weitere Zusammenhänge zeigten sich bei den SSTR untereinander. So exprimierten Tumore mit einem hohen SSTR3-Besatz auch signifikant häufiger den SSTR4 und den SSTR5 sowie den CXCR4.

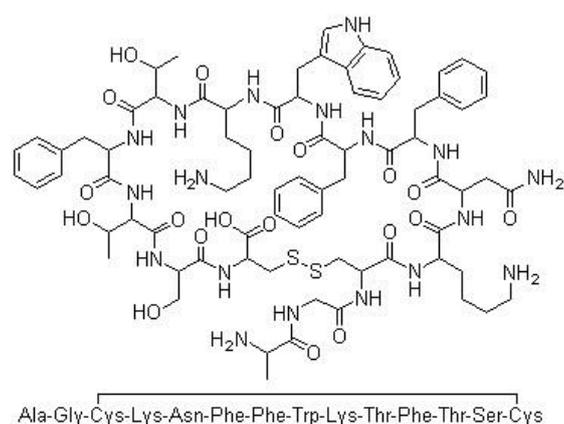
Da die zur Verfügung gestellten Daten teilweise ausführliche laborchemische Informationen zu bekannten immunologisch relevanten Begleiterkrankungen der Patienten enthielten, wurde in der vorliegenden Untersuchung auch überprüft, ob im untersuchten Patientenkollektiv signifikante Zusammenhänge zwischen dem Rezeptor-Besatz der MALT-Lymphome und dem Vorliegen einer dieser Begleiterkrankungen bestanden. Hier zeigte sich, dass Patienten mit einem Sjögren-Syndrom eine signifikant höhere SSTR5-Expression in ihren MALT-Lymphomen aufwiesen, als Patienten ohne Sjögren-Syndrom. Ebenso konnte nachgewiesen werden, dass das Vorliegen von Autoantikörpern im Allgemeinen sich signifikant auf den SSTR-Besatz von MALT-Lymphomen auswirkt. Demnach exprimieren Patienten mit positivem Nachweis von Autoantikörpern signifikant häufiger den SSTR4 als Patienten ohne einen entsprechenden Befund. Das Vorliegen einer Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* hatte keine signifikanten Auswirkungen auf die Expression der Somatostatin-Rezeptoren oder des CXCR4.

Diese Ergebnisse zeigen, dass der CXCR4 bei MALT-Lymphomen aufgrund seiner häufigen und teilweise intensiven Expression in Zukunft eine interessante Zielstruktur für die Diagnostik oder Therapie dieser Tumorentität darstellen könnte. So wären der Einsatz des CXCR4-Antagonisten Plerixafor (AMD3100) oder des Ga<sup>68</sup>-markierten Liganden Pentixafor zwei denkbare Optionen für die Therapie und die Diagnostik des MALT-Lymphoms. Da in Bezug auf die SSTR nur der SSTR5 und der SSTR3 in ausreichendem Maße in den Tumoren exprimiert sind, erscheint hier, von einigen Ausnahmen abgesehen, eine SSTR-basierte Diagnostik oder Therapie weniger sinnvoll. Falls eine solche dennoch angestrebt werden sollte, sollten Pan-Somatostatin-Analoga gegenüber Octreotid bevorzugt werden.

## 2 Einleitung

### 2.1 Das Polypeptid Somatostatin

Im Jahr 1972 gelang es erstmals, das bis dahin unbekannte zyklische Polypeptid Somatostatin (Somatotropin-Release-Inhibiting-Hormon) aus Zellen der Hypothalami von Schafen zu isolieren und dessen Aminosäuresequenz zu entschlüsseln (siehe **Abbildung 1**) (Brazeau et al. 1973, Guillemin 2008, Hoyer et al. 1995, Stange et al. 1984). Durch weiterführende Studien konnte anschließend belegt werden, dass die Somatostatin-Synthese allerdings keineswegs nur auf den Hypothalamus begrenzt ist, sondern dass neben dem zentralen und peripheren Nervensystem auch die meisten inneren Organe, unter anderem der Gastrointestinaltrakt, das Pankreas, die Schilddrüse, die Nieren und Nebennieren, die Prostata, die Plazenta sowie Immunzellen zur Expression des Peptids befähigt sind (Corness et al. 1993, Mundschenk et al. 2003, Patel 1999). Somatostatin tritt in zwei gewebespezifisch verteilten, biologisch aktiven Formen auf. Man unterscheidet das aus 14 Aminosäuren (AS) bestehende SST-14 vom SST-28, welches am N-Terminus um weitere 14 Aminosäuren verlängert ist (Patel 1999). Aus dem aus 116 AS zusammengesetzten Präprosomatostatin erfolgt über den Zwischenschritt zum Prohormon (92 AS) die letztendliche Synthese beider Formen durch Prohormonkonvertasen (Goodman et al. 1983, Montminy et al. 1984).



**Abbildung 1:** Strukturformel des Somatostatins  
(<http://www.lookchem.com/300w/201001/img/511110-01-1.jpg>)

Da Somatostatin als Ligand mit bisher insgesamt sechs beschriebenen Somatostatin-Rezeptoren (SSTR) interagiert, welche in unterschiedlichen Konzentrationen gewebeabhängig verteilt sind, ergibt sich eine Vielzahl von Effekten. So wirkt es zum Beispiel antiproliferativ, indem es die Funktionen des Growth Hormons (GH) in der Hypophyse antagonisiert (Brazeau et al. 1973). Somatostatin wird in den pankreatischen D-Zellen

synthetisiert und hemmt sowohl die endokrine Sekretion von Insulin und Glukagon in den benachbarten Zellen der Langerhans-Inseln als auch die exokrine Funktion des Pankreas insgesamt (Malcangio et al. 2002, Minami et al. 1998, Patel et al. 1991). Somatostatin beeinflusst des Weiteren den Verdauungsprozess, indem es bei Ausschüttung die Motilität des Gastrointestinaltraktes herabsetzt und damit die Passagezeit des Nahrungsbreis verlängert. Darüber hinaus wirkt Somatostatin als Neuromodulator und Neurotransmitter, beeinflusst die Angiogenese sowie die glatte Muskulatur und hat Effekte auf kognitive Prozesse sowie immunologische Funktionen (Ferjoux et al. 2000, Lamberts et al. 1991, Yamada et al. 1992).

Bedingt durch das systemisch breite Wirkspektrum des Somatostatins und seine antiproliferative und antisekretorische Wirkkomponente, ergibt sich seine große diagnostische und therapeutische Bedeutung bei zahlreichen Tumorerkrankungen.

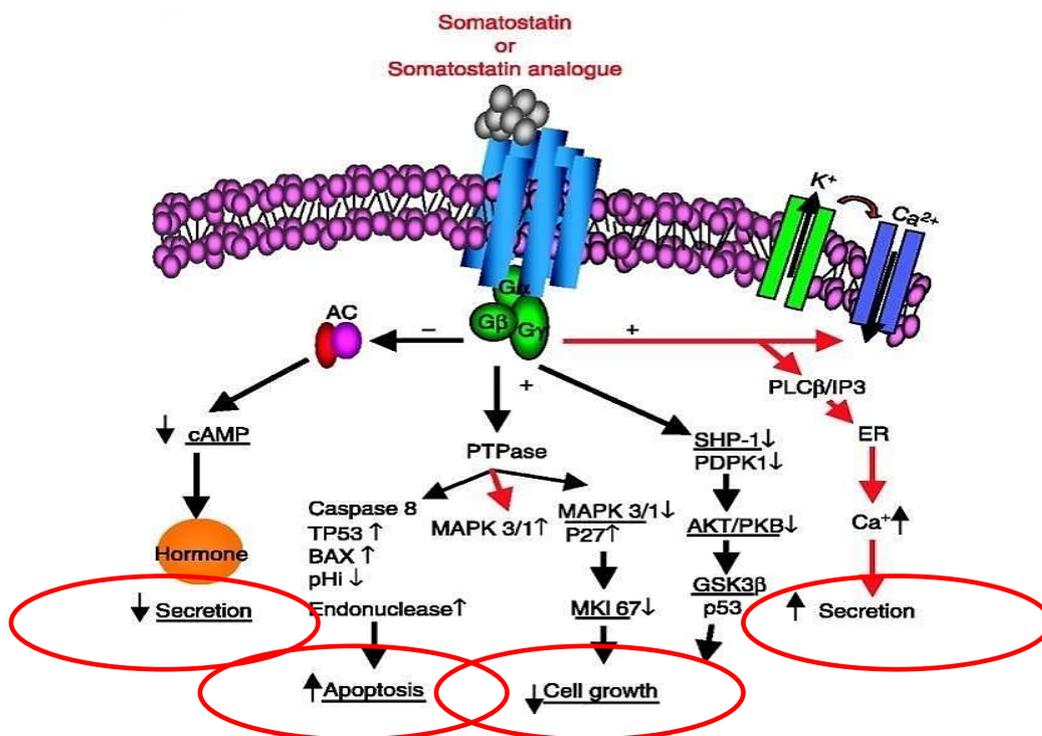
### **2.1.1 Somatostatin-Rezeptoren**

#### **Aufbau, Struktur und Signaltransduktion**

Somatostatin interagiert mit speziellen Membranproteinen, um seine spezifischen Wirkungen auf die Zielzelle zu vermitteln. Diese Oberflächenproteine wurden erstmals im Jahr 1978 von Schonbrunn und Tashjian als Somatostatin-Rezeptoren (SSTR) näher beschrieben (Schonbrunn und Tashjian 1978). Bislang gelang es, eine Gruppe von sechs SSTR-Subtypen zu identifizieren, welche auf fünf verschiedenen Chromosomen kodiert werden. Chronologisch in der Reihenfolge der Entdeckungszeitpunkte benannt, handelt es sich bei dieser Gruppe um SSTR1, SSTR2A, SSTR2B, SSTR3, SSTR4 und SSTR5. Der Somatostatin-Rezeptor 2B wurde bisher nicht in humanem Gewebe, sondern nur bei Nagetieren nachgewiesen (Fischer et al. 2008).

Den Rezeptoren sind innerhalb der Zielzellen verschiedene Signaltransduktionswege nachgeschaltet (Corness et al. 1993, Hoyer et al. 1995, Schonbrunn 2008, Vanetti et al. 1992, Yamada et al. 1992, Yamada et al. 1993). Allen SSTR ist gemeinsam, dass es sich hierbei um G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR) handelt. GPCR bestehen aus einer heptahelikalen Polypeptidkette, welche die Zellmembran sieben Mal durchdringt. Ihre Aktivierung durch Ligandenbindung am extrazellulären N-Terminus führt zu einer Regulation von intrazellulären Enzymen, wie z.B. der Proteinkinase A (PKA) oder der Phospholipase C (PLC), die dann wiederum die Freisetzung von sekundären Botenstoffen (cAMP, Kalzium usw.) triggern und zur spezifischen Reaktion der Zielzelle führen (Schoneberg et al. 1999).

Im Fall der SSTR erfolgt die Signalweiterleitung bei allen sechs Subtypen über die Hemmung der Adenylatcyclase und der damit einhergehenden Senkung der intrazellulären cAMP-Konzentration (Leu und Nandi 2010, Schonbrunn 2008, Somvanshi und Kumar 2012). Die Rezeptoren SSTR2-SSTR5 sind darüber hinaus mit Kalium-Kanälen assoziiert. Der SSTR1 und der SSTR2 haben einen Effekt auf spannungsgesteuerte Kalzium-Kanäle, der SSTR1 zusätzlich auf den Natrium-Wasserstoff-Ionen-Austauscher (Taniyama et al. 2005). Werden die inhibitorischen G-Proteine der SSTR aktiviert, umfassen die Effekte auf die Zielzellen somit eine Hyperpolarisation, eine verminderte Aktionspotenzialfrequenz und damit eine reduzierte Transmitterabgabe, z.B. in Neuronen (Hoyer et al. 1995, Patel 1999). Des Weiteren ist die verminderte intrazelluläre Konzentration von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) und Kalzium für die bereits erwähnte antisekretorische Wirkung bei verschiedenen endo- und exokrinen Organen verantwortlich (Hoyer et al. 1995). Antiproliferativ wirkt Somatostatin zum einen beispielsweise, indem es durch Rezeptoraktivierung die Proteine p53 und Bax induziert, welche den programmierten Zelltod der Zielzelle einleiten können, oder zum anderen, indem die Ausschüttung von Wachstumsfaktoren gehemmt wird (Ferjoux et al. 2000). Eine Übersicht über die zellulären Antworten und deren systemische Konsequenzen (rot eingekreist) auf die Aktivierung der Somatostatin-Rezeptoren durch Somatostatin selbst oder eines seiner Analoga ist in **Abbildung 2** dargestellt.



**Abbildung 2:** Somatostatin-Rezeptor-vermittelte Signaltransduktion

(modifiziert nach: <http://jme.endocrinology-journals.org/content/42/5/361/F1.large.jpg>)

Da oftmals mehrere Rezeptor-Subtypen zugleich in ein und derselben Zelle exprimiert werden, liegt die Vermutung nahe, dass einige der genannten Effekte subtypspezifisch sind (Ferjoux et al. 2000).

Alle Somatostatin-Rezeptor-Subtypen sind strukturell eng miteinander verwandt und variieren beim Menschen nur leicht in der Anzahl und Abfolge der Aminosäuren in der Polypeptidkette (Corness et al. 1993, Reisine und Bell 1995, Yamada et al. 1992, Yamada et al. 1993). Unterschiedliche Molekulargewichte zwischen 21 und 128 kDa sind vor allem einer gewebespezifisch unterschiedlich stark ausgeprägten Glykosylierung der Rezeptoren geschuldet, welche offensichtlich die Affinität der Rezeptoren gegenüber ihren spezifischen Liganden steigern und sicherstellen soll (Reisine und Bell 1995).

### **Vorkommen der Somatostatin-Rezeptoren**

Somatostatin-Rezeptoren zeigen im menschlichen Organismus ein äußerst breites und flexibles Verteilungsmuster. Während beispielsweise im zentralen Nervensystem alle Rezeptorsubtypen vertreten sind, findet sich in den peripheren Geweben eine differenzierte Ausprägung. In ihrer Dichte variierend, lassen sich die SSTR unter anderem im Gastrointestinaltrakt, in der Hypophyse, im endokrinen und exokrinen Pankreas, in den Nieren und Nebennieren, in der Schilddrüse und in Immunzellen nachweisen (Reisine und Bell 1995, Patel und Srikant 1997, Patel 1999).

Um das Vorkommen von Somatostatin-Rezeptoren auf oder in einer Zelle zu detektieren, gibt es eine Vielzahl von Nachweismethoden. Beispielsweise ist dies in menschlichem Gewebe oder im Gewebe von Nagetieren mittels mRNA-Analysen, wie Northern Blot, Reverse-Transkriptase-PCR (RT-PCR) oder in-situ-Hybridisierung untersucht worden. Eine weitere effektive Variante stellt die Lokalisierung mittels subtypspezifischer Antikörper dar (Kulaksiz et al. 2002, Mundschenk et al. 2003, Schulz et al. 1998a, Schulz et al. 1998b, Patel und Srikant 1997, Patel 1999). Mit der letztgenannten Methode ist es möglich, Nachteile der PCR zu umgehen. Denn während diese nicht differenzieren kann, ob das entstandene Transkript von zum Beispiel Tumorzellen direkt stammt oder aus gesunden Nachbarzellen, lässt sich durch die Rezeptor-Immunhistochemie durchaus eine konkrete Aussage zur zellulären Lokalisation der Somatostatin-Rezeptoren treffen. Daraus lassen sich pathophysiologische Erkenntnisse über die spezifischen Funktionen der SSTR in den entsprechenden Organen gewinnen.

## Die Expression von Somatostatin-Rezeptoren in Tumoren

Nachdem weiterführende Studien zur Entdeckung von Somatostatin-Rezeptoren auf der Zelloberfläche von Tumorzellen geführt haben, ergab sich ein wichtiger Ansatzpunkt zum Eingriff in Wachstums- und Sekretionsprozesse diverser Tumorerkrankungen.

Inzwischen ist eine Vielzahl verschiedener Neoplasien bekannt, bei welchen Somatostatin-Rezeptoren entweder auf der Zellmembran und/oder als intrazelluläre Rezeptoren exprimiert werden. Dazu zählen beispielsweise, wie in **Tabelle 1** dargestellt, Hypophysenadenome, medulläre Schilddrüsenkarzinome, Karzinoide, Insulinome und Glukagonome, Phäochromozytome, kleinzellige Bronchialkarzinome, Prostatakarzinome und weitere Tumore (Hofland et al. 1999, Lamberts et al. 1991, Mundschenk et al. 2003, Reubi et al. 1992, Reubi et al. 1998, Reubi et al. 2000, Schulz et al. 1998a, Schulz et al. 1998b, Schulz et al. 2000, Patel und Srikant 1997, Patel 1999). Die partielle Überexpression der SSTR in Tumoren stellt sowohl für die Diagnosestellung als auch für verschiedene Therapieansätze eine wichtige Basis dar. Wie zum Teil bereits der **Tabelle 1** zu entnehmen ist, zeigt sich vor allem in Neuroblastomen, Meningeomen, Medulloblastomen, Mammakarzinomen, klarzelligem Nierenzellkarzinomen, Paragangliomen, kleinzelligen Bronchialkarzinomen oder hepatozellulären Karzinomen eine überwiegende Präsenz des SSTR2. Der SSTR1 prävaliert als Subtyp in Prostatakarzinomen und Sarkomen (Hofland und Lamberts 2003, Reubi et al. 2001). Phäochromozytome exprimieren hingegen sowohl die Rezeptoren SSTR1 und SSTR2 als auch den SSTR3 (Hofland und Lamberts 2003, Mundschenk et al. 2003). In Hypophysenadenomen unterschiedlicher Genese dominieren der SSTR2, der SSTR3 und der SSTR5 (Hofland und Lamberts 2003, Lamberts et al. 2002, Reubi et al. 2001).

In neuroendokrinen Tumoren kann der SSTR2 in 80 Prozent und der SSTR5 in 70 Prozent der Fälle nachgewiesen werden. Pankreatische Inselzelladenome exprimieren zu über 80 Prozent Somatostatin-Rezeptoren, wobei wiederum der SSTR2 überwiegt (Hofland und Lamberts 2003, Lamberts et al. 1996, Lamberts et al. 2002). Die Kenntnis über die genaue Verteilung von Somatostatin-Rezeptoren in verschiedenen Tumoren stellt einen wichtigen Schritt in der Erforschung von Diagnostik- und Therapieoptionen im Bereich der Onkologie dar (Kimura et al. 1999).

**Tabelle 1:** Expression der Somatostatin-Rezeptor-Subtypen in verschiedenen humanen Tumoren. Die Werte geben den Prozentsatz an, zu dem die untersuchten Tumore die mRNA der entsprechenden SSTR-Subtypen exprimieren. Werte > 80 Prozent sind fett gedruckt dargestellt und markieren Tumoren mit besonders hoher Expressionsrate.

(n.u. = nicht untersucht)

(modifiziert nach Hofland und Lamberts 2003)

	SSTR1	SSTR2	SSTR3	SSTR4	SSTR5
<b>Hypophysenadenom</b>					
- GH-produzierend	44 %	<b>96 %</b>	44 %	5 %	<b>86 %</b>
- ACTH-produzierend	56 %	67 %	25 %	0 %	<b>86 %</b>
- hormonell inaktiv	38 %	75 %	43 %	13 %	48 %
<b>GEP-NET</b>					
- Karzinoid	76 %	<b>80 %</b>	43 %	68 %	77 %
- Gastrinom	79 %	<b>93 %</b>	36 %	61 %	<b>93 %</b>
- Insulinom	76 %	<b>81 %</b>	38 %	58 %	57 %
- hormonell inaktive Inselzelladenome	58 %	<b>88 %</b>	42 %	48 %	50 %
<b>Nierenzellkarzinom, klarzellig</b>	85 %	<b>100 %</b>	0 %	50 %	n.u.
<b>Mammakarzinom</b>	33 %	<b>99 %</b>	38 %	23 %	18 %
<b>Meningeom</b>	46 %	<b>100 %</b>	33 %	50 %	71 %
<b>Gliom</b>	<b>100 %</b>	<b>100 %</b>	67 %	71 %	57 %
<b>Neuroblastom</b>	0 %	<b>100 %</b>	17 %	n.u.	n.u.
<b>Kolorektales Karzinom</b>	27 %	<b>87 %</b>	22 %	10 %	46 %
<b>Medulläres Schilddrüsenkarzinom</b>	29 %	<b>79 %</b>	36 %	0 %	64 %
<b>Phäochromozytom</b>	<b>100 %</b>	<b>100 %</b>	73 %	73 %	73 %

### 2.1.2 Somatostatin-Analoga

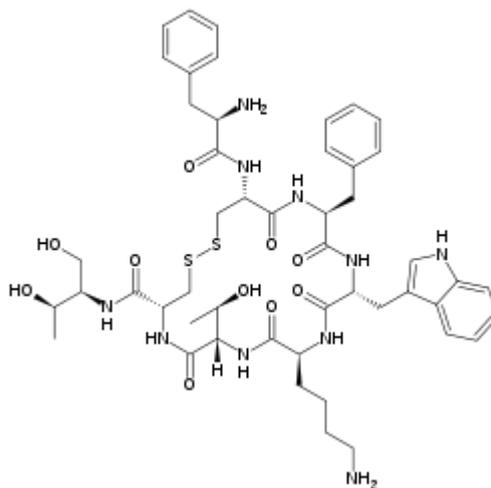
Zunächst hoffte man, sich Somatostatin selbst zur Therapie verschiedener Erkrankungen wie beispielsweise der neuroendokrinen Tumore oder der Akromegalie zu Nutze machen zu können. Allerdings stieß dieser Ansatz auf Grund verschiedener molekularer Eigenschaften auf Komplikationen. Da erstens die biologische Halbwertszeit des Somatostatins im Blut weniger als drei Minuten beträgt, wäre eine kontinuierliche Infusion vonnöten (Bauer et al. 1982, Maton 1993). Zweitens ist nach Absetzen der Hormontherapie mit einem Rebound-Effekt der Somatostatin-Sekretion zu rechnen, der neben zahlreichen anderen unerwünschten

Wirkungen wegen des breiten systemischen Verteilungsmusters der Somatostatin-Rezeptoren in den meisten Organen eine zusätzliche Hürde für den therapeutischen Einsatz darstellt (Wynick et al. 1989). Dadurch ergaben sich bezüglich der Halbwertszeit und der Rezeptorspezifität der Liganden neue Anforderungen an mögliche Somatostatin-Analoga (Wynick et al. 1989).

### Octreotid

Als erster Wirkstoff nahm Octreotid (Sandostatin®, SMS 201-995) zur Behandlung hormonproduzierender neuroendokriner Tumore Einzug in die klinische Anwendung (Bauer et al. 1982).

Mit einer Halbwertszeit von zirka zwei Stunden nach subkutaner Injektion zeigt das Medikament eine wesentlich längere Wirkdauer als Somatostatin selbst. Während dieses an alle SSTR bindet, weist Octreotid eine überwiegend selektive Affinität zum SSTR2 auf.



**Abbildung 3:** Struktur von Octreotid

(<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/05/Octreotide.svg/250pxOctreotide.svg.png>)

Octreotid senkt die GH-Sekretion wesentlich potenter (45-fach) und wirkt auch spezifischer in der Inhibition der Insulin- (11-fach) und Glukagon-Ausschüttung (1,3-fach) als Somatostatin (Lamberts et al. 1996). Octreotid supprimiert darüber hinaus auch die Freisetzung pankreatischer Peptide, wie Gastrin, Sekretin und Motilin (Creutzfeldt et al. 1987, Kraenzlin et al. 1985), beeinflusst aber nur moderat hemmend die hypophysäre Sekretion der Hormone TRH und CRH (Lightman und Young 1989).

Will man den Nachteil umgehen, dass die subkutane Applikationsform eine dreimal tägliche Gabe erforderlich macht, stehen auch Depotpräparate, wie zum Beispiel Octreotid-LAR, zur Verfügung, welches intramuskulär im Abstand von vier Wochen injiziert wird (Murphy et al. 2010, Petersen et al. 2011).

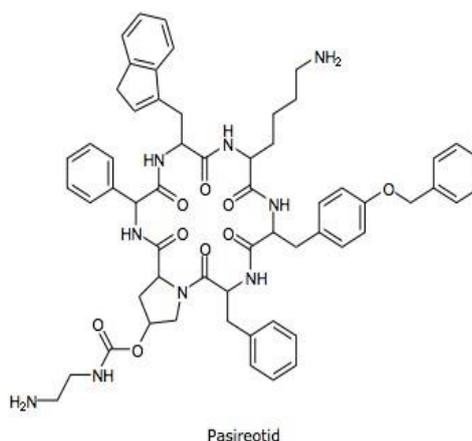
Neben dem ausführlich beschriebenen Wirkstoff Octreotid sind weiterhin noch Lanreotid (BIM-23014) und Vapreotid (RC-160) zu nennen, die als ebenfalls zyklische Somatostatin-Analoga ein ähnliches Wirkprofil in Bezug auf Affinität und Rezeptorspezifität haben wie Octreotid (Lamberts et al. 1996).

Die verbesserten Eigenschaften der Somatostatin-Analoga hatten zur Folge, dass die oben beschriebenen Substanzen nach aktuellem Stand der Forschung als Mittel der Wahl bei der Therapie der Akromegalie gelten (Colao et al. 2010). Anwendung finden sie weiterhin bei therapieresistenten Cluster-Kopfschmerzattacken (May et al. 2006) und zur symptomatischen Behandlung bei gastroenteropankreatischen hormonproduzierenden neuroendokrinen Tumoren (Murphy et al. 2010). Allerdings zeigt hier die Mehrheit der Patienten eine Toleranzentwicklung. Diese kann anfänglich mit einer Dosissteigerung kompensiert werden, führt aber langfristig dazu, dass eine erneute Zunahme der Anfangssymptomatik zu verzeichnen ist und das Medikament allmählich unwirksam wird (Hofland und Lamberts 2003, Lamberts et al. 1996). Erklärt wird dieser Effekt bislang dadurch, dass die Sensitivität der Tumorzellen für Octreotid zum einen durch die zunehmend verminderte SSTR-Expression und zum anderen durch das Wachstum von Tumorzell-Klonen ohne Octreotid-spezifische SSTR-Rezeptoren verloren geht (Hofland und Lamberts 2003). Neben dem Wirkungsverlust finden sich auch unerwünschte gastrointestinale Effekte, wie Übelkeit und Erbrechen, Koliken oder Diarrhö, die dosisabhängig sind, aber nach wenigen Tagen spontan wieder abklingen (Bornschein et al. 2009, Hoyer et al. 1995). Langfristig kann es zur vermehrten Gallensteinbildung kommen (Bornschein et al. 2009).

### **Pasireotid**

Ein weiterer neu entwickelter Wirkstoff aus der Gruppe der Somatostatin-Analoga ist das pharmakologisch breiter wirksame Pasireotid (SOM 230).

Es unterscheidet sich durch sein verändertes Affinitätsprofil von Octreotid, denn Pasireotid bindet nicht bevorzugt nur an den SSTR2A, sondern darüber hinaus auch an die Rezeptoren SSTR1, 3 und 5. Verschiedene Studien befassen sich augenblicklich intensiv mit diesem Wirkstoff. Möglicherweise ergibt sich hieraus die Option einer verbesserten Symptomkontrolle, zum Beispiel bei Karzinoid-Syndromen (Auernhammer et al. 2012).



**Abbildung 4:** Struktur von Pasireotid  
[http://www.pharmawiki.ch/wiki/media/Pasireotid\\_1.png](http://www.pharmawiki.ch/wiki/media/Pasireotid_1.png)

### Einsatzmöglichkeiten der Somatostatinanaloge

Basierend auf der Überexpression von SSTR auf Tumorzellen im Vergleich zu umliegendem gesundem Gewebe, stellt die zielgerichtete Radio- oder Chemotherapie eine neue Behandlungsmöglichkeit dar (Grozinsky-Glasberg et al. 2008). Die Dosis, und damit verbunden auch der Schweregrad der unerwünschten Wirkungen, kann dank der hohen Rezeptorspezifität der Analoga in einem moderaten Rahmen gehalten werden, da die zielgerichtete Bekämpfung wegen ihrer Überexpression von Somatostatin-Rezeptoren vor allem erkrankte Zellen betrifft und gesundes Gewebe schont (Lamberts et al. 2002). Einen weiteren wichtigen Stellenwert nehmen die Somatostatin-Analoga im Bereich der Diagnostik von neuroendokrinen Tumoren ein. Mit hoher Sensitivität wird mit einem Gamma-Strahler radioaktiv markiertes Octreotid (In-111-Pentetreotid) für ein Ganzkörperszintigramm verwendet, welches es ermöglicht, bereits kleine Tumoren beziehungsweise deren Metastasen in allen Körperregionen darzustellen, die mittels bisheriger Bildgebung nicht detektierbar waren. Im Umkehrschluss ergibt sich aus einem positiven Scan-Ergebnis die Option, ein Ansprechen des Tumors auf den Einsatz von Somatostatin-Analoga abzuschätzen, da nach erfolgreicher Szintigraphie von einem hohen Besatz der Zielzellen mit SSTR auszugehen ist (Khan et al. 2008, Lamberts et al. 2002). Ein moderneres und in Bezug auf die Tumorlokalisation präziseres Verfahren stellt eine PET/CT dar, welche mit  $Ga^{68}$ -markiertem DOTATOC/ DOTANOC/ DOTATATE durchgeführt wird.

Zusammenfassend lässt sich demnach feststellen, dass das Vorkommen von Somatostatin-Rezeptoren in Tumorzellen sowie die Entwicklung von potenten Somatostatin-Analoga die Möglichkeiten eröffnet, SSTR-tragende Zellen bildgebend aufzuspüren, das Tumorstadium

und eine hormonale Hypersekretion gezielt durch eine pharmakologische Rezeptoraktivierung zu kontrollieren oder radiochemische Therapieansätze in der Onkologie weiter zu verfolgen (Lamberts et al. 2002).

## 2.2 Der Chemokin-Rezeptor CXCR4

Ebenso wie die Somatostatin-Rezeptoren gehören auch die Chemokin-Rezeptoren zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Sie binden eine Vielzahl verschiedener Liganden (Zlotnik und Yoshie 2012). Der in der vorliegenden Arbeit untersuchte CXCR4 stellt einen Vertreter dieser Rezeptorfamilie dar. Er wird ubiquitär von multiplen Zelltypen des Organismus exprimiert und bindet als Liganden überwiegend das Chemokin SDF-1 (stromal cell-derived factor 1; CXCL12) (Bernhagen et al. 2007). So konnte der CXCR4 unter anderem in der Zellmembran hämatopoetischer Stamm- und Vorläuferzellen nachgewiesen werden. Auch bei Vorläuferzellen anderer Gewebe oder Organe, wie der Leber, der Skelettmuskel-, Endothel- und Herzmuskelzellen, der Niere oder des Nervensystems, fand sich der CXCR4 membranständig exprimiert (Lazarini et al. 2003, Ratajczak et al. 2006). Die elementaren Funktionen dieses Rezeptors zeigen sich bei CXCR4-knock-out-Mäusen. So sterben diese Mäuse zum Großteil bereits in utero oder überleben die Geburt nur für kurze Zeit. In vielen Organsystemen dieser Mäuse können Fehlbildungen nachgewiesen werden. Häufig finden sich Entwicklungsstörungen des Herzens, der Großhirnrinde oder des Hippocampus. Darüber hinaus kann eine starke Reduzierung von myeloiden Vorläuferzellen im Knochenmark der CXCR4-defizienten Mäuse festgestellt werden (Zou et al. 1998). Auch die Vaskularisierung des Gastrointestinaltraktes (Tachibana et al. 1998) sowie die Entwicklung der Extremitätenmuskulatur sind fehlerhaft. Darüber hinaus ist bei Tieren mit einer Inaktivierung des CXCR4 auch eine gestörte Innervation verschiedenster Zielgewebe durch den Verlust von Neuronen in den Spinalganglien festzustellen (Odemis et al. 2005). Vergleichbare Defekte treten auch bei Mäusen auf, die zwar den CXCR4, dafür aber keinen SDF-1 exprimieren. Somit lag die Überlegung nahe, dass die Interaktion des Rezeptors überwiegend mit nur einem Chemokin-Liganden, nämlich dem SDF-1, stattfindet (Ma et al. 1998, Nagasawa et al. 1996, Wong und Korz 2008).

Viele Untersuchungen im Zusammenhang mit dem CXCR4 und dem SDF-1 beziehen sich auf die Hämatopoese. Beim sogenannten „Homing“ von Vorläuferzellen aus der Peripherie ins Knochenmark, wird die Migration entsprechender Zellen physiologischerweise in Richtung eines SDF-1-Gradienten gesteuert. Um diesen Prozess zum Beispiel im Rahmen einer Knochenmarkstransplantation umzukehren, ist die Gabe von GCSF (granulozyte colony-stimulating factor) notwendig. Dieser führt zur verstärkten Bildung von Proteasen im

Knochenmark, welche in der Folge unter anderem SDF-1 und den N-Terminus von CXCR4 spalten. Erst hierdurch ist die Mobilisation von Vorläuferzellen aus dem Knochenmark ins Blut überhaupt möglich (Juarez und Bendall 2004, Teicher und Fricker 2010). Auch nicht-hämatopoetische Vorläuferzellen scheinen nach Verletzungen bestimmter Organe nur unter Beteiligung von CXCR4 und SDF-1 mobilisierbar zu sein (Cardona et al. 2008, Ratajczak et al. 2006).

Neben zahlreichen physiologischen Funktionen spielt der CXCR4 auch im Rahmen pathologischer Prozesse eine entscheidende Rolle. So fördert der CXCR4 als Co-Rezeptor den Eintritt von HI-Viren in CD4-positive Lymphozyten (Oberlin et al. 1996).

Beim autosomal-dominant vererbten WHIM-Syndrom (Warzen-Hypogammaglobulinämie-Immundefizienz-Myelokathexis) besteht eine Mutation des CXCR4-Rezeptors mit der Folge einer Daueraktivierung (Hernandez et al. 2003). Die betroffenen Patienten leiden unter einer erhöhten Anfälligkeit für das humane Papillomavirus (HPV), erkranken häufiger an Gebärmutterhalskrebs und bilden Warzen am ganzen Körper aus. Des Weiteren ist die Anzahl an neutrophilen Granulozyten und B-Lymphozyten im Blut verringert, wodurch es bei den Erkrankten zu einer erhöhten Anfälligkeit für bakterielle Infektionen kommt (Kawai und Malech 2009).

Der CXCR4 ist einer der Chemokinrezeptoren, die bei Krebserkrankungen verstärkt exprimiert werden. Durch die Interaktion zwischen dem Rezeptor und seinem Liganden SDF1 werden Metastasierungsprozesse beeinflusst (Wong und Korz 2008). Es ist interessant, dass der CXCR4 von vielen verschiedenen Tumorarten exprimiert wird, im angrenzenden normalen Gewebe er jedoch nur wenig vorhanden ist. Das könnte auf Veränderungen des Gefäßsystems oder der Sauerstoffverfügbarkeit im Bereich des Tumors zurückzuführen sein (Furusato et al. 2010). Bei über 20 verschiedenen Typen von Neoplasien wird eine gesteigerte Expression des CXCR4 beschrieben, wodurch eine erhöhte Empfindlichkeit der Tumorzellen gegenüber SDF-1-Gradienten in entfernten Geweben bedingt wird. Dementsprechend sind Gewebe beziehungsweise Organe mit einem physiologisch hohen SDF-1-Level, wie die Leber, die Lunge, die Lymphknoten oder das Knochenmark, auch jene, wohin zuerst eine Metastasierung stattfindet (Drury et al. 2011).

Die Rolle der SDF-1-CXCR4-Achse hinsichtlich der Regulation des Migrationsverhaltens von Tumorzellen scheint Gemeinsamkeiten mit der von normalen Stammzellen zu haben. Vor diesem Hintergrund wird deutlich, dass es sich hierbei um komplexe Prozesse handelt, bei denen verschiedene Schritte aufeinander aufbauen (Furusato et al. 2010). Eine Vielzahl von Studien konnte bestätigen, dass die Aktivierung des CXCR4 zur direkten, invasiven Migration von Krebszellen entlang eines SDF-1-Gradienten führt (Balkwill 2004, Juarez und Bendall 2004, Teicher und Fricker 2010). Entsprechend ist in der Blockade des CXCR4 durch

Antagonisten ein wertvolles Werkzeug zu sehen, welches Metastasierungsprozesse unterbinden könnte.

### **2.3 Der Proliferationsindikator Ki-67**

Das Ki-67-Antigen ist ein nukleäres Protein, das mit dem monoklonalen Antikörper MIB-1 spezifisch nachgewiesen werden kann und erstmals 1983 von Gerdes et al. beschrieben wurde (Gerdes et al. 1984b). Die Autoren untersuchten die Funktion von Ki-67 anhand peripherer Lymphozyten und Makrophagen. Hierzu wurden radioaktiv markierte Nukleoside als Marker für eine Proliferation in die Zellen eingebracht. Ihr Einbau in neu synthetisierte DNA-Fragmente deutet auf ein Wachstum der Zelle insgesamt hin. Vergleicht man die Ergebnisse mit dem gleichzeitigen Vorliegen von Ki-67, so lässt sich ein direkter Bezug zwischen der Zellproliferation und einer Ki-67 Expression nachweisen.

In der Routinepathologie wird das Ki-67-Antigen seither als „Proliferationsmarker“ eingesetzt, um die Wachstumsfraktion und das Grading in menschlichen Tumoren zu bestimmen (Schluter et al. 1993). Das Ki-67-Antigen wird nur während der aktiven Phasen des Zellzyklus (G1-, S-, G2- und M-Phase) exprimiert und ist in ruhenden Zellen der G0-Phase nicht nachweisbar (Gerdes et al. 1984b). Es wird sofort abgebaut, sobald die Zelle in die Ruhephase übergeht (Scholzen und Gerdes 2000).

Im Verlauf des Zellzyklus verändert sich die Lokalisation des Ki-67 innerhalb des Zellkerns. In der Interphase ist das Protein hauptsächlich im Nukleolus lokalisiert (Kill 1996, Starborg et al. 1996). Mit dem Eintritt der Zelle in die Prophase erfolgt die Umverteilung des Ki-67-Proteins auf die Oberfläche der kondensierten Chromosomen (Gerdes et al. 1984b, Kill 1996, Starborg et al. 1996). In der Telophase entstehen wieder neue Nukleoli, sodass das Ki-67 wieder zurückverlagert wird. Obwohl der konkrete Rückverlagerungszeitpunkt nicht eindeutig belegt ist, kann das Ki-67 spätestens in der frühen G1-Phase wieder im Nukleolus nachgewiesen werden (Bridger et al. 1998, Endl und Gerdes 2000).

Der genaue molekulare Wirkmechanismus des Ki-67-Proteins ist bis heute noch nicht abschließend geklärt. Berücksichtigt man jedoch den Molekülaufbau, die Interaktionen mit anderen Proteinen sowie die Art der Modifizierbarkeit von Ki-67 durch Proteinkinasen, lässt sich schlussfolgern, dass das Ki-67 Bestandteil des regulatorischen Proteinnetzwerkes ist, welches den Zellzyklus steuert (Endl und Gerdes 2000).

Eine essenzielle Beteiligung scheint das Ki-67-Protein ebenfalls im Rahmen der Zellproliferation zu haben (Schluter et al. 1993). Da proliferierendes Gewebe Ki-67 exprimiert, sind monoklonale Antikörper gegen das Protein bei der Beurteilung der Zellproliferation unverzichtbar geworden. Auch als diagnostischer und prognostischer Marker bei Malignomen

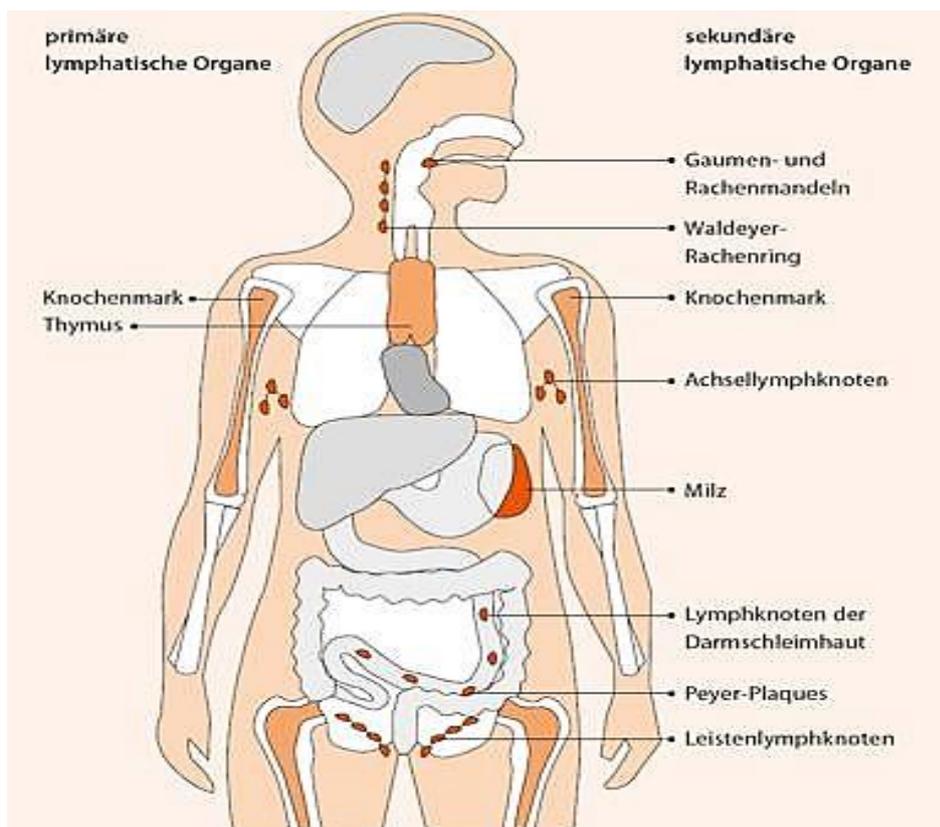
verschiedenster Entitäten finden diese regelhaft Anwendung (Gerdes et al. 1984a, Schwarting 1993). Allerdings bietet das Ki-67 aktuell keine Möglichkeiten für eine therapeutische Intervention, hat also bislang nur deskriptiven Wert (Michalides 2002).

## 2.4 Das lymphatische System

### Die primären und sekundären lymphatischen Organe

Als primäre lymphatische Organe bezeichnet man diejenigen, in welchen die primäre Entwicklung lymphatischer Zellen lokalisiert ist. Hierbei handelt es sich zum einen um das Knochenmark und zum anderen um den Thymus (Vorob'Eva 1961).

Die Lymphknoten, die Milz und alle anderen extranodalen lymphatischen Gewebe, wie zum Beispiel das mukosa-assoziierte lymphatische Gewebe der Schleimhäute, werden als sekundäre bzw. sekundär besiedelte lymphatische Organe zusammengefasst.



**Abbildung 5:** Die primären und sekundären lymphatischen Organe (modifiziert nach: [http://www.bvpta\\_fortbildung\\_kurse/Immunsystem/images/modul1/lymphatische-organe.jpg](http://www.bvpta_fortbildung_kurse/Immunsystem/images/modul1/lymphatische-organe.jpg))

Zellen, die aus den Primärorganen des lymphatischen Systems ausgewandert sind, besiedeln als Vorläuferzellen unter anderem die Lymphknoten, um sich hier weiter zu differenzieren. Ein Lymphknoten ist immer nach demselben Prinzip aufgebaut und besteht aus der B-Zone - sie enthält die Primär- und Sekundärfollikel -, der T-Zone, der Interfollikulärzone und der Pulpa. In den Follikeln der B-Zone netzwerkartig angeordnete dendritische Zellen präsentieren Antigene an Immunglobulin-rezeptor-tragende B-Lymphozyten, welche sich daraufhin weiter differenzieren und schließlich einen schmalen Follikelmantel aus reifen B-Zellen ausbilden (Coupland et al. 2008). Die T-Zone wird hauptsächlich aus kleinen reifen T-Zellen und wenigen dendritischen Zellen gebildet. Sie stellt gemeinsam mit der Pulpa eine Art Filtersystem dar. Epitheloide Venolen münden in die T-Zone und schwemmen systemisch zirkulierende Lymphozyten ein, welche über ein Geflecht aus Blut- und Lymphgefäßen der Pulpa in die efferenten Lymphbahnen wieder abfließen (Böcker et al. 2012).

### **Die Milz**

Das Parenchym der Milz besteht aus einem weit verzweigten Gefäßsystem, welches von lymphatischen Kompartimenten durchsetzt ist. Mehr als drei Viertel des Milzvolumens bestehen aus der kapillarreichen roten Pulpa. Nicht die Milz als Ganzes, sondern genau genommen nur die weiße Pulpa stellt das sekundär lymphatische Organ dar. Im Keimzentrum der weißen Pulpa finden sich B- und T-Zonen. Als Eintrittspforte für Lymphozyten in die weiße Pulpa wird das Keimzentrum von einer Marginalzone umsäumt. Auch die Milz kann im weitesten Sinne als Filtersystem bezeichnet werden (Böcker et al. 2012).

### **Das mukosa-assoziierte lymphatische Gewebe**

Das MALT-System (mucosa associated lymphoid tissue) ist das lymphatische Gewebe der Schleimhäute, welches durch Einwanderung von Lymphozyten nach Antigenkontakt an der Schleimhautoberfläche entsteht, und somit in jedem schleimhaut-tragenden Organ mit Antigenkontakt vorkommen kann. Während physiologischerweise im Intestinaltrakt immer Zellen des MALT-Systems lokalisiert sind, befinden sich beispielsweise im Magen keine primär lymphatischen Gewebe und bilden sich erst aus, nachdem ein exogener Antigen-Stimulus (z.B. durch *Helicobacter pylori*) über einen längeren Zeitraum bestanden hat (Borsch 1984).

## 2.5 Klassifikation der Lymphome

Für die meisten Tumorerkrankungen des Menschen existieren international einheitliche Klassifikationsmodelle, welche die essenzielle Grundlage für die Diagnose, die Therapie und die Prognoseabschätzung darstellen. Für maligne Lymphome traf dies jedoch lange Zeit nicht zu (Hiddemann et al. 2005).

### Vorläufersysteme

Medizinhistorisch wurden Lymphome weltweit lange Zeit ganz variabel klassifiziert, sodass bis in die jüngste Vergangenheit hinein kein universal einheitliches Modell zur Verfügung stand. Zunächst auf ausschließlich histomorphologischen Kriterien basierend, gelang es im Jahr 1966 mit der Rappaport-Klassifikation eine signifikante und umfassende Einteilung der Lymphome vorzunehmen, welche erstmals eine Differenzierung zwischen Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphomen vorsah. Da sich hieraus klinisch vor allem relevante prognostische Aussagen ableiten ließen, stellte dieses Klassifikationsmodell zum damaligen Zeitpunkt einen erheblichen Fortschritt dar (Byrne 1977).

Im weiteren Verlauf wurde die Rappaport-Klassifikation jedoch zunehmend als unzeitgemäß in Frage gestellt, da der Erkenntnisgewinn um die Biologie von Lymphozyten und das Immunsystem im Allgemeinen differenziertere Einteilungsmöglichkeiten notwendig machte (Kirchner und Oppenheim 1972, Masuzawa et al. 1973, Parker 1975, Shortman et al. 1972). Unter der Leitung von Prof. Dr. K. Lennert begann eine deutsche Arbeitsgruppe damit, maligne Lymphome nach neuen immunologischen Methoden zu charakterisieren, indem eine CD-Rezeptor-basierte Unterscheidung vorgenommen wurde. Parallel hierzu arbeiteten auch Wissenschaftler in den USA daran, die Typisierung von malignen Lymphomen voranzutreiben. In Deutschland führten die neuen Erkenntnisse zur Kiel-Klassifikation, welche die Entitäten histomorphologisch und immunphänotypisch untergliederte (Lennert 1975). Allerdings beschränkte sich deren Anwendung trotz mehrmaliger Aktualisierungen überwiegend auf den deutschsprachigen europäischen Raum (Brittinger 1978, Hiddemann et al. 2005, Stansfeld et al. 1988).

Unter Bezugnahme auf ähnliche Kriterien wie die der Kiel-Klassifikation hielt in den USA die Lukes-Collins-Klassifikation Einzug in den klinischen Gebrauch (Lukes und Collins 1974, Uppenkamp und Feller 2002). Hier versuchte man mit der „International Working Formulation“ die neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse zu den einzelnen Entitäten nach klinischem Verlauf zu differenzieren, um eine Übersetzung der abstrakten Forschungsergebnisse in klinisch relevante Leitlinien zur Lymphomtherapie zu erzielen. Dazu gliederte man die

verschiedenen Lymphome nach drei verschiedenen Graden, welche sich an der durchschnittlichen Lebenserwartung orientierten (Cohen 1983, Montserrat und Campo 1995). Die Widersprüchlichkeit der weltweit verschiedenen einzelnen Klassifikationen und Leitlinien, welche zum Teil miteinander im Wettbewerb standen, machte eine internationale Vergleichbarkeit von klinischen Studien beinahe unmöglich. Somit war die Option zur Schaffung global einheitlicher Diagnosekriterien, Risikostratifizierungen und Therapieempfehlungen beträchtlich eingeschränkt.

Erst Anfang der 1990-er Jahre formierte sich aus einem Kreis von Pathologen und klinisch tätigen Ärzten die „International Lymphoma Study Group“, welche die bis dahin bestehenden Erkenntnisse in einer zusammenfassenden Klassifikation vereinigte. Dazu bezog man morphologische, zytologische, klinische, immunphänotypische und molekulargenetische Eigenschaften der Lymphomentitäten ein, um daraufhin im Jahr 1994 die „Revised European-American Lymphoma Classification“, kurz REAL-Klassifikation, zu veröffentlichen (Harris et al. 1994, Niermann et al. 2008, Norton 1996, Stein und Hummel 2007, Uppenkamp und Feller 2002).

### **WHO-Klassifikation**

Die zuletzt im Jahr 2008 aktualisierte und aktuell gültige WHO-Klassifikation der malignen Lymphome ist aus der REAL-Klassifikation hervorgegangen und stellt damit eine aktualisierte Version dieser dar, weil sie das gesamte Spektrum der Hämatopathologie abdeckt (Cogliatti und Schmid 2002, Jaffe 2009). Die Einteilung gemäß den Richtlinien der WHO stellt sich zur Aufgabe, die Gesamtheit aller für die einzelnen Lymphome charakteristischen klinischen, morphologischen und genetischen Eigenschaften zu einzelnen Entitäten zusammenzufassen, um eine klare Abgrenzbarkeit zwischen den differenten Krankheitsbildern zu ermöglichen. Die WHO-Klassifikation fand zügig weltweite Akzeptanz, welche nicht nur auf wissenschaftlichem Interesse beruhte, sondern sich vor allem auch darin begründete, dass Studien zu Lymphomentitäten auf internationaler Ebene endlich miteinander vergleichbar wurden (Hiddemann et al. 2005).

Das Prinzip der WHO-Klassifikation findet auf alle Neoplasien Anwendung, die aus lymphatischen Zellen hervorgehen, sodass lymphatische Leukämien, multiple Myelome, Natürliche-Killerzell-Tumoren und das Hodgkin-Lymphom mit einzuschließen sind (Jaffe 2009). Es umfasst sowohl primär nodale als auch primär extranodale Lymphome (Campo et al. 2011, Hiddemann et al. 2005). Die Non-Hodgkin-Lymphome werden unterteilt, indem zum einen die Linienzugehörigkeit zu B-Zellen, T-Zellen oder NK-Zellen bestimmt wird. Zum anderen werden Differenzierungs- und Reifungsgrad festgelegt (Hiddemann et al. 2005). Aus

den vielen verschiedenen Differenzierungs- und Funktionsvarianten der Lymphozyten ergibt sich die große Komplexität der Klassifikation.

Um die Lymphomentitäten klinisch und pathologisch genauer zu definieren, werden gemäß der aktualisierten WHO-Klassifikation von 2008 allgemeine Kriterien herangezogen, die sich auf das histozytologische Bild, die zelluläre Herkunft, den Manifestationsort des Lymphoms, den Malignitätsgrad und das Wachstumsmuster, die Zusammensetzung des Mikromilieus, den Immunphänotyp oder auf typische genetische Veränderungen beziehen. Darüber hinaus werden noch das klinische Erscheinungsbild und die Assoziation mit anderen Krankheiten berücksichtigt (Hiddemann et al. 2005).

## **2.6 Die malignen Lymphome**

Unter dem Begriff „maligne Lymphome“ werden neoplastische Wachstumsprozesse lymphatischer Zellen zusammengefasst. Diese sind in den verschiedenen B- und T-Zell-Kompartimenten der primären, sekundären und sekundär besiedelten Organe lokalisiert. Wie bereits aus dem vorherigen Kapitel hervorgeht, sieht die WHO-Klassifikation eine grundsätzliche Unterteilung in Hodgkin (HL)- und Non-Hodgkin-Lymphome (NHL) vor (Hiddemann et al. 2005). Zur Unterscheidung beider Entitäten wird die zytomorphologische Auswertung der Infiltrate herangezogen. Diese zeigt beim Hodgkin-Lymphom eine Dominanz von nichtneoplastischem Begleitinfiltrat, bestehend aus Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen und eosinophilen Granulozyten, welche einer nur geringen Anzahl von Tumorzellen gegenüberstehen. Genau umgekehrt verhält es sich beim Non-Hodgkin-Lymphom, bei dem der überwiegende Prozentsatz der Zellen im Infiltrat als Tumorzellen identifizierbar ist (Campo et al. 2011).

Bezogen auf den europäischen Raum liegt die Prävalenz für maligne Lymphome bei sechs bis neun Prozent, wobei es sich in der Mehrheit der Fälle um Non-Hodgkin-Lymphome und hier im Speziellen mehrheitlich um solche der B-Zell-Reihe handelt (Böcker et al. 2012). Eine schmerzlose Schwellung von Lymphknoten kann bei ungefähr zwei Drittel der Patienten mit malignen Lymphomen beobachtet werden. Die B-Symptomatik - Nachtschweiß, Fieber ( $>38^{\circ}\text{C}$ ) und Gewichtsverlust ( $>10$  Prozent innerhalb von sechs Monaten) - findet sich häufiger bei Patienten mit Hodgkin-Lymphomen, wohingegen ein mesenterialer Befall von Lymphknoten oder ein Befall des Waldeyer-Rachenrings eher mit Non-Hodgkin-Lymphomen assoziiert ist (Böcker et al. 2012).

Der pathogenetische Mechanismus lymphatischer Neoplasien von der physiologisch normalen Ausgangszelle bis hin zur Ausbildung manifester Neubildungen zeigt, dass die Kopplung mehrerer Ereignisse ausschlaggebend ist. Vorangehende chromosomale Veränderungen der

betroffenen Zellen können verschiedene tumorbegünstigende Auswirkungen nach sich ziehen. Beispielsweise können diese genetischen Veränderungen bedingen, dass neue oder veränderte Proteine exprimiert werden oder die Regulation des normalen Proteinhaushalts der Zelle gestört wird. In der Folge kann dies dazu führen, dass sich klinische Symptome, wie zum Beispiel Fieber, manifestieren, das intrazelluläre Mikromilieu sich verändert oder, dass ein überdurchschnittliches Wachstum der Zelle getriggert wird. An dieser Stelle gewinnt die Forschung über zukünftige Therapiemethoden besonders an Bedeutung, da mit wachstumsregulierenden Substanzen in die Proliferationsprozesse der malignen Lymphome eingegriffen werden kann (Böcker et al. 2012).

## **2.6.1 Das Hodgkin-Lymphom**

Der englische Arzt Thomas Hodgkin diagnostizierte bei mehreren seiner Patienten massive Schwellungen der Lymphknoten und eine Vergrößerung der Milz. Seine Beobachtungen beschrieb er im Jahr 1832 in seiner Arbeit „On some morbid appearances of the absorbent glands and spleen“, in welcher er die Krankheitsentstehung als autonomen lymphatischen Prozess identifizierte und von einer alternativ möglichen infektiologischen Pathogenese abgrenzte. Seine Theorie blieb jedoch auf Grund der schlechten Isolierbarkeit der typischen Hodgkin-/Reed-Sternberg-Zellen (HRS-Zellen, benannt nach den Pathologen Carl Sternberg und Dorothy Reed) aus Lymphomen lange Zeit umstritten. Erst als es im Jahr 1978 gelang, Sternberg-Reed-Riesenzellen in vitro zu kultivieren, war der Grundstein für Studien auf zellbiologischer, zytogenetischer und immunologischer Ebene gelegt. Hierdurch war es möglich, B-Lymphozyten des Keimzentrums eindeutig als physiologische Vorläuferzellen der HRS-Zellen zu identifizieren (Hiddemann et al. 2005, Kuppers et al. 1994, Kuppers und Hansmann 2005, Miyoshi et al. 2005).

Basierend auf den jahrzehntelang uneinheitlichen Klassifikationsmethoden existieren unterschiedliche Fachtermini, die synonym verwendet alle das Hodgkin-Lymphom beschreiben (Morbus Hodgkin, Lymphogranulomatose) (Böcker et al. 2012).

### **2.6.1.1 Morphologie und Pathogenese**

Charakteristikum für das Hodgkin-Lymphom sind die bereits erwähnten Hodgkin-Reed-Sternberg-Zellen, welche als monoklonale B-Lymphozyten aus den Keimzentren der Lymphknoten hervorgehen und zum einen als mehrkernige Sternberg-Riesenzellen, zum anderen als einkernige Hodgkin-Zellen zirka ein Prozent aller Zellen des Hodgkin-befallenen

Lymphknotens repräsentieren. Den Rest stellt ein inflammatorisches Infiltrat, bestehend aus CD4-positiven Lymphozyten, Monozyten, eosinophilen Granulozyten sowie großen Fibroblasten. Die morphologisch weitestgehend einheitlich erscheinenden HRS-Zellen selbst sind immunhistochemisch mittels der Rezeptoren CD30 und CD15 markierbar (Dinand et al. 2008, Foyil und Bartlett 2010, Stein und Diehl 2014).

Vier Varianten des klassischen Hodgkin-Lymphoms (zirka 93 Prozent der Fälle) werden von dem nodulären lymphozytenprädominanten Hodgkin-Lymphom (zirka sieben Prozent der Fälle) wegen seiner abweichenden Prognose und Genese (Synonym: noduläres Paragranulom) abgegrenzt. Die typische Expression von CD30 und CD15 fehlt und auch in der zytomorphologischen Auswertung finden sich charakteristische Zellen des klassischen Hodgkin Lymphoms nicht. Allerdings stellen sich im zytologischen Bild sogenannte LP-Zellen („lymphocyte predominant cells“) oder „Popcorn“-Zellen dar, welche CD20- und CD79a-positiv sind (Aldred et al. 2008, Browne et al. 2003, Gerber et al. 2015, Liu et al. 2015, Rassidakis et al. 2002). Das noduläre Paragranulom kann im Unterschied zum klassischen Hodgkin-Lymphom Immunglobulingene exprimieren (Campo et al. 2011).

Histologisch lassen sich die vier Subtypen des klassischen Hodgkin-Lymphoms anhand spezifischer Merkmale differenzieren. Sie unterscheiden sich in der Anzahl der Sternberg-Reed-Zellen, in ihrem Wachstumsmuster sowie durch die Zusammensetzung des begleitenden Zellinfiltrats, wie in **Tabelle 2** dargestellt ist (Takenaka und Konda 1983).

**Tabelle 2:** Typen des Hodgkin-Lymphoms (modifiziert nach Böcker et al. 2012)  
*HL = Hodgkin-Lymphom; LK= Lymphknoten*

Hodgkin-Subtyp	Zusammensetzung des Infiltrats					bevorzugte Lymphknotenregion	bevorzugtes Alter
	Sternberg-Reed-Zellen	Lymphozyten	neutrophile Granulozyten	eosinophile Granulozyten	Nekrosen		
<b>nodulärlymphozyten-prädominantes Hodgkin Lymphom</b>	+	++++	+	(+)	-	zervikal	30-60 Jahre
<b>klassisches HL, nodulär sklerosierend</b>	++	++	+	+	+	mediastinal, supraklavikulär	15-30 Jahre
<b>klassisches HL, gemischtzellig</b>	+++	+++	+	+	-	zervikal und abdominal	30-60 Jahre
<b>klassisches HL, lymphozytenreich</b>	++	+++	-	-	-	periphere LK	30-60 Jahre
<b>klassisches HL, lymphozytenarm</b>	++++	+	-	-	++	abdominal	60-70 Jahre

Diese und andere immunhistochemische sowie molekulargenetische Analysen beweisen, dass es sich bei den HRS-Zellen um B-zelluläre, lymphatische Zellen handelt und somit das Hodgkin-Lymphom als echtes Lymphom und nicht, wie ursprünglich angenommen, als atypischer entzündlicher Prozess infektiologischer Pathogenese bezeichnet werden kann (Hiddemann et al. 2005).

Die detaillierten pathogenetischen Prozesse, die zur Entstehung eines Hodgkin-Lymphoms führen, sind bislang nicht aufgeklärt. Allerdings können in zirka fünfzig Prozent der Tumorfälle innerhalb der Tumorzellen Epstein-Barr-Viren mit ungewöhnlich hohem Titer nachgewiesen werden, sodass man hier im Augenblick Kausalität vermutet (Al-Salam et al. 2008, Di Napoli et al. 2013). Auch gilt eine Infektion mit dem HI-Virus als risikosteigernder Faktor (Biggar et al. 2006). Ebenso nimmt man an, dass sich eine immunsuppressive Therapie oder der Kontakt mit toxischen Substanzen, wie z.B. Holzschutzmitteln, krankheitsbegünstigend auswirken. Mit einer Inzidenz von drei Neuerkrankungen pro 100.000 Personen jährlich, weist das Hodgkin-Lymphom in Europa und den USA zwei Häufigkeitsgipfel um das 30. und 60. Lebensjahr auf (Campo et al. 2011, Canellos und Mauch 2010, Eich et al. 2010).

### 2.6.1.2 Klinische Stadien und Prognose

Die oben aufgeführten Unterscheidungskriterien erhalten vor allem im Erscheinungsbild und im Verlauf der Erkrankung eine klinische Relevanz. Häufig fällt zunächst eine fulminant zunehmende Schwellung von Lymphknoten auf, da diese den primären Manifestationsort des Hodgkin-Lymphoms darstellen. In ungefähr 95 Prozent der Fälle beginnt die Erkrankung in Lymphknoten oberhalb des Zwerchfells, meistens im Bereich des Kopfes und des Halses (zirka 60 Prozent der Fälle). Anfänglich breitet sich die Krankheit lymphogen aus, später aber auch hämatogen, woraufhin es zum Sekundärbefall von Milz, Knochenmark oder Leber kommen kann (Doocey et al. 2005, Herold et al. 2013, Jackson et al. 2010). Insgesamt zeigen Hodgkin-Lymphome eine eher günstige Prognose. So liegt die rezidivfreie 5-Jahres-Überlebensrate je nach Quelle zwischen zirka 70 und 80 Prozent, wobei sich die noduläre lymphozytenprädominante Form mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von zirka 95 Prozent als prognostisch am günstigsten abhebt (Böcker et al. 2012).

Um das Prognoseprofil des Patienten erstellen zu können, bedient man sich der Ann-Arbor-Stadien-Einteilung gemäß der Darstellung in **Tabelle 3**, welche sich an der Lokalisation der bereits befallenen Lymphknoten des Organismus orientiert (Rosenberg 1977). Zusätzlich wird auch die klinische Symptomatik als relevanter Faktor für die Abschätzung einer Prognose mit einbezogen. Hierbei unterscheidet man die Patienten nach Kategorie A, ohne, und Kategorie B, mit B-Symptomatik (Nachtschweiß, Fieber, Gewichtsverlust) (Böcker et al. 2012, Herold et al. 2013). Letztere tritt vorzugsweise in den Stadien III und IV auf und verschlechtert die Prognose signifikant (Zwitter et al. 1987).

Insgesamt sprechen weiterhin ein hohes Alter, das männliche Geschlecht, eine Tumorgroße von größer als zehn Zentimetern, mehr als drei befallene Lymphknotenregionen sowie eine erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit, eine Anämie und ein niedriger Serumalbumingehalt für eine eher schlechte Prognose (Hiddemann et al. 2005).

**Tabelle 3:** Stadieneinteilung nach der Ann-Arbor-Klassifikation beim Hodgkin-Lymphom  
(modifiziert nach Böcker et al. 2012)

Stadium I	Befall einer Lymphknotenregion oder einer extralymphatischen Lokalisation
Stadium II	Befall von zwei benachbarten Lymphknotenregionen auf einer Seite des Zwerchfells, zusätzlicher Befall einer extralymphatischen Lokalisation
Stadium III	Befall von Lymphknotenstationen oder extralymphatischen Lokalisationen ober- und unterhalb des Zwerchfells
Stadium IV	disseminierter extralymphatischer Befall mit oder ohne Lymphknotenbefall

### 2.6.1.3 Klinik und Diagnose

Neben allgemeinen Symptomen wie der B-Symptomatik, Leistungsminderung, eventuell auftretendem Juckreiz oder lokalisierten Lymphknotenschmerzen nach Alkoholgenuss findet sich zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei annähernd 90 Prozent der Patienten eine schmerzlose Vergrößerung von Lymphknoten. Diese können einen Durchmesser von mehr als zehn Zentimetern erreichen, indem mehrere einzelne Lymphknoten miteinander verschmelzen (Herold et al. 2013).

Eine Schwellung mediastinaler Lymphknoten ist häufig mit einem Reizhusten vergesellschaftet. In zirka 20 Prozent der Fälle sind Vergrößerungen von Milz und/oder Leber feststellbar. Auch können neurologische Krankheitsbilder oder Störungen im Hormonhaushalt des Patienten einen Hinweis auf die Diagnose liefern (Nakayama-Ichijama et al. 2010).

Da viele der beschriebenen Symptome differentialdiagnostisch auch anderen Pathologien als dem Hodgkin-Lymphom zugeordnet werden können, ist es unerlässlich, die Verdachtsdiagnose vor Therapiebeginn histologisch zu sichern. Weiterhin ist es für das Tumor-Staging essenziell, alle Manifestationsorte zu erfassen, was mittels moderner Bildgebungsverfahren realisiert wird.

### 2.6.1.4 Therapie

Der diagnostisch gesicherte klinische Fortschritt der Erkrankung und die Klassifizierung des Krankheitsstadiums nach Ann-Arbor wirken sich nicht nur auf die individuelle Prognose,

sondern auch erheblich auf die anzuwendende Therapie aus. Hierbei gelten die Stadien I und II als frühe Stadien und bedingen eine andere Therapie als die fortgeschrittenen Stadien III und IV (Hiddemann et al. 2005).

In den frühen Stadien der Erkrankung kombiniert man eine milde Chemotherapie mit einer Involved-Field-(IF)-Bestrahlung. Hierbei handelt es sich um eine Großfeldtechnik, bei der ein sogenanntes Mantelfeld und ein „umgekehrtes Y“ (supradiaphragmales und infradiaphragmales Feld) bestrahlt werden (Eich et al. 2010, Nogova et al. 2005). Es wird also nicht nur der via Bildgebungsverfahren exakt ermittelte primär befallene Abschnitt, sondern auch die angrenzenden anatomischen Strukturen bestrahlt, wobei standardmäßig eine Gesamtdosis von mehr als 30 bis 40 Gy selten überschritten wird (Hiddemann et al. 2005).

Kombiniert wird die Strahlentherapie in den frühen Stadien des Hodgkin-Lymphoms mit einer Polychemotherapie nach dem ABVD-Schema (Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin) (Bonadonna et al. 1975, Canellos und Mauch 2010, Josting et al. 2005). Dieses Konzept verfolgt im Wesentlichen drei Ziele. Erstens haben Studien gezeigt, dass sich mit der kombinierten Therapie das Rezidivrisiko senken lässt, welches bei alleiniger Strahlentherapie trotz einer ähnlichen Heilungsrate wie in Verbindung mit einer Chemotherapie ein Maß von zirka 25 Prozent erreicht. Zum Zweiten wollte man die früher häufig durchgeführten Staging-Laparotomien vermeiden. Drittes Kernziel der Kombinationstherapie ist es, die Bestrahlungsvolumina und -dosen zu reduzieren, um die bestrahlungsinduzierte Toxizität zu senken (Eich et al. 2010, Hiddemann et al. 2005, Nogova et al. 2005).

Die Therapie der mittleren Stadien des Hodgkin-Lymphoms erfolgt aktuell standardmäßig mit der Abfolge zweier Zyklen nach dem BEACOPP-Schema eskaliert, gefolgt von zwei weiteren Zyklen nach dem ABVD-Schema. Im Anschluss wird auch hier eine IF-Radiotherapie mit einer Dosis von 30 Gy durchgeführt (Ballova et al. 2005, Klimm et al. 2005).

Handelt es sich um ein Hodgkin-Lymphom fortgeschrittenen Stadiums erreichen zirka 60 Prozent der Patienten eine langfristige Krankheitsfreiheit, wenn sie mit der aktuellen Standard-Therapie behandelt werden. Diese sieht zunächst acht Zyklen nach dem BEACOPP-Schema (oder bei Patienten älter als 60 Jahre alternativ nach dem ABVD-Schema) vor, welches sich als weniger toxisch für diese Patientengruppe erwiesen hat. Resttumoren werden im Anschluss gezielt bestrahlt (Ballova et al. 2005, Klimm et al. 2005). Um die Therapie aller Stadien des Hodgkin-Lymphoms weiter zu optimieren, werden alternative Therapieprotokolle derzeit intensiv im Rahmen von Studien evaluiert.

## 2.6.2 Das Non-Hodgkin-Lymphom

Definitionsgemäß kann das Non-Hodgkin-Lymphom als maligne klonale Neoplasie verstanden werden, welche von B- oder T-Lymphozyten des lymphatischen Gewebes ihren Ausgang nimmt (Herold et al. 2013). Da das Non-Hodgkin-Lymphom in vielen verschiedenen Erscheinungsformen mit differenzierten klinischen, immunologischen und genetischen Charakteristika auftritt, wird im Folgenden nur auf wesentliche gemeinsame Merkmale der Entitäten Bezug genommen. Das in dieser Arbeit untersuchte extranodale Non-Hodgkin-Lymphom vom MALT-Typ wird im Folgenden genauer betrachtet.

### 2.6.2.1 Morphologie und Pathogenese

Im Unterschied zum Hodgkin-Lymphom fehlen beim Non-Hodgkin-Lymphom die klassischen HRS-Zellen. Zu Klassifikationszwecken ist es daher unabdinglich, die Linienzugehörigkeit zur B-, T-, oder NK-Zell-Reihe zu bestimmen (Hiddemann et al. 2005).

Zirka 80 bis 85 Prozent der Non-Hodgkin-Lymphome lassen sich auf das B-Zell-System zurückführen, 15 bis 20 Prozent auf T-Zellen. Insgesamt manifestieren sich zwei Drittel zunächst primär nodal, dies schließt eine spätere extranodale Besiedelung, beispielsweise der Milz, der Leber oder des Knochenmarks, allerdings nicht aus. Ein Drittel aller Non-Hodgkin-Lymphome entwickelt sich primär extranodal überwiegend in der Haut und im Magen-Darm-Trakt (Böcker et al. 2012).

Im Durchschnitt liegt das Erkrankungsalter für Non-Hodgkin-Lymphome zwischen 60 und 70 Jahren. Dies trifft sowohl für die niedrigmalignen kleinzelligen als auch für die hochmalignen blastischen Non-Hodgkin-Lymphome zu. Wenn sich die Erkrankung bereits im Kindesalter manifestiert, handelt es sich am häufigsten um die akute lymphoblastische Leukämie, das Burkitt-Lymphom sowie das großzellig-anaplastische Lymphom. Die meisten Non-Hodgkin-Lymphome vor dem 15. Lebensjahr sind mit einer hohen Malignität assoziiert (Palackdharry 1994, Yamamoto 2002). Mit steigender Tendenz erkranken zehn bis zwölf Personen jährlich, bezogen auf 100.000 Einwohner. Eine Zunahme der an extranodalen, hochmalignen Lymphomen erkrankten Personen bringt man mit der Ausbreitung der HIV-Infektion und mit der Zunahme immunsuppressiver Therapien nach Organ- und Knochenmarks-Transplantationen in Zusammenhang (Curtis et al. 1999, Tubman et al. 1983). AIDS-Patienten (Acquired Immune Deficiency Syndrome) haben ein bis zu 1000-fach erhöhtes Risiko, an einem NHL zu erkranken (Feichtinger et al. 1992). Weitere NHL-assoziierte Immundefekte sind beispielsweise das Sjögren-Syndrom und die Ataxia teleangiectatica (Canman und Lim 1998, Talal und Bunim 1964).

Darüber hinaus existieren auch zahlreiche Hypothesen über eine mögliche Kausalität zwischen bakteriellen Infektionen oder einer viralen Infektion mit zum Beispiel dem Epstein-Barr-Virus (EBV) und dem in Afrika und Asien endemisch auftretenden Burkitt-Lymphom (Epstein et al. 1964). Als prädisponierender Faktor für die Entwicklung schleimhautassoziierter Non-Hodgkin-Lymphome gilt eine chronische Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* (Wotherspoon et al. 1991).

### **Klassifikation der Non-Hodgkin-Lymphome**

Auf Grund der Fülle der einzelnen Entitäten, die den Non-Hodgkin-Lymphomen zugeordnet werden, unterscheidet man klinisch das indolente NHL vom aggressiven Typ, welcher ungefähr 30 Prozent der Erkrankungen ausmacht. Letzterer ist als hoch maligne zu bewerten und führt unbehandelt rasch zum Tod. Kurativ bildet hier die Chemotherapie einen Ansatz. Das niedrig maligne indolente NHL stellt mit zirka 70 Prozent der Erkrankten den weitaus größeren Gesamtanteil. Da eine Heilung durch Chemotherapie hier nicht möglich ist, werden diese in der Regel erst beziehungsweise nur dann therapiert, wenn entweder ein rascher Krankheitsprogress oder eine ausgeprägte klinische Symptomatik feststellbar ist. Die Klassifikation der WHO trennt die einzelnen Entitäten nach Zugehörigkeit zur B- oder T-Zellreihe auf und unterscheidet weiterhin Lymphome der frühen und späteren Vorläuferzellen der Lymphopoese. Sie verzichtet dabei auf den zytologischen Malignitätsgrad als übergeordnetes Einteilungsprinzip (Hiddemann et al. 2005, Jaffe 2009).

#### **2.6.2.2 Klinische Stadien und Prognose**

Ähnlich wie beim Hodgkin-Lymphom werden auch die Non-Hodgkin-Lymphome anhand der Ann-Arbor-Stadieneinteilung klassifiziert, welche im Einzelnen der **Tabelle 4** zu entnehmen ist. Ergänzend unterscheidet man hierbei allerdings noch den primär nodalen vom primär extranodalen Befall. Die letztgenannten Lymphome vom Non-Hodgkin-Typ sind insgesamt seltener und manifestieren sich als sogenannte MALT-Lymphome überwiegend im Gastrointestinaltrakt oder als kutane T-Zell-Lymphome an der Haut (Herold et al. 2013).

**Tabelle 4:** Stadieneinteilung nach der Ann-Arbor-Klassifikation beim Non-Hodgkin-Lymphom (modifiziert nach Herold et al. 2013)

Stadium I	Befall einer einzigen Lymphknotenregion oder lokalisierter Befall eines einzigen extralymphatischen Organs
Stadium II	Befall von zwei oder mehr Lymphknotenregionen auf einer Seite des Zwerchfells oder Vorliegen lokalisierter extranodaler Herde und Befall einer oder mehrerer Lymphknotenregionen auf einer Seite des Zwerchfells
Stadium III	Befall von zwei oder mehr Lymphknotenregionen auf beiden Seiten des Zwerchfells oder Befall von lokalisierten extranodalen Herden und Lymphknotenbefall auf beiden Seiten des Zwerchfells
Stadium III1	subphrenischer Befall, beschränkt auf Milz, zöliakale und/oder portale Lymphknoten allein oder gemeinsam
Stadium III2	subphrenischer Befall mit Beteiligung paraaortaler, mesenterialer, iliakaler und/oder inguinaler Lymphknoten allein oder gemeinsam
Stadium IV	disseminierter Befall eines oder mehrerer extralymphatischer Organe mit oder ohne Lymphknotenbefall

Wie auch beim Hodgkin-Lymphom erhalten die Stadien einen Zusatz „A“ bei Fehlen, „B“ bei Vorliegen von nicht erklärbarem Fieber, höher als 38,5°C, Nachtschweiß mit Wäschewechsel und Gewichtsverlust von mehr als zehn Prozent des Körpergewichts innerhalb von sechs Monaten ohne erkennbare Ursache (B-Symptomatik) (Brincker et al. 2000, Harrington et al. 2005, Rath et al. 2014).

### 2.6.2.3 Klinik und Diagnose

In der Regel stellen sich Patienten, die an einem Non-Hodgkin-Lymphom erkrankt sind, mit den im Folgenden beschriebenen Symptomen vor. Zunächst findet sich vermehrt eine meist schmerzlose persistierende oder progrediente Schwellung von Lymphknoten. Eine Hepatomegalie kann vorkommen, jedoch lässt sich häufiger eine Vergrößerung der Milz darstellen. Extralymphatische Raumforderungen im HNO-Bereich, dem Magen-Darm-Trakt,

der Haut oder dem zentralen Nervensystem (ZNS) treten neben der klassischen B-Symptomatik in Erscheinung. Oftmals finden sich weiterhin Störungen der Hämatopoese. Müdigkeit und Abgeschlagenheit können Folge einer Anämie sein, eine Thrombozytopenie steigert die Blutungsneigung, wobei häufig Petechien zu beobachten sind. Weiterhin zeigt sich eine Granulozytopenie sowie eine Hypogammaglobulinämie, welche zu einer erhöhten Infektanfälligkeit führen (Helbron et al. 1979).

Auch hier gilt es die Diagnose zu sichern und von möglichen Differentialdiagnosen abzugrenzen. Dies gelingt neben Anamnese, körperlicher Untersuchung und Laborbefund (großes Blutbild mit Thrombozyten und Retikulozyten, GOT, GPT, AP, Gamma-GT, Bilirubin, Kreatinin, Harnsäure, Blutglucose, LDH, Beta-2-Mikroglobulin, BSG, CRP, Gesamteiweiß, Blutgerinnungswerte, Hämolyseparameter u.a.) mittels molekularer Diagnostik zur Analyse der Genexpression. Auch bei Non-Hodgkin-Lymphomen sind aus diagnostischen und therapeutischen Gründen eine histologische und eine immunhistochemische Untersuchung nach Lymphknotenexstirpation unerlässlich. Selbstverständlich spielt auch die bildgebende Diagnostik, wie unter anderem die Sonographie, das Computertomogramm oder ein klassisches Röntgenbild eine entscheidende Rolle. Je nach vorliegender Symptomatik und Notwendigkeit wird der Gesamteindruck des Krankheitsbildes durch klinische Untersuchungen, wie beispielsweise eine Koloskopie oder eine HNO-ärztliche Untersuchung, ergänzt (Jaffe 2009, Wanyura et al. 2007).

Die WHO-Klassifikation unterscheidet innerhalb der Non-Hodgkin-Lymphome der B-Zell-Reihe zunächst, ob es sich um Neoplasien von Vorläufer-B-Zellen oder um solche reifer B-Zellen handelt (**Tabelle 5**). Bislang sind nicht alle Differenzierungsstufen der jeweiligen Ausgangs-B-Zellen bekannt, daher ist die Zuordnung teilweise noch hypothetisch (Jaffe 2009). Insbesondere bei den B-Zell-Lymphomen erfolgt die Benennung entsprechend dem vorherrschenden histologisch erkennbaren Zelltyp in kleinzellige und blastische Lymphome. Erstere bestehen überwiegend aus Lymphozyten, wachsen langsam, verlaufen prognostisch günstig und können daher als niedrigmaligne bezeichnet werden. Blastische Lymphome, hingegen, weisen eine hohe Proliferationsrate auf, wachsen aggressiv und neigen zur schnellen Generalisierung. Da diese Prozesse als hochmaligne zu bewerten sind, wirkt sich die genau zu sichernde Diagnose auch erheblich auf die anzustrebende Therapie aus (Böcker et al. 2012).

**Tabelle 5:** WHO-Klassifikation der B-Zell-Lymphome/Leukämien  
(modifiziert nach Böcker et al. 2012)

**Vorläufer-B-Zell-Neoplasien**

- Vorläufer-B-lymphoblastisches Lymphom/Leukämie

**Reifzellige B-Zell-Neoplasien**

**- kleinzellige B-Zell-Lymphome**

- chronische lymphozytische Leukämie, kleinzelliges lymphozytisches Lymphom
- B-Zell-Prolymphozytenleukämie
- lymphoplasmozytisches Lymphom
- splenisches Marginalzonenlymphom
- Haarzellenleukämie
- Plasmozytom
- extranodales Marginalzonenlymphom des MALT\*
- nodales Marginalzonenlymphom
- folliculäres Lymphom
- Mantelzelllymphom

**- blastische B-Zell-Lymphome**

- diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom
- mediastinales großzelliges B-Zell-Lymphom
- intravaskuläres großzelliges B-Zell-Lymphom
- primäres Ergusslymphom
- Burkitt-Lymphom/Leukämie

\* die weiter unten näher beschriebenen Entitäten

Da in der vorliegenden Arbeit nicht alle Entitäten untersucht wurden, wird im Folgenden nur auf das relevante B-Zell-Lymphom vom MALT-Typ Bezug genommen.

**Tabelle 6:** Grading maligner Non-Hodgkin-Lymphome

Grading	Definition
Grad 1	0-5 Zentroblasten pro Gesichtsfeld *
Grad 2	6-15 Zentroblasten pro Gesichtsfeld *
Grad 3	>15 Zentroblasten pro Gesichtsfeld *

\* unter einem mikroskopischen Gesichtsfeld versteht sich das mit einem 40x-Objektiv und 18mmOkular sichtbare Areal (0,195mm<sup>2</sup>).

Bei zirka 15 Prozent der Patienten erfolgt die Diagnose bereits in den Stadien I oder II, welche als lokalisierte Stadien bezeichnet werden. Hier ist die Therapie der Wahl eine „Extended Field“ (EF)-Bestrahlung mit einer Gesamtdosis von mindestens 30 Gy. Die Kombination mit einer neoadjuvanten Immuntherapie, beispielsweise mit Rituximab, ist möglich. Diese Behandlungsstrategie kann eine sehr lange Krankheitsfreiheit erzielen, sodass bis zu 85 Prozent der Patienten im Stadium I und bis zu 35 Prozent im Stadium II in den ersten zehn Jahren nach Diagnosestellung beschwerdefrei sind.

Die mehrheitliche Diagnosestellung bei Follikulären Lymphomen erfolgt jedoch zu 85 Prozent erst in den generalisierten Stadien III und IV nach Ann-Arbor. In diesen Fällen ist der Behandlungsansatz als palliativ zu betrachten und wird erst dann eingeleitet, wenn krankheitsassoziierte Symptome auftreten. Hier wären die typische B-Symptomatik, eine hämatopoetische Insuffizienz oder eine Einschränkung der Lebensqualität durch Lymphom-Progress zu nennen. Im Rahmen klinischer Studien gestaltet sich die Therapie als Kombination aus Immun- und Chemotherapie, zum Beispiel der R-CHOP-Therapie (Rituximab, Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin, Prednisolon) (Witzig et al. 2015). In Abhängigkeit der ausschlaggebenden Parameter der Erkrankung, wie zum Beispiel des Patientenalters, stehen auch andere Therapiealternativen zur Verfügung (Simon et al. 2007, Vujasinovic-Stupar et al. 2008, Witzig et al. 2015).

#### **2.6.2.4 Das MALT-Lymphom**

Als MALT-Lymphome werden diejenigen Lymphome bezeichnet, die ihren Ursprung in sekundärem mukosa-assoziiertem lymphatischem Gewebe (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT) haben. Im Rahmen pathologischer Prozesse, wie zum Beispiel einer chronischen Infektion, entsteht sekundäres MALT in solchen Organen, in denen physiologischerweise kein lymphatisches Gewebe nachweisbar ist (Muller-Hermelink et al. 1995). Vielfältige Auslöser können die Grundlage für eine solche Entzündungsreaktion sein. Das Sjögren-Syndrom der Speicheldrüsen oder eine Hashimoto-Thyreoiditis lassen sich beispielsweise den Autoimmunprozessen zuordnen. Eine bakterielle Ursache bildet eine *Helicobacter-pylori*-induzierte Gastritis. Persistieren solche Entzündungen über einen längeren Zeitraum, kann dies die Grundlage für eine maligne Entartung von B-Lymphozyten bilden und damit zur Ausbildung eines MALT-Lymphoms führen (Isaacson und Spencer 1993, Talal und Bunim 1964, Wotherspoon et al. 1991).

Morphologisch und immunologisch entsprechen die malignen B-Zellen in MALT-Lymphomen am ehesten den B-Gedächtnis-Zellen (Harris et al. 1994). Ihren Ursprung nehmen die Tumoren in der Marginalzone des Lymphfollikels. Im Rahmen der Tumorprogression ist

allerdings auch eine Transformation vom MALT-Lymphom in ein primär großzelliges B-Zell-Lymphom möglich (Chan et al. 1990).

MALT-Lymphome weisen ein invasives und destruktives Wachstum auf, was Rückschlüsse auf den Grad ihrer Malignität zulässt. Sie breiten sich saumartig um die reaktiven Lymphfollikel aus und wachsen flächenhaft in der betroffenen Schleimhaut. Durch die Infiltration des gesunden Gewebes kommt es zunächst zu lympho-epithelialen Läsionen, später zur Zerstörung des Ursprungsgewebes mit einhergehendem Funktionsverlust. Im weiteren Verlauf dringt der Tumor auch in die Keimzentren der betroffenen Lymphfollikel ein, sodass es zu einer follikulären Kolonisierung kommt (Akagi 1999, Isaacson et al. 1991, Tomita et al. 2003). Beim Non-Hodgkin-Lymphom vom MALT-Typ finden sich typischerweise über alle Schleimhautschichten ausgedehnte reaktive Lymphfollikel. Eine charakteristische genetische Aberration der MALT-Lymphome ist die chromosomale Translokation  $t(11;18)(q21;q21)$ , die in etwa 50 Prozent der Fälle auftritt (Ott et al. 1997).

Die MALT-Lymphome des Magens stellen auf Grund ihrer Häufigkeit innerhalb dieser Entität die am besten erforschte Tumorgruppe dar. Hier zeigt sich ein komplexes Wechselwirkungsgeschehen zwischen den malignen B-Zellen und dem Einfluss von T-Zellen und Antigenen in der Lymphomgenese. Wegen des Zusammenhangs eines MALT-Lymphoms des Magens mit der chronischen bakteriellen *Helicobacter-pylori*-Infektion untersuchte man den Einfluss bakterieller Antigene auf die Proliferation der Lymphomzellen und stellte überrascht fest, dass die gastralen malignen B-Zellen keine Reaktion auf das *Helicobacter-pylori*-Antigen zeigten. Stattdessen wiesen die untersuchten Antigen-Rezeptoren eine Spezifität für ganz verschiedene Autoantigene auf (Cammara et al. 1997, D'Elios et al. 2003, Enno et al. 1998, Greiner et al. 1998, Lenze et al. 2006). Die stimulierten Zellen reagierten bei Antigenbindung mit einer signifikanten Steigerung ihres Wachstums, was den positiven Einfluss von Antigenen auf die Tumorprogression belegte (Greiner et al. 1998, Hussell et al. 1993a, Hussell et al. 1993b, Hussell et al. 1993c).

*Helicobacter-pylori*-Antigene werden nicht von entarteten B-Zellen erkannt, wohl aber von reaktiven T-Zellen, die den Tumor ebenfalls infiltrieren. Sie leisten eine Art Überlebenshilfe für die Lymphomzellen, indem eine essenzielle Signaltransduktion wie beispielsweise die CD40-Ligation stattfindet und bestimmte Cytokine vom Th2-Typ ausgeschüttet werden (Greiner et al. 1998, Hussell et al. 1993a, Hussell et al. 1993b, Hussell et al. 1993c). Diese Wechselwirkung ist so ausgeprägt, dass es im Rahmen einer Eradikationstherapie von *Helicobacter pylori* zur Regression bis hin zur vollständigen Remission gastraler MALT-Lymphome kommen kann (Montalban et al. 1997, Nobre-Leitao et al. 1998, Savio et al. 2000, Wotherspoon 2000). Warum die Vorläuferzellen der MALT-Lymphozyten die negativen Selektionsmechanismen der T-Zellen überwinden können, ist bisher weitgehend unklar.

## Diagnose, Stadien und Therapieprinzip bei MALT-Lymphomen

Ungefähr fünf bis zehn Prozent aller Non-Hodgkin-Lymphome sind MALT-Lymphome. Am häufigsten zeigt sich ein Befall des Magens und anderer Abschnitte des Gastrointestinaltraktes. Die in Abschnitt 2.6.2.2 beschriebenen gültigen Ann-Arbor-Stadien für Non-Hodgkin-Lymphome werden für das MALT-Lymphom nicht einheitlich angewandt, sodass teilweise abgewandelte Systeme der Ann-Arbor-Klassifikation zum Einsatz kommen. Der Vorschlag, MALT-Lymphome beispielsweise nach dem TNM-Prinzip zu klassifizieren, hat sich bislang allerdings nicht durchgesetzt. Die Modifizierung der NHL-Klassifikation für MALT-Lymphome insbesondere des Magens liegt vermutlich darin begründet, dass diese Tumorentität einige Besonderheiten aufweist (Koch et al. 2001a, Koch et al. 2001b, Raderer et al. 2006, Zucca et al. 2000).

Während andere NHL häufig einen operativen Eingriff erfordern, um die Diagnose zu sichern, lässt sich in der überwiegenden Mehrheit der Magen-Lymphome vom MALT-Typ die Diagnose endoskopisch beziehungsweise per Biopsie stellen. Handelt es sich bei der untersuchten Probe tatsächlich um ein MALT-Lymphom, ist es wegen des möglichen simultanen Befalls anderer Organsysteme obligat, häufige Manifestationsorte abzuklären (Magen-Darm-Trakt, Waldeyer-Rachenring, Nasennebenhöhlen, Kopfdrüsen etc.). Mittels Bildgebung lassen sich Befunde zur Befallstiefe (Endosonographie) und zu organfernen Lymphknotenherden (Computertomographie) erheben, die in Kombination eine Stadieneinteilung bereits mit hoher Sicherheit erlauben (Koch et al. 2001a, Stefanovic und Lossos 2009, Zucca et al. 2000, Zucca et al. 2003).

Wie bereits in anderen Abschnitten dieser Arbeit beschrieben, bedingt auch bei MALT-Lymphomen das Staging die anschließende Therapie. Patienten im Stadium I, bei denen eine *Helicobacter-pylori*-Besiedelung besteht, werden mit einer Eradikationstherapie behandelt. In bis zu 80 Prozent der Fälle kann hiermit eine Remission erzielt werden (Montalban et al. 1997, Wohrer et al. 2004).

Besteht kein Nachweis von *Helicobacter pylori* oder liegt ein höheres Tumorstadium vor, werden mittels Radiotherapie gute Ergebnisse erzielt. Hierbei erfolgt die Bestrahlung mit geringen Dosen zunächst als reine IF-RT, in späteren Stadien als reduzierte EF-RT. Eine kombinierte Chemo-Immun-Therapie ohne zusätzliche Bestrahlung erfolgt in der Regel in den fortgeschrittenen Stadien III und IV (Uno et al. 2003).

## **2.7 Begleiterkrankungen**

Da die Mehrheit der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten an einer oder mehreren Begleiterkrankungen litt, sind die für die vorliegende Arbeit relevanten im folgenden Abschnitt erläutert.

### **2.7.1 Autoimmunerkrankungen**

Als Autoimmunerkrankung werden Erkrankungen bezeichnet, bei denen sich das Immunsystem in Form chronischer Entzündungsreaktionen gegen Strukturen des eigenen Organismus richtet. Hierbei werden autoimmune Prozesse, die nur ein bestimmtes Organ betreffen, von systemischen Erkrankungen abgegrenzt, welche sich an mehreren Lokalisationen des Körpers manifestieren (Anaya et al. 2012). So vielgestaltig wie die menschlichen Gewebe, sind auch die Autoantikörper, die sich fälschlicherweise gegen sie richten können.

#### **2.7.1.1 Sjögren-Syndrom**

Eine der oben benannten systemischen Autoimmunerkrankungen ist das Sjögren-Syndrom. Hierbei handelt es sich um eine Immunreaktion, bei der die Speichel- und Tränendrüsen als körperfremd erkannt und von den Immunzellen angegriffen werden (Catanzaro und Dinkel 2014). Das Sjögren-Syndrom zählt zu den Kollagenosen und kann sowohl als eigenständige Krankheit auftreten, wie auch als Begleiterscheinung anderer rheumatischer Erkrankungen. Zirka fünf bis zehn Prozent der Patienten entwickeln ein malignes Lymphom. Frauen erkranken zirka neunmal häufiger an einem Sjögren-Syndrom als Männer (Catanzaro und Dinkel 2014, Maslinska et al. 2015, Nannini et al. 2013).

Durch die systemische Ausbreitung der Erkrankung kann es zu einer Vielzahl verschiedenster Symptome kommen. Dabei fällt häufig eine Mund- und Augentrockenheit auf, wodurch es zu einer Schleimhautreizung (Augenhornhautentzündung, Mundschleimhautentzündung) der betroffenen Regionen kommen kann. Ebenso leiden die Patienten unter chronischer Müdigkeit. Gelenkbeteiligungen wie Morgensteifigkeit, Gelenkschmerzen oder Arthritis werden ebenfalls oft bei Patienten mit dem Sjögren-Syndrom beobachtet. In selteneren Fällen sind auch innere Organe wie Niere, Leber, Lunge oder Pankreas betroffen (Fossaluzza und De Vita 1992, Iannuccelli et al. 2012, Kramer 2014, Ramos-Casals et al. 2014, Turner 2014). Neben den oben genannten Allgemeinsymptomen lässt sich das Sjögren-Syndrom auch laborchemisch nachweisen. Im Blut fällt typischerweise eine hohe BSG, eine Leukozytopenie

und eine Gammaglobulinämie auf. Eine klassische Entzündung ist meist nicht deutlich ausgeprägt (CRP normal). Auch das Auftreten von Rheumafaktoren kann vorkommen. Die endgültige Diagnose ist mittels eines Nachweises sogenannter antinukleärer Antikörper (ANA) und, als spezifische ANA, von SSA- oder SSB-Antikörpern, sowie anschließender Biopsie der Lippen Schleimhaut mit ihren typischen Veränderungen zu sichern (Cortes et al. 1985, Gilburd et al. 2004, Tengner et al. 1998, Tzioufas et al. 2002).

Eine Therapie im Sinne von Heilung steht für das Sjögren-Syndrom nicht zur Verfügung. Da es sich allerdings um eine Erkrankung mit insgesamt eher mildem Verlauf und guter Prognose handelt, genügt oftmals eine Überwachung der Blutparameter sowie eine symptomatische Therapie mit Tränen- oder Speichelersatzmitteln. Die Prognose verschlechtert sich bei Übergang der Erkrankung in ein malignes Lymphom oder einen systemischen Lupus erythematodes (Catanzaro und Dinkel 2014, Maslinska et al. 2015).

### **2.7.1.2 Hashimoto-Thyreoiditis**

Die Hashimoto-Thyreoiditis führt zu einer chronischen Entzündung der Schilddrüse und zählt zu den organspezifischen Autoimmunerkrankungen. Sie tritt allerdings gehäuft gemeinsam mit anderen endokrinen Störungen autoimmuner Genese wie zum Beispiel dem Diabetes mellitus Typ I oder dem Morbus Addison auf (Caturegli et al. 2014, Gartner 2009).

Die Hashimoto-Thyreoiditis ist die häufigste Autoimmunerkrankung des Menschen, wobei auch hier Frauen häufiger erkranken als Männer. Sie manifestiert sich langfristig bei all ihren Verlaufsformen durch eine Schilddrüsenunterfunktion, die sich vielgestaltig klinisch äußern kann. Der schleichende Krankheitsverlauf sowie die Vielzahl der möglichen Symptome erschweren die Diagnosestellung häufig (Caturegli et al. 2014, Gartner 2009).

Besteht der Verdacht auf eine Funktionsstörung der Schilddrüse, kann deren Stoffwechsellage durch eine Blutuntersuchung mit genauer Betrachtung von TSH, T3 und T4 beurteilt werden. Da dies zur Diagnosesicherung nicht ausreichend ist, werden bei Verdacht zusätzlich die auch bei dieser Erkrankung auftretenden spezifischen Autoantikörper im Blut bestimmt. Als relevante Marker sind hier Antikörper gegen die Thyreoperoxidase (TPOAK/MAK) oder Antikörper gegen das Thyreoglobulin (Tg-AK) zu evaluieren (Banga et al. 1986, Szanto et al. 2008, Toulis et al. 2013, Willms et al. 2013). Darüber hinaus sind eine Sonographie der Schilddrüse zur Beurteilung von Größe und Zustand sowie eine Feinnadelbiopsie zur endgültigen histologischen Diagnosesicherung indiziert (Kapan et al. 2015, Willms et al. 2013, Yang et al. 2014).

Eine Therapie zur Heilung der Hashimoto-Thyreoiditis steht bislang nicht zur Verfügung. Ist die Schilddrüsenfunktion eingeschränkt, so wird der Mangel durch Substitution der

Schilddrüsenhormone ausgeglichen. Dies führt bei gut eingestellter Medikation zu einer uneingeschränkten Lebensqualität, erfordert allerdings meist die lebenslange Gabe der Hormone sowie regelmäßige Kontrollen zur möglicherweise notwendigen Dosisanpassung (Caturegli et al. 2014, Gartner 2009).

### **2.7.2 Helicobacter-pylori-Infektion**

*Helicobacter pylori* (H.p.) ist ein gramnegatives Stäbchenbakterium, das in der Lage ist, den menschlichen Magen zu besiedeln. Der Keim ist von einer spiralig gekrümmten Morphologie und bewegt sich mit Hilfe seiner Geißeln aktiv fort (Kist et al. 2005, Tomb et al. 1997).

Erst Ende der 1980er Jahre wurde das Bakterium als Ursache von Ulcuserkrankungen im Gastrointestinalbereich anerkannt. Dies stellte medizinisch einen Durchbruch dar, da man bis dahin davon ausgegangen war, dass Magengeschwüre einzig und allein einer zu hohen Magensäureproduktion geschuldet seien (Marshall 1993).

*Helicobacter*-Bakterien sind weltweit verbreitet und treten in mehreren Hundert verschiedenen Stämmen auf. Die chronische Infektion mit diesem Keim zählt weltweit zu den häufigsten bakteriellen Infektionen, wobei Entwicklungsländer eine höhere Prävalenz zeigen als Industrienationen. Nicht alle besiedelten Individuen erkranken auch (Kist et al. 2005).

Der genaue Übertragungsweg von H.p. ist nicht abschließend geklärt. Kommt es zu pathologischen Veränderungen durch die Kolonisation mit dem Keim, steigt die Magensäureproduktion an. Dies kann eine Reihe gastroduodener Erkrankungen wie beispielsweise Gastritiden, Magengeschwüre oder Zwölffingerdarmgeschwüre nach sich ziehen. Da auch MALT-Lymphome mit dem Vorkommen von H.p. assoziiert sind, gilt das Bakterium darüber hinaus auch als Karzinogen (Kawano et al. 1990, Kist et al. 2005, Sawaoka et al. 1998, Sidebotham und Baron 1990, Smoot et al. 1990).

H.p. muss sich im aggressiven Milieu des Magens durch eine Reihe von Mechanismen vor einer Zerstörung schützen. Dies gelingt ihm zum einen durch Einnistung in der Magenschleimschicht, welche ihn vor Verdauung schützt. Darüber hinaus produziert H.p. das Enzym Urease, welches die Reaktion von Harnstoff zu Ammoniak und Kohlendioxid katalysiert. Die dadurch entstehende „Ammoniakhülle“ hebt lokal den pH-Wert an und führt zu einer Alkalisierung im unmittelbaren Umfeld des Bakteriums. Die Sezernierung pathogener Substanzen sowie weitere Pathogenitätsmechanismen sorgen schlussendlich dafür, dass die befallene Schleimhaut erkrankt (Kawano et al. 1990, Kist et al. 2005, Tomb et al. 1997).

Eine Besiedlung mit dem Keim kann durch mehrere Methoden diagnostiziert werden. Eine Biopsie aus der Magenschleimhaut liefert den eindeutigen mikroskopischen Nachweis (Wong et al. 2014). Das von H.p. produzierte Urease-Enzym wird indirekt genutzt. Ist es nachweisbar,

lässt sich schlussfolgern, dass H.p. vorhanden sein muss, da die Urease physiologischerweise im Magen nicht vorkommt. Darüber hinaus gibt es auch noch andere Nachweismethoden, die jeweils direkt oder indirekt das Bakterium oder eines seiner spezifischen Stoffwechselprodukte detektieren (Sidebotham und Baron 1990, Smoot et al. 1990).

Die Therapie der Wahl ist gemäß den Maastricht-Leitlinien der EHPHG die Eradikationstherapie, bestehend aus einem Protonenpumpeninhibitor zur Senkung der Säuresekretion sowie zweier Antibiotika (Clarithromycin + Amoxicillin/Metronidazol). Auch Bismuth-Salze kommen ergänzend therapeutisch im Rahmen einer Quadrupel-Therapie zum Einsatz (Marshall 1993, Tsuji et al. 2006, Woherer et al. 2004).

### 3 Zielsetzung der Arbeit

MALT-Lymphome sind eine heterogene Gruppe von Tumoren, die häufig erst in einem der fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, einen weiteren Beitrag im Rahmen eines größeren Forschungsprojektes zur Untersuchung des Somatostatin- und CXCR4-Rezeptorbesatzes in malignen Neoplasien zu leisten. Dazu wurden im Speziellen Patientenproben von Non-Hodgkin-Lymphomen des MALT-Typs verschiedener Lokalisationen immunhistochemisch untersucht und die daraus resultierenden Ergebnisse im Zusammenhang mit klinischen Daten der Patienten ausgewertet.

Für eine Vielzahl verschiedener Tumorentitäten, insbesondere für neuroendokrine Neoplasien, ist bereits umfangreich belegt, dass sie eine Überexpression von Somatostatin-Rezeptoren aufweisen. Diese gewinnen daher als molekulare Ziele immer mehr an Bedeutung sowohl für die Therapie, als auch für die Diagnostik (Lamberts et al. 1991, Reubi et al. 1992). Ein Ansprechen des Tumors auf zum Beispiel Somatostatin-Analoga hängt jedoch maßgeblich von dessen Rezeptorprofil ab (Schulz et al. 1998a, Schulz et al. 1998b). Im Zusammenhang mit hämatologischen und immunologischen Untersuchungen ist auch der Chemokinrezeptor CXCR4 bereits detailliert beschrieben worden (Juarez und Bendall 2004, Ma et al. 1998). Da es sich bei malignen Non-Hodgkin-Lymphomen um entartete Zellen des Immunsystems handelt, die sowohl bestimmte SSTR, aber auch den CXCR4, exprimieren können, wurde in der vorliegenden Arbeit die Vermutung näher untersucht, dass sich in den verfügbaren Proben sowohl eine Überexpression des CXCR4 als auch eine vermehrte Präsenz bestimmter Somatostatin-Rezeptoren finden könnte. Hierbei sollte zusätzlich untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Lokalisation des Tumors und dem Besatz mit Somatostatin-Rezeptoren oder dem Chemokin-Rezeptor CXCR4 besteht. Sollte dies der Fall sein, könnten die Erkenntnisse, wie auch schon bei anderen Tumorarten, zu einem neuen Ansatz in der Therapie und Diagnostik dieser Tumore führen. Eine weitere Untersuchung galt der Fragestellung, ob das Vorliegen einer Autoimmunerkrankung wie dem Sjögren-Syndrom oder einer bakteriellen Helicobacter-pylori-Infektion mit dem Rezeptorstatus der MALT-Lymphome korreliert.

## 4 Material und Methodik

### 4.1 Patientendaten und -proben

Es standen 64 Schnitte von malignen Lymphomen des MALT-Typs von insgesamt 55 Patienten zur Verfügung. Die abweichende Präparateanzahl resultierte aus dem Vorliegen von teilweise mehreren Gewebeproben bei einigen Patienten. Diese waren in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet und wurden freundlicherweise vom Institut für Pathologie der Universität Wien und der Universitätsklinik für Innere Medizin I, Klinische Abteilung für Onkologie der Universität Wien, Österreich, zur Verfügung gestellt.

#### 4.1.1 Votum der Ethikkommission

Für dieses Forschungsvorhaben sowie für die dafür notwendige Verwendung von Patientendaten liegt ein befürwortendes Votum der zuständigen Ethikkommission vor.

### 4.2 Immunhistochemie

Alle Präparate wurden mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt und im Folgenden immunhistochemisch auf die Expression sechs verschiedener Antigene hin untersucht: SSTR1, SSTR2A, SSTR3, SSTR4 und SSTR 5 und CXCR4. Weiterhin wurde die Expression des Proliferationsindikators Ki-67 immunhistochemisch erfasst.

#### 4.2.1 Materialien und Gerätschaften für die Immunhistochemie

##### Chemikalien für die Immunhistochemie

3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEC)	BioGenex Laboratories, Fremont, CA, USA
Ammoniak-Lösung 25%	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Citronensäure-Monohydrat	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
DePeX®	Serva GmbH, Heidelberg, Deutschland
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Eosin	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA

Ethanol 99,8%	Echter Nordhäuser Spirituosen GmbH, Nordhausen, Deutschland
Glycerin	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Kaliumchlorid	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Kaliumdihydrogenphosphat	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Mayer`s Hämatoxylin	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Methanol	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Mowiol 4-88	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Natriumchlorid	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Natriumcitrat-Monohydrat	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Rinderserumalbumin (RSA)	PAA Laboratories GmbH, Pasching, Österreich
Salzsäure	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Triethylendiamin (DABCO)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Trometamol (TRIS)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
Wasserstoffperoxid	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Xylol	Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

### **Lösungen und Standardpuffer für die Immunhistochemie**

#### PBS (Phosphat-gepufferte Salzlösung) pH 7,4

NaCl	8,18g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	1,77g
KCl	0,20g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,24g
Aqua bidest.	ad 1000ml

#### PBS/RSA 1% (Rinderserumalbumin)

RSA	5,00g
PBS	495ml

#### Stammlösung A (0,1 M) für Citratpuffer

C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> x H <sub>2</sub> O	21,01g
Aqua bidest.	ad 1000ml

#### Stammlösung B (0,1 M) für Citratpuffer

C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>7</sub> x H <sub>2</sub> O	29,41g
Aqua bidest.	ad 1000ml

Citratpuffer (0,01 M), pH 6,0

Stammlösung A	36ml
Stammlösung B	164ml
Aqua bidest.	1800ml

Mowiol-Eindecklösung

Glycerin	6,00g
Mowiol 4-88	2,40g
Aqua bidest.	6,00ml
0,2 M TRIS-HCl	12,00ml
DABCO	25mg pro ml Lösung

**Kits für die Immunhistochemie**

AEC Substrate Pack	BioGenex, Fremont, CA, USA
VECTASTAIN® Elite ABC-Kit (Maus- bzw. Kaninchen-IgG)	Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA

**Antikörper für die Immunhistochemie**

MIB-1 (Anti-Ki-67)	Dako, Clostrup, Dänemark
UMB-2 (Anti-CXCR4)	Epitomics, Burlingame, CA, USA
UMB-7 (Anti-SSTR1)	Epitomics, Burlingame, CA, USA
UMB-1 (Anti-SSTR2)	Epitomics, Burlingame, CA, USA
UMB-5 (Anti-SSTR3)	Epitomics, Burlingame, CA, USA
UMB-4 (Anti-SSTR5)	Epitomics, Burlingame, CA, USA
4802 (Anti-SSTR4)	Gramsch Laboratories, Schwabhausen, Deutschland

**Gerätschaften für die Immunhistochemie**

Analysenwaage A200S	Sartorius AG, Göttingen, Deutschland
Deckgläser	Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland
Färbekästen (Glas)	Medite GmbH, Burgdorf, Deutschland
Glas-Färbegestelle	Medite GmbH, Burgdorf, Deutschland
Magnetruhrer	Schott Instruments, Mainz, Deutschland

Mikroskop Axio Imager A1	Carl Zeiss, Jena, Deutschland
Mikrowelle CB1271	Bomann, Kempen, Deutschland
pH-Meter pH 211	Hanna Instruments, Kehl, Deutschland
Shandon Coverplates™	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
Shandon Sequenza®-Färbesystem	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA

#### **4.2.2 Prinzip der Immunhistochemie**

Im Rahmen der Immunhistochemie ergibt sich die Möglichkeit, mittels gerichteter Antikörper gezielt antigene Oberflächenproteine auf einer Zielstruktur zu markieren. Im hier vorliegenden Fall wurde die indirekte Peroxidase-Methode genutzt, um die SSTR, den CXCR4 und das Ki-67-Antigen auf den verfügbaren Gewebeproben nachzuweisen. Im ersten Schritt bindet hierbei ein Primärantikörper an das entsprechende Antigen. Der Primärantikörper selbst wird im Folgenden Ziel eines zweiten biotinylierten Sekundärantikörpers. Dem System wird weiterhin das Peroxidase-gekoppelte Streptavidin zugeführt, wobei die Peroxidase das anschließend zugegebene Chromogen AEC umsetzt und somit zu einer Rotfärbung der Zielstrukturen führt. Um die lichtmikroskopisch gestützte Auswertung zu erleichtern, wurden die Zellkerne mit Mayer`s Hämatoxylin gegengefärbt.

#### **Entparaffinierung und Überführung der Präparate in die hydrophile Phase**

Im ersten Arbeitsschritt ist die Entparaffinierung der Proben erforderlich, da sich anderenfalls die Zielstrukturen nicht ausreichend anfärben lassen. Dazu wurden die Objektträger in Glaskörbe sortiert, um diese dann für zirka 3x20 min in Xylol zu waschen. Anschließend erfolgte eine dreimalige Waschung der Schnitte in 99,8-prozentigem Ethanol.

#### **Blockierung der endogenen Peroxidase und Rehydrierung**

Da bei der verwendeten Methode eine spezifische Färbung mittels einer exogen zugeführten Peroxidase erfolgen soll, ist es notwendig, zunächst vorhandene endogene Peroxidasen zu blockieren, um unspezifische Reaktionen zu verhindern. Daher wurden die Präparate in 0,3prozentiger Wasserstoffperoxidlösung (in Methanol) für zirka 45 Minuten inkubiert und anschließend im 2-Minuten-Rhythmus über eine absteigende Ethanolreihe in Aqua bidest. überführt.

## **Antigendemaskierung**

Da sich während der Gewebefixierung in Formalin über Aldehydbrücken Quervernetzungen zwischen Proteinen bilden, können Epitope maskiert werden und somit die Antigenität der Zielstruktur herabsetzen. Mit dem Ziel, die Antigen-Antikörper-Reaktion zu verbessern, stehen verschiedene Methoden zur Antigendemaskierung zur Verfügung. Eine Vorgehensweise, die sich neben anderen bewährt hat, besteht darin, die rehydrierten Schnitte in Citratpuffer (pH 6,0) in einer handelsüblichen Mikrowelle zu kochen (Khan et al. 2011).

## **pH-Pufferung und Einsortierung in das Sequenza®-Färbesystem**

Bei der Durchführung der Immunhistochemie werden zunächst unspezifische Ladungen im Gewebe durch eine 1-prozentige Rinderserumalbuminlösung (RSA) in Phosphatpuffer (PBS; pH 7,4) abgesättigt. Dies vermindert eine unspezifische Bindung der zugeführten Antikörper. Im Sequenza®-Färbesystem werden die Objektträger anschließend so eingespannt, dass ein kapillarer Spalt zwischen Objekt und Wand entsteht. Dieses Vorgehen optimiert die Kontaktzeit zwischen Gewebeprobe und Antikörper bei effektiver Antikörper-Menge, da Kapillarkräfte die hinzupipettierte Antikörper-Lösung halten und somit eine quantitative Reaktion ermöglichen. Nach dem Einspannen wird das System zur Überprüfung des korrekten Sitzes der Präparate nochmals mit 1-prozentiger RSA/PBS-Lösung gespült.

## **Antigen-Antikörper-Reaktion mit Färbung**

Nach Zugabe des Primärantikörpers beträgt die Inkubationszeit bei 4°C mindestens zwölf Stunden. Temperatur und Inkubationszeit haben einen großen Einfluss auf die Reaktion. Hierbei gilt, dass die Bindung des Primärantikörpers an das spezifische Antigen umso selektiver ist, je niedriger die Temperatur ist und je länger inkubiert wird.

Verbliebene ungebundene Antikörper werden sodann mittels 1-prozentiger RSA/PBS-Lösung zweimalig ausgespült. Ein biotinylierter Anti-Primärantikörper fungiert als Sekundärantikörper, welcher dem Färbesystem zugefügt wird. Nach einer Inkubationszeit von zirka 30 Minuten bei Raumtemperatur erfolgt erneut das Ausspülen ungebundener Sekundärantikörper. Im Anschluss daran wird der Avidin-Peroxidase-Komplex zugeführt, welcher während einer 30-minütigen Einwirkzeit hochaffin mit dem vorhandenen Biotin reagiert. Nach einem weiteren Spülschritt wird das in zwei Schritten zugegebene Chromogen durch die gebundene Peroxidase umgesetzt.

## Gegenfärbung mit Mayer`s Hämatoxylin

Um die spätere Auswertung übersichtlicher zu gestalten, werden die Zellkerne im nächsten Arbeitsschritt gegengefärbt. Die Reaktion führt zur Bildung eines stabil gebundenen Chelatkomplexes, welcher in alkalischer Lösung (Ammoniakwasser) eine rotviolette Farbe annimmt.

### 4.2.3 Durchführung der Immunhistochemie

Die immunhistochemische Färbung erfolgte nach folgendem Schema:

**Tabelle 7:** Protokoll der immunhistochemischen Färbung

Arbeitsschritt	Lösung	Menge [µl]	Zeit [min]
Einsortieren der Schnitte in die Glasküvette			
Entparaffinierung	Xylol	befüllte Küvetten	20
	Xylol		20
	Xylol		20
Xylol-Entfernung	99,8 % Ethanol	befüllte Küvetten	20
	99,8 % Ethanol		20
	99,8 % Ethanol		20
Blockierung der endogenen Peroxidase	0,3 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> in Methanol	befüllte Küvetten	45
Rehydrierung der Schnitte durch eine absteigende Alkoholreihe	99,8 % Ethanol	befüllte Küvetten	2
	99,8 % Ethanol		2
	80 % Ethanol		2
	70 % Ethanol		2
Rehydrierung der Schnitte durch eine absteigende Alkoholreihe	Aqua bidest.	befüllte Küvetten	5
	Aqua bidest.		5
Umsortieren in mit Citratpuffer gefüllte Plastikküvetten	Citratpuffer 0,01 M, pH 6,0	befüllte Küvetten	
Demaskierung der	Kochen		8

Antigene in der Mikrowelle (600 Watt)	Abkühlen Kochen Abkühlen Kochen		4 4 4 4
Abkühlen der Proben	Kühlen auf handwarm Aqua bidest.		30 5 (mind.)
pH-Pufferung - Absättigung unspezifischer Ladungen des Gewebes	PBS mit 1 % RSA	befüllte Küvetten	5
Einsortieren in Sequenza®Färbesysteme			
pH-Pufferung	PBS mit 1 % RSA	1500	
Blockierung unspezifischer Bindungen	Blocking Serum (VECTASTAIN® Elite ABC-Kit)	150	20
Bindung des Antikörpers	spezifischer Antikörper	300	über Nacht bei 4°C
Waschen	PBS mit 1 % RSA	1500	
Waschen	PBS mit 1 % RSA	1500	
Zugabe des Sekundär- Antikörpers	Sekundär-Antikörper in PBS/RSA 1 % (VECTASTAIN® Elite ABC-Kit)	150	30
Waschen	PBS mit 1 % RSA	1500	
Zugabe des enzymgekoppelten Komplexes	Reagenz A Reagenz B in PBS/RSA 1 % (VECTASTAIN® Elite ABC-Kit)	150	30
Waschen	PBS mit 1 % RSA	1500	
Färbung der AKgebundenen Bereiche	AEC AEC	150 150	15 15
Waschen -> Stoppen der Reaktion	Aqua bidest.	1500	
Einsortieren in Glasküvetten			

Waschen	Aqua bidest.	befüllte Küvetten	1
	Aqua bidest.		1
Gegenfärbung der Zellkerne	Mayer`s Hämatoxylin	befüllte Küvetten	50 sec
Waschen	Aqua bidest.		2,5
Hämatoxylin-Bläuung	Ammoniakwasser (1,4ml 25 % NH <sub>3</sub> auf 250ml Aqua bidest.)	befüllte Küvetten	5 x eintauchen
Waschen	Aqua bidest.		2,5
Eindecken der Präparate mit Mowiol und Deckgläschen			

#### 4.2.4 Die Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung

Um innerhalb der jeweiligen Präparate eine bessere Übersicht zu erhalten, um diese anschließend korrekt auszuwerten zu können, wurde neben der immunhistochemischen Färbung auch eine Hämatoxylin-Eosin-Übersichtsfärbung angefertigt.

Zunächst werden die Präparate für dreimal 20 Minuten in Xylol getaucht, um anschließend für dreimal 20 Minuten in 99,8-prozentigem Ethanol inkubiert zu werden. Das Xylol dient der Entparaffinierung der Präparate, das Ethanol wiederum zur Entfernung des Xylois. Anschließend erfolgt das Waschen in Aqua bidestillata für zwei mal zwei Minuten und die Färbung in Mayer`s Hämatoxylin (Sigma-Adrich, Steinheim, Deutschland) für 30 Minuten. Danach werden die Präparate für eine Minute in Aqua bidestillata, 20 Minuten in Leitungswasser und zwei Minuten in Aqua bidestillata getaucht. Das Leitungswasser dient der Bläuung der zunächst rötlich-braun gefärbten Zellkerne, wodurch sich der typische blauviolette Farbton bildet. Nun folgt die Färbung des Zytoplasmas mit Eosin (Sigma-Adrich, Steinheim, Deutschland) für acht Minuten. Anschließend werden die Präparate dreimal eine Minute lang in Aqua bidestillata gewaschen und in 20 Mal in 99,8-prozentiges Ethanol getaucht. Dann werden die Präparate fünf Minuten in Ethanol und anschließend in Xylol (zwei mal fünf Minuten, anschließend zwei Minuten) inkubiert. Abschließend werden die Präparate mit DePeX® (Serva GmbH, Heidelberg, Deutschland) und einem Deckgläschen eingedeckt.

## 4.2.5 Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

### 4.2.5.1 Lichtmikroskopische Auswertung

Unter Zuhilfenahme des Zeiss-Mikroskops mit verschiedenen Objektiven wurden die gefärbten Präparate lichtmikroskopisch betrachtet. Schwerpunktmäßig standen die Färbeintensität, der Anteil gefärbter Tumorzellen, die Art und Weise der Färbung, die Membranständigkeit der Färbungen, die Vaskularisierung, das Verteilungs- und Expressionsmuster gefärbter Areale sowie im umliegenden Gewebe mitgefärbte Gebiete im Fokus.

### 4.2.5.2 Scores

Die Färbeergebnisse wurden unter Berücksichtigung der Färbeintensität und des Anteils an gefärbten Tumorarealen mittels des Immunreaktiven Score (IRS) nach Remmele und Stegner (1987) bewertet.

#### Immunreaktiver Score (IRS)

Wolfgang Remmele und Hans-Egon Stegner haben den Immunreaktiven Score im Jahr 1987 entwickelt. Im Wesentlichen wurde ein System geschaffen, das der Klassifikation von Mammakarzinomen dient, indem die immunhistochemisch erzielte Färbung von Estrogen- und Progesteron-Rezeptoren quantifiziert wird. **Tabelle 8** zeigt, dass hierbei sowohl die Färbeintensität als auch der Anteil der gefärbten Tumorzellen in den Zahlenwert einfließen (Remmele und Stegner 1987; Kulaksiz et al. 2002, Papotti et al. 2002).

Den IRS auch auf die Beurteilung anderer Rezeptoren anzuwenden, hat sich bewährt. So wurde beispielsweise auch in Prostata-Karzinomen die Farnesylpyrophosphat-Synthase oder in Brustkrebs die Cyclooxygenase-2 mit Hilfe des Immunreaktiven Scores analysiert (Remmele und Schicketanz 1993, Specht et al. 2015, Surowiak et al. 2005).

Auch in der vorliegenden Arbeit wurde mit dem IRS gearbeitet. Laut Remmele und Stegner erfolgt die Bewertung der Färbeintensität nur nach dem höchst vorliegenden Intensitätsgrad. Da innerhalb eines Schnittes jedoch häufig unterschiedliche Färbeintensitätsgrade vorliegen, wurde, von Remmele und Stegner abweichend, ein Mittelwert gebildet, der falsch positive Auswertungsergebnisse relativieren soll.

**Tabelle 8:** Darstellung des Auswertepinzips nach dem Immunreaktiven Score  
(modifiziert nach: [http://www.pathologie-vechte.de/deu/physicians/knowledgebase/classifications/images\\_classifications/irs\\_remmele\\_stegner.gif](http://www.pathologie-vechte.de/deu/physicians/knowledgebase/classifications/images_classifications/irs_remmele_stegner.gif))

	keine Färbereaktion = 0 Punkte	schwache Färbereaktion = 1 Punkt	mäßige Färbereaktion = 2 Punkte	starke Färbereaktion = 3 Punkte
keine positiven Zellen = 0 Punkte	IRS = 0	IRS = 0	IRS = 0	IRS = 0
< 10% positive Zellen = 1 Punkt	IRS = 0	IRS = 1	IRS = 2	IRS = 3
10-50% positive Zellen = 2 Punkte	IRS = 0	IRS = 2	IRS = 4	IRS = 6
51-80% positive Zellen = 3 Punkte	IRS = 0	IRS = 3	IRS = 6	IRS = 9
> 80% positive Zellen = 4 Punkte	IRS = 0	IRS = 4	IRS = 8	IRS = 12

Zugunsten einer besseren Vergleichbarkeit der Expressionsstärken der untersuchten Rezeptoren, wurden die Ergebnisse des IRS noch einmal klassifiziert. Die Klassifikationswerte null bis drei entsprechen in aufsteigender Reihenfolge einer negativen, schwachen, mäßigen und starken Färbereaktion und sind, wie in **Tabelle 9** dargestellt, bestimmten Werten im IRS zugeordnet.

IRS	IRS-Klassifikation
1	0
2-3	1
4-8	2
9-12	3

**Tabelle 9:**  
Darstellung der IRS-Klassifikation gemäß den zugrundeliegenden Werten aus dem IRS

In Bezug auf die Positivität der Färbereaktionen, wurde erst ein IRS  $\geq 3$  als positiv gewertet.

### Auswertung der Ki-67-Protein-Expression durch Zählung

Die Untersuchung der Tumorproben auf das nukleäre Ki-67-Protein erfolgte mit Hilfe eines Lichtmikroskops bei 400-facher Vergrößerung. Dabei wurden je Präparat zehn Hauptgesichtsfelder ausgewertet. Es wurden nur solche Zellen als Ki-67-positiv gewertet, welche kräftig positiv kerngefärbt waren, sodass sich pro Präparat ein prozentualer Anteil

angefärbter Zellkerne ergab. Ein einheitliches Klassifikationsmodell für den Ki-67-Index existiert bislang nicht.

Um eine sinnvolle Klassifikation für Non-Hodgkin-Lymphome des MALT-Typs vorzunehmen, wurde sich an den onkologischen Leitlinien für indolente Non-Hodgkin-Lymphome und im Speziellen an einem Ki-67-Index für das Mantelzell-Lymphom orientiert, welches gemeinsam mit dem MALT-Lymphom dieser Entität zugeordnet wird (Jaffe 2009). Für Mantelzell-Lymphome wurde kürzlich ein klinischer Risiko-Score (MIPI: MCL International Prognostic Index) etabliert. Dieser schließt klinische und laborchemische Patientendaten ein. Einen relevanten Parameter mit hoher prognostischer Relevanz stellt hierbei der Proliferationsmarker Ki-67 dar (Determann et al. 2008). Der MIPI-Score unterteilt die Patienten anhand der Ki-67-Proliferationsrate in drei Risikogruppen, wobei die Ki-67-Positivität in der Gruppe mit dem geringsten Risiko weniger als zehn Prozent beträgt. Es folgt eine Gruppe mittleren Risikos mit einer Positivität zwischen 11 und 30 Prozent. Proben mit einer Ki-67-Positivität von mehr als 30 Prozent werden der höchsten Risikogruppe drei zugeordnet ([www.european-mcl.net/de/clinical\\_mipi.php](http://www.european-mcl.net/de/clinical_mipi.php)) (Hoster et al. 2008).

Da die in dieser Arbeit untersuchten Proben innerhalb der drei oben genannten Risikogruppen ein beinahe identisches Verteilungsmuster wie Mantelzell-Lymphome aufweisen und es sich darüber hinaus um pathologisch eng miteinander verwandte Tumorentitäten handelt, erschien die Verwendung desselben Scores zur Auswertung sinnvoll.

### **4.3 Statistik**

Da von einigen Patienten mehr als eine Gewebeprobe vorlag, jedoch letztlich in der Diagnose und der Therapie der gesamte SSTR-Status eines Patienten entscheidend ist, wurde für jeden Patienten in dem jeweiligen Score eines SSTR-Subtypen ein Mittelwert gebildet, welcher für die weitere statistische Auswertung herangezogen wurde. Ausgewertet wurden die metrischen Datenverteilungen des IRS sowie die Datenverteilung der Ki-67-Expression.

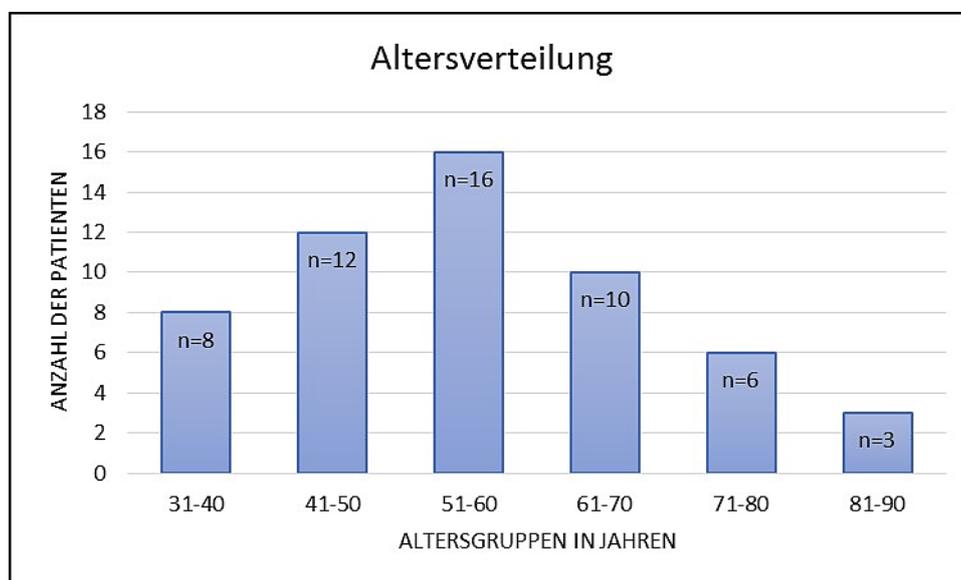
Zur statistischen Analyse wurde das Programm IBM SPSS Statistics in der Version 22 verwendet. Zunächst wurden die nach Tumorentitäten unterteilten klinischen Daten und die SSTR-Daten deskriptiv als Häufigkeitsverteilung in Form von Balkendiagrammen und Tabellen dargestellt. Die Auszählung der Expressionsmuster der SSTR erfolgte manuell unter Zuhilfenahme des Immunreaktiven Scores (IRS). Die Auszählung der Ki-67-Expression erfolgte ebenfalls manuell.

## 5 Ergebnisse

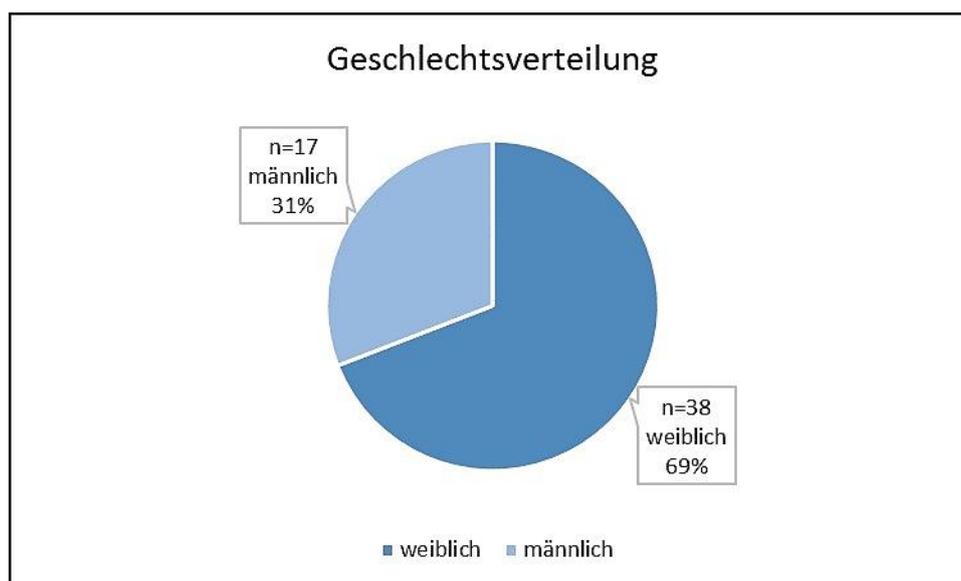
### 5.1 Patientendaten

Von den zur Verfügung gestellten Proben von MALT-Lymphomen verschiedener Lokalisationen aus dem Klinischen Institut für Pathologie der Universität Wien sowie der Universitätsklinik für Innere Medizin I, Klinische Abteilung für Onkologie der Universität Wien, Österreich, konnten die Präparate von 55 Patienten mit einer entsprechenden histopathologischen Befundung in die Studie eingeschlossen werden. Die Manifestationsorte der Tumoren waren der Magen, die Ohrspeicheldrüse, die Unterkieferspeicheldrüse, die Schilddrüse und die Augenhöhle. Da von diesen Patienten teilweise mehrere Gewebeproben (Primärtumor und/oder Metastasen) vorlagen, wurden insgesamt 64 verschiedene Paraffin-Gewebeblöcke aufgearbeitet und immunhistochemisch untersucht.

Das mediane Durchschnittsalter der 55 Patienten betrug zum Zeitpunkt der Diagnosestellung 54 Jahre, mit einer Altersspanne von 31 bis 87 Jahren (**Abbildung 6**). Der Anteil der weiblichen und männlichen Patienten betrug 38:17 (=69%:31%). Damit lag ein Geschlechtsverhältnis von zirka 2:1 vor (**Abbildung 7**).



**Abbildung 6:** Altersverteilung der Patienten



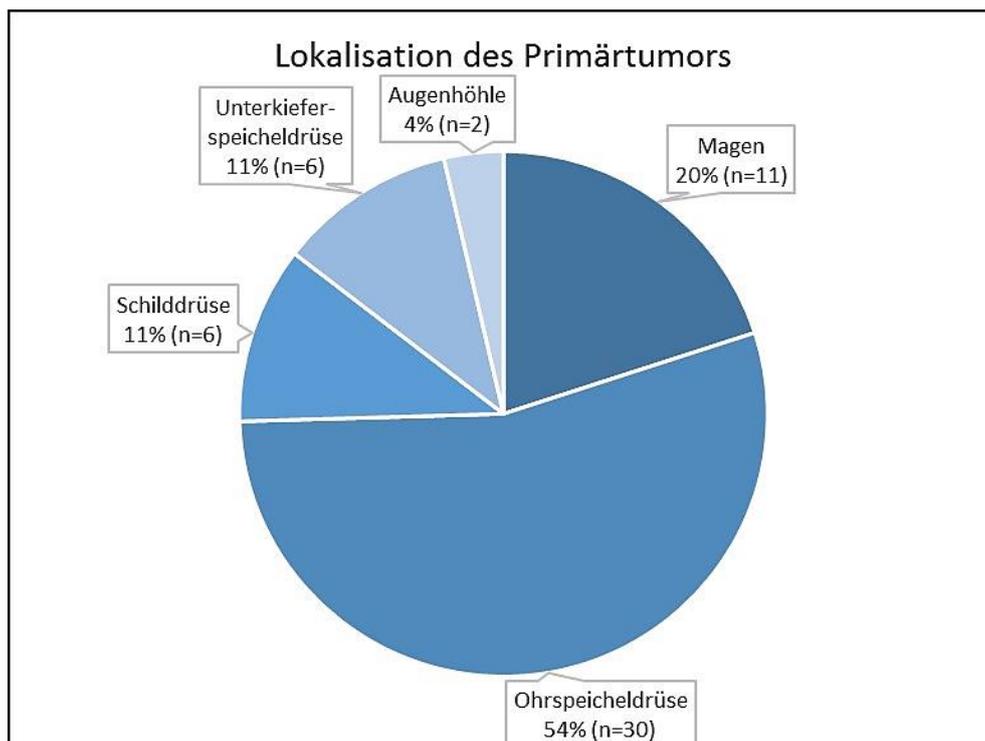
**Abbildung 7:** Geschlechtsverteilung der Patienten

## 5.2 Klinische Daten

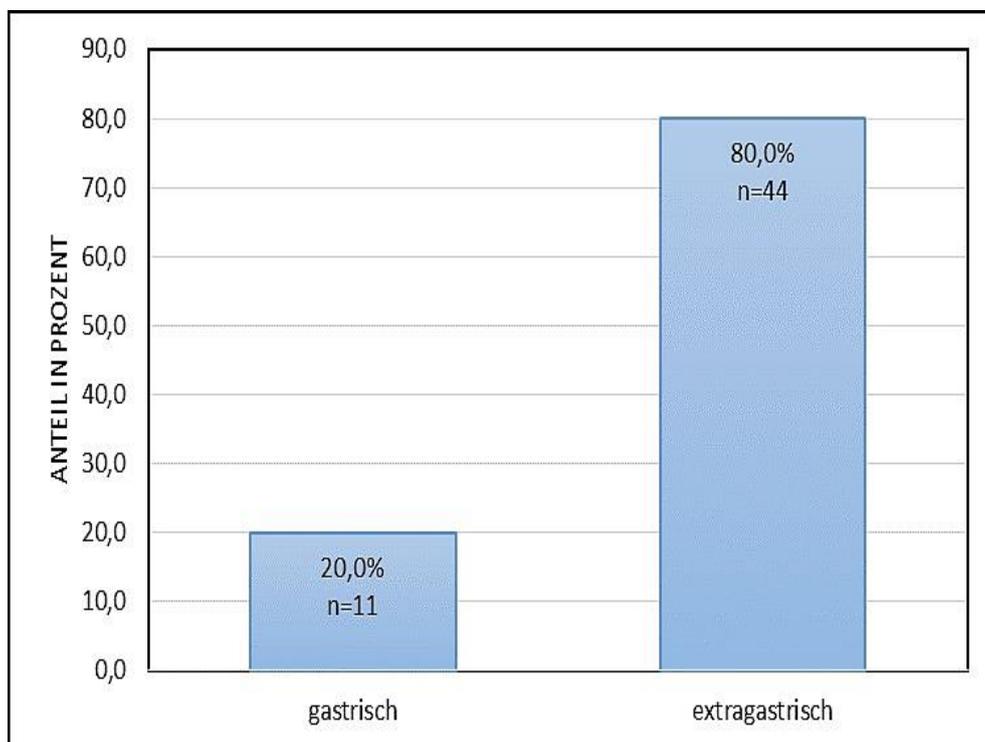
### 5.2.1 Tumorlokalisation

Die Primärtumorlokalisationen sind in **Abbildung 8** dargestellt. Die häufigste Lokalisation war mit 54% (n=30) die Ohrspeicheldrüse, in 20 Prozent (n=11) der Fälle handelte es sich um Tumoren des Magens. In jeweils 11 Prozent (n=6) der Fälle stammten die Präparate aus der Unterkieferspeicheldrüse bzw. der Schilddrüse. Den kleinsten Anteil stellten mit 4 Prozent (n=2) der Fälle maligne Lymphome der Orbita.

Da in der statistischen Auswertung der Rezeptor-Expressionsdaten das Patientenkollektiv darüber hinaus auch nach gastrischer und extragastrischer Lokalisation klassifiziert wurde, folgt in **Abbildung 9** eine Darstellung der prozentualen Verteilung hinsichtlich dieser beiden Gruppen. Insgesamt entstammten 20 Prozent der Tumore dem Magen und 80 Prozent waren extragastrischen Ursprungs.



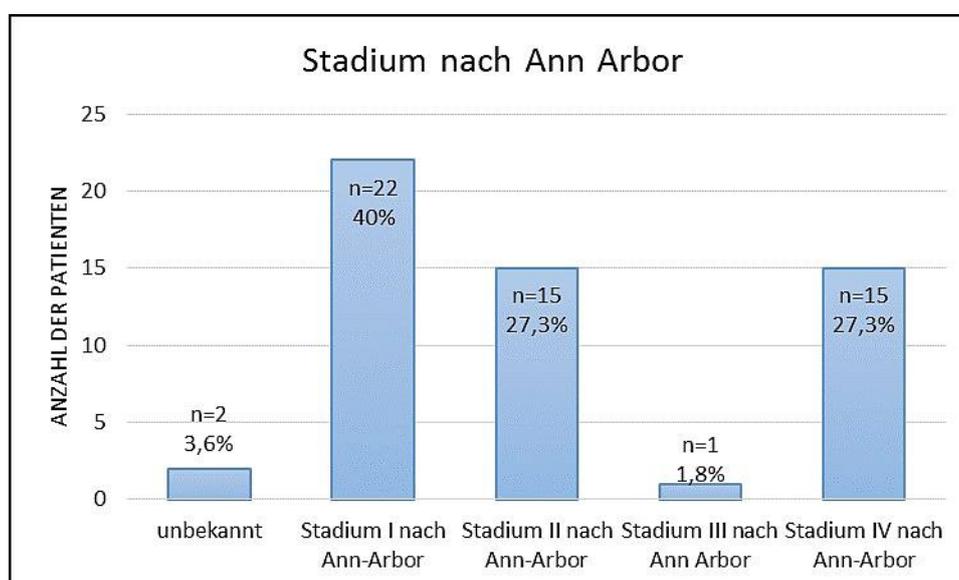
**Abbildung 8:** Aufteilung der Präparate auf die entsprechenden Tumorlokalisationen



**Abbildung 9:** Aufteilung der Präparate hinsichtlich gastrischer und extragastrischer Lokalisation

### 5.2.2 Klassifikation

Die Klassifikation wurde nach dem Ann-Arbor-Schema vorgenommen. Zum Diagnosezeitpunkt befanden sich die meisten Tumore im Stadium I (40 Prozent; n=22) nach Ann Arbor. Jeweils 15 Tumore (27,3 Prozent) waren zum Diagnosezeitpunkt bereits im Stadium II beziehungsweise im Stadium IV nach Ann Arbor. In einem Fall lag bei Diagnosestellung das Stadium III nach Ann Arbor vor. Von zwei Patienten fehlten die entsprechenden klinischen Angaben. Eine graphische Darstellung der Verteilung der Präparate auf die verschiedenen Stadien ist der **Abbildung 10** zu entnehmen.



**Abbildung 10:** Aufteilung der Präparate hinsichtlich der Klassifikation nach Ann Arbor

### 5.2.3 Begleiterkrankungen

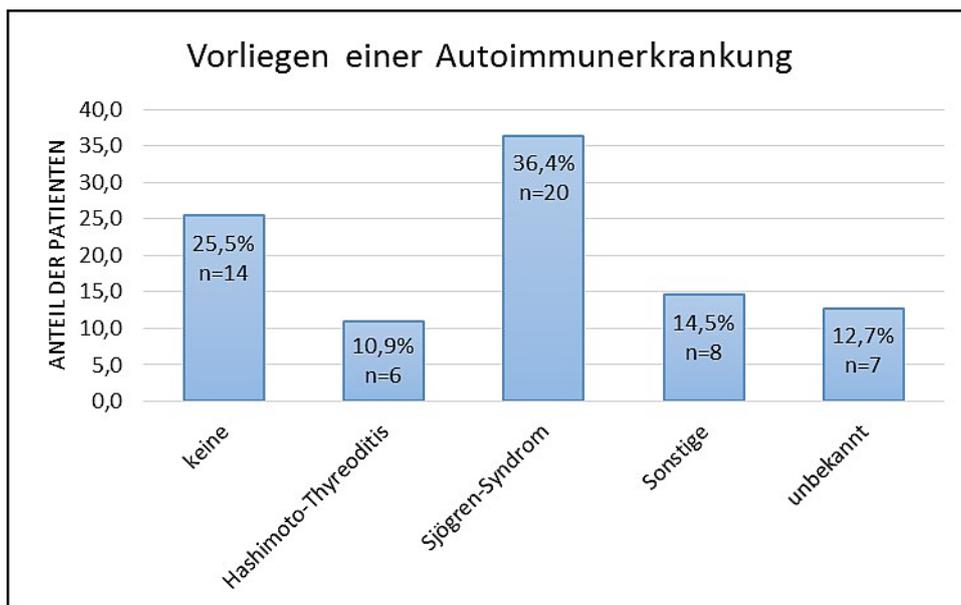
Wie bei Non-Hodgkin-Lymphomen des MALT-Typs zu erwarten war, zeigte ein Großteil der untersuchten Patienten klinische Hinweise auf bestimmte chronische pathologische Prozesse. Je nach Tumorlokalisation waren diese zum einen durch verschiedene Autoimmunerkrankungen, zum anderen durch eine Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* bedingt. In den klinischen Daten fanden sich Angaben dazu, ob die Patienten beispielsweise am Sjögren-Syndrom leiden oder litten oder ob eine Hashimoto-Thyreoiditis vorliegt oder vorlag. Darüber hinaus wurden rund zwei Drittel der Patienten auf eine mögliche Infektion mit dem Bakterium *Helicobacter pylori* hin untersucht. Die folgende Kreuztabelle in **Abbildung 11** gibt Auskunft über das Vorkommen dieser Begleiterkrankungen bei den untersuchten Patienten. So waren nur 2 der 55 Patienten weder an einer *Helicobacter-pylori*-

Infektion erkrankt, noch konnten Autoantikörper nachgewiesen werden. In zehn Fällen litten die Patienten sowohl an einer Autoimmunerkrankung als auch an einer Besiedlung mit *Helicobacter pylori*.

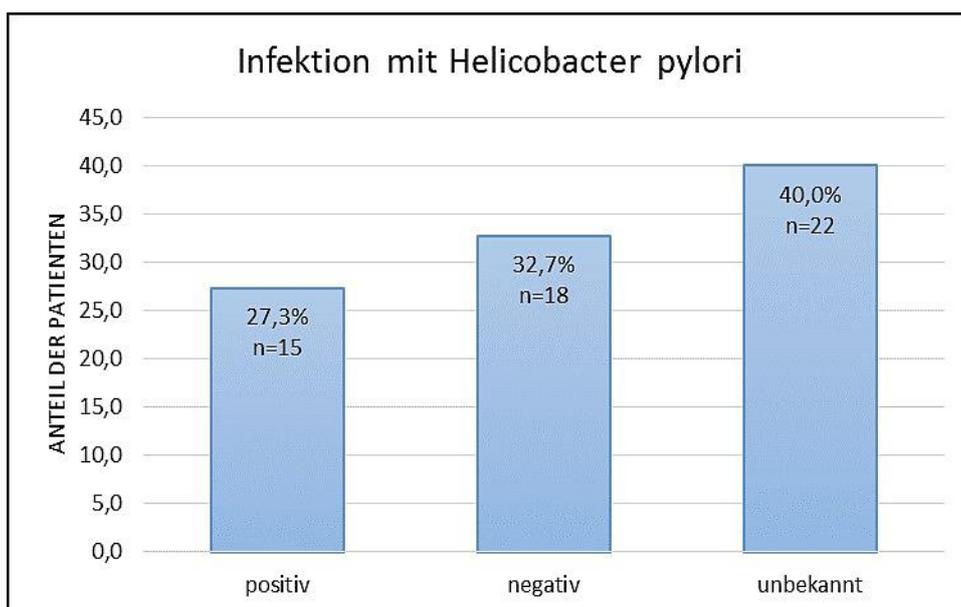
		Helicobacter-pylori-Infektion			Gesamtsumme
		nein	ja	unbekannt	
<b>Autoimmunerkrankung</b>	Autoimmunerkrankung negativ	2	7	5	14
	Autoimmunerkrankung positiv	12	10	12	34
	unbekannt	1	1	5	7
Gesamtsumme		15	18	22	55

**Abbildung 11:** Vorliegen einer Autoimmunerkrankung beziehungsweise einer Helicobacter-pylori-Infektion bei den entsprechenden Patienten

Einzelnen betrachtet konnte in 61,8 Prozent (n=34) der Fälle eine Autoimmunerkrankung nachgewiesen werden. Von 12,7 Prozent (n=7) der Patienten lagen keine Daten hierzu vor, woraufhin sie, wie in **Abbildung 12** dargestellt, den Status „unbekannt“ zugeordnet bekamen. Die mit Abstand häufigste autoimmune Erkrankung bei den untersuchten Patienten mit MALT-Lymphomen, war das Sjögren-Syndrom (36,4 Prozent der Fälle; n=20), gefolgt von der Hashimoto-Thyreoiditis, welche in 10,9 Prozent (n=6) der Fälle vorlag. Bei 14,5 Prozent (n=8) der Patienten konnten verschiedene sonstige Autoantikörper im Blut nachgewiesen werden. In diesen Fällen ging aus den klinischen Angaben jedoch keine konkrete Diagnose hervor.



**Abbildung 12:** Anzahl der Patienten mit einer bekannten Autoimmunerkrankung



**Abbildung 13:** Vorliegen einer Infektion mit Helicobacter pylori bei den untersuchten Patienten

In **Abbildung 13** ist das Vorliegen einer Infektion mit dem Bakterium Helicobacter pylori im Patientenkollektiv dargestellt. In 60,0 Prozent (n=33) der Fälle lagen hierzu klinische Angaben vor. 27,3 Prozent (n=15) der Patienten wiesen eine Bakterienbesiedelung auf. 32,7 Prozent (n=18) der Fälle waren Helicobacter-pylori-negativ.

### 5.3 Immunhistochemie

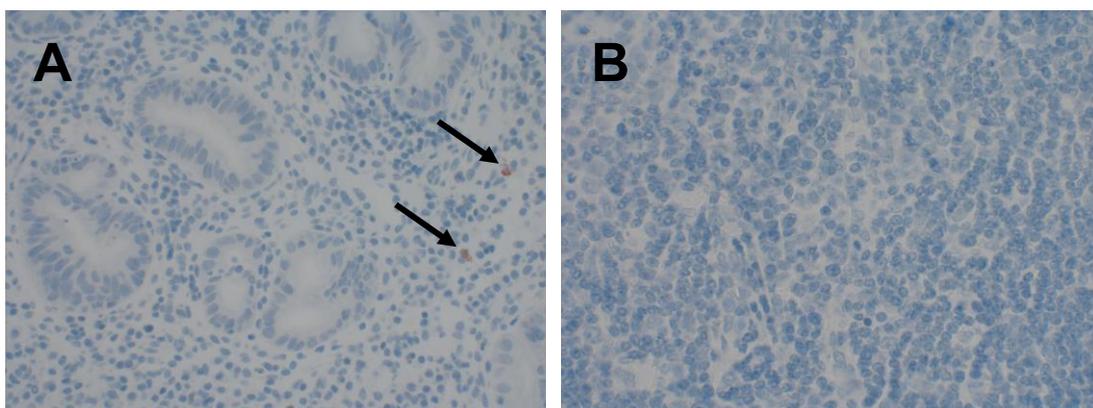
#### 5.3.1 Somatostatin-Rezeptor-Subtypen

Die immunhistochemischen Untersuchungen zeigten Subtypen-abhängig membranständige sowie zytoplasmatische Färbungen in allen Intensitäten.

Präparatespezifisch traten bei allen Subtypen sowohl gleichmäßig in einer Intensität gefärbte Tumore als auch starke Inhomogenitäten in der Färbeintensität und in den Expressionsorten innerhalb eines Tumors auf. Stärker gefärbte Randbereiche der Schnitte sowie stark gefärbte nekrotische Areale wurden als unspezifische Reaktionen nicht mitbewertet. Da in lymphatischem Gewebe physiologischerweise bereits immunhistochemische Reaktionen vor allem im Bereich der Follikel auftreten, wurde vergleichend von allen Präparaten eine klassische HE-Färbung angefertigt. Mit Hilfe der HE-Färbungen war es in der Regel möglich, maligne entartete Bereiche von normalem Gewebe zu differenzieren. Im direkten Vergleich konnten anschließend die spezifischen SSTR-Färbungen ausgewertet werden.

#### SSTR1

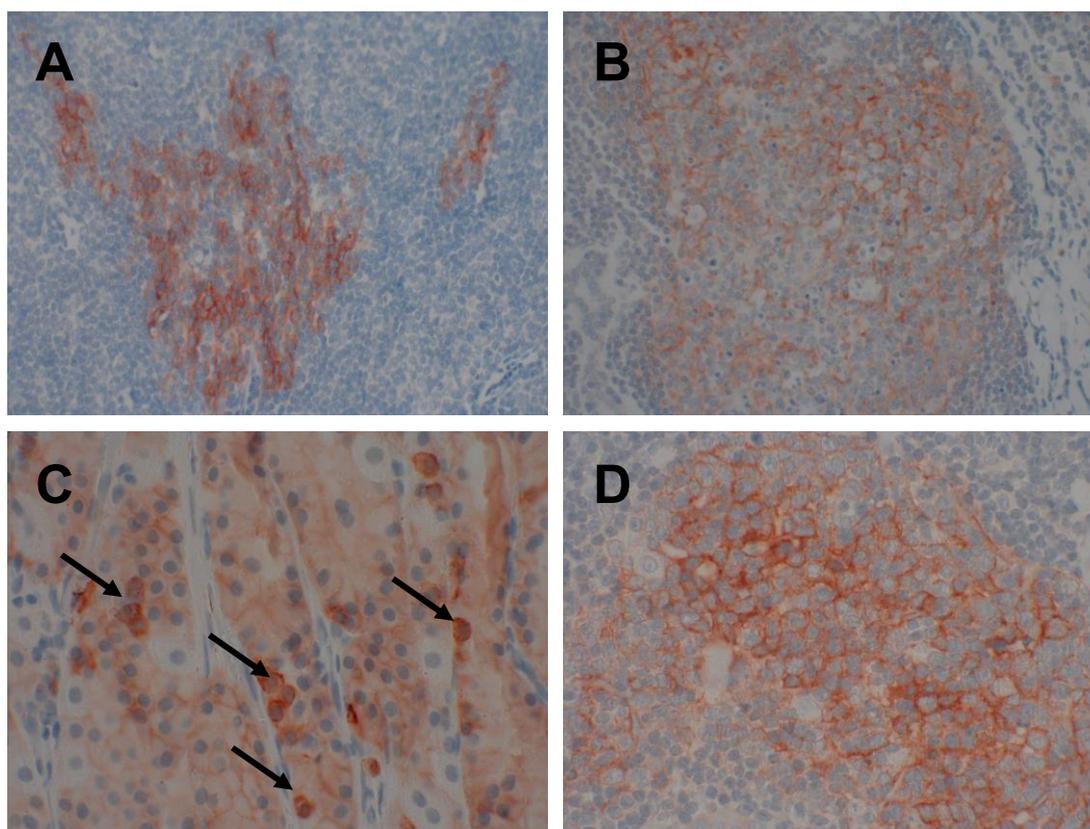
Die Tumorzellen der MALT-Lymphome ließen sich nicht hinsichtlich des SSTR1 immunhistochemisch anfärben (**Abbildung 14**). Dagegen zeigten vereinzelte Zellen vor allem im Bereich bindegewebiger Strukturen innerhalb des Tumors eine starke Positivität, wurden aber am ehesten als Mastzellen oder Makrophagen identifiziert, sodass diese nicht als spezifische Tumorfärbung zu werten waren (**Abbildung 14A**, Pfeile).



**Abbildung 14:** SSTR1-Expression (rotbraune Färbung) in den untersuchten MALT-Lymphomen. A: gastrisches Lymphom; B: extragastrisches Lymphom. Immunhistochemie, Gegenfärbung mit Hämatoxylin; Originalvergrößerung: x400; Pfeile: SSTR1-positive Mastzellen.

## SSTR2A

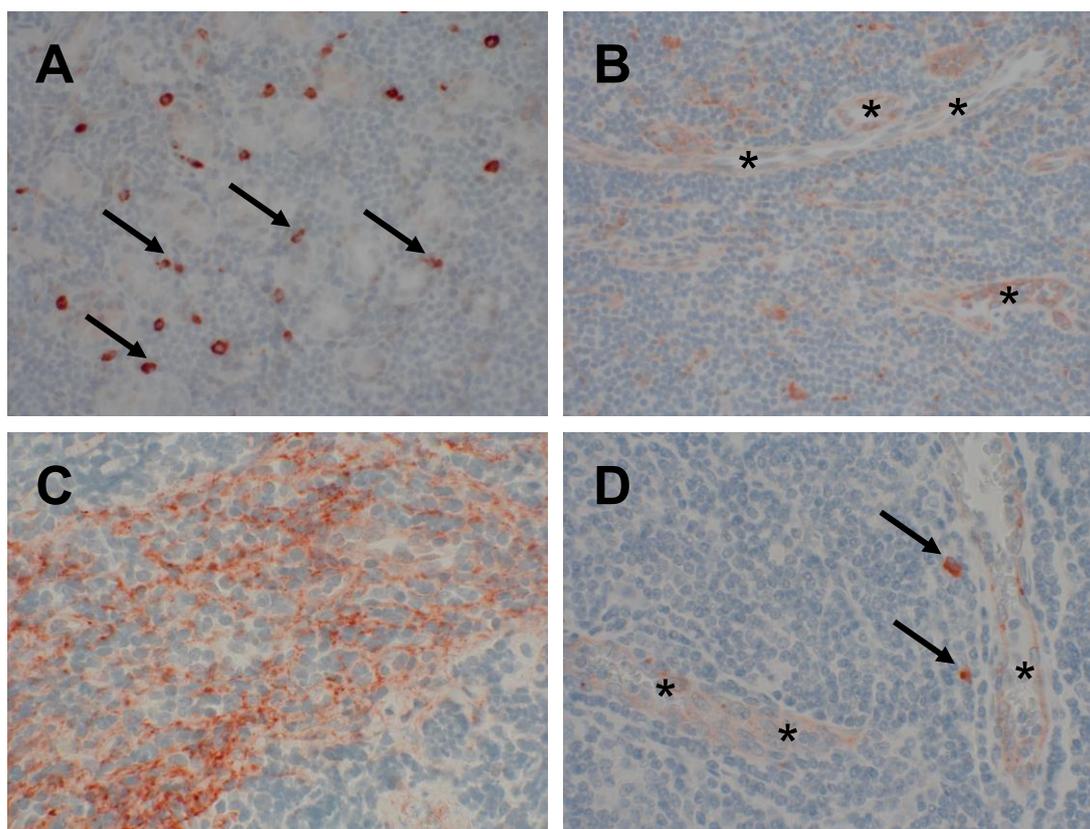
In den meisten Präparaten konnte keine nennenswerte SSTR2A-Färbung der Tumorzellen nachgewiesen werden. Wenn sich ein Immunsignal nachweisen ließ, war es meist sehr stark ausgeprägt und membranständig (**Abbildung 15**). Einige Präparate wiesen folliculäre Bereiche auf, die intensiv gefärbt waren (**Abbildung 15A**). Da auch die Keimzentren eines normalen Lymphknotens üblicherweise bereits eine starke Färbereaktion für den SSTR2A in der Immunhistochemie aufweisen, konnte in einigen positiven Präparaten nicht sicher unterschieden werden, ob es sich um unveränderte normale Lymphfollikel handelt oder ob bereits eine Tumordinfiltration mit Ausbildung von Sekundärfollikeln stattgefunden hat. Daher wurden die gefärbten folliculären Bereiche in diesen unklaren Fällen genauso wie die Färbungen der Keimzentren der „normalen“ Lymphfollikel in die Auswertung der SSTR2A-Expression der Tumore nicht mit einbezogen. Neben der Immunfärbung der (neoplastischen) Follikel zeigte sich in den Magenpräparaten auch eine deutliche Anfärbung der endokrinen Zellen der Magenschleimhaut (**Abbildung 15C**, Pfeile).



**Abbildung 15:** SSTR2-Expression (rotbraune Färbung) in den untersuchten MALT-Lymphomen. A: gastrisches Lymphom; B, D: extragastrisches Lymphom; C: SSTR2-positive endokrin aktive Zellen in der Magenschleimhaut (Pfeile). Immunhistochemie, Gegenfärbung mit Hämatoxylin; Originalvergrößerung: x400 (A, B), x630 (C, D).

### SSTR3

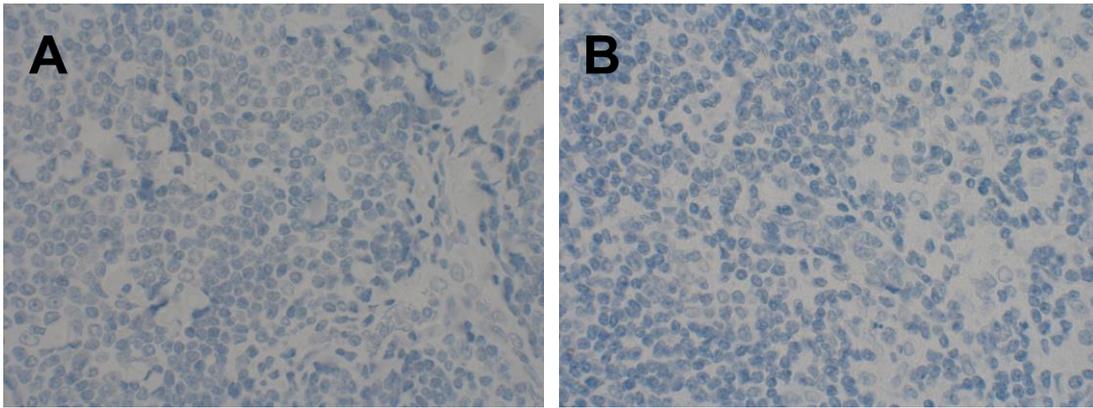
Der SSTR3 wies in der vorliegenden Arbeit ein ähnliches Färbemuster wie der SSTR1 auf. Im gesunden Gewebe sowie im Tumor ließen sich häufig Granulozyten, Makrophagen und Mastzellen sowie Gefäße stark positiv anfärben (**Abbildung 16A, B, D**). Wenn eine Positivität des Tumorgewebes vorlag, so ergab sich eine intensive, vorwiegend membranständige Färbung einzelner Areale, die überwiegend heterogen verteilt im malignen Gewebe auffindbar waren (**Abbildung 16C**).



**Abbildung 16:** SSTR3-Expression (rotbraune Färbung) in den untersuchten MALT-Lymphomen. A, C: gastrisches Lymphom; B, D: extragastrisches Lymphom; Pfeile: SSTR3-positive Immunzellen; Sterne: SSTR3-positive Gefäßendothelien. Immunhistochemie, Gegenfärbung mit Hämatoxylin; Originalvergrößerung: x400 (A, B), x630 (C, D).

### SSTR4

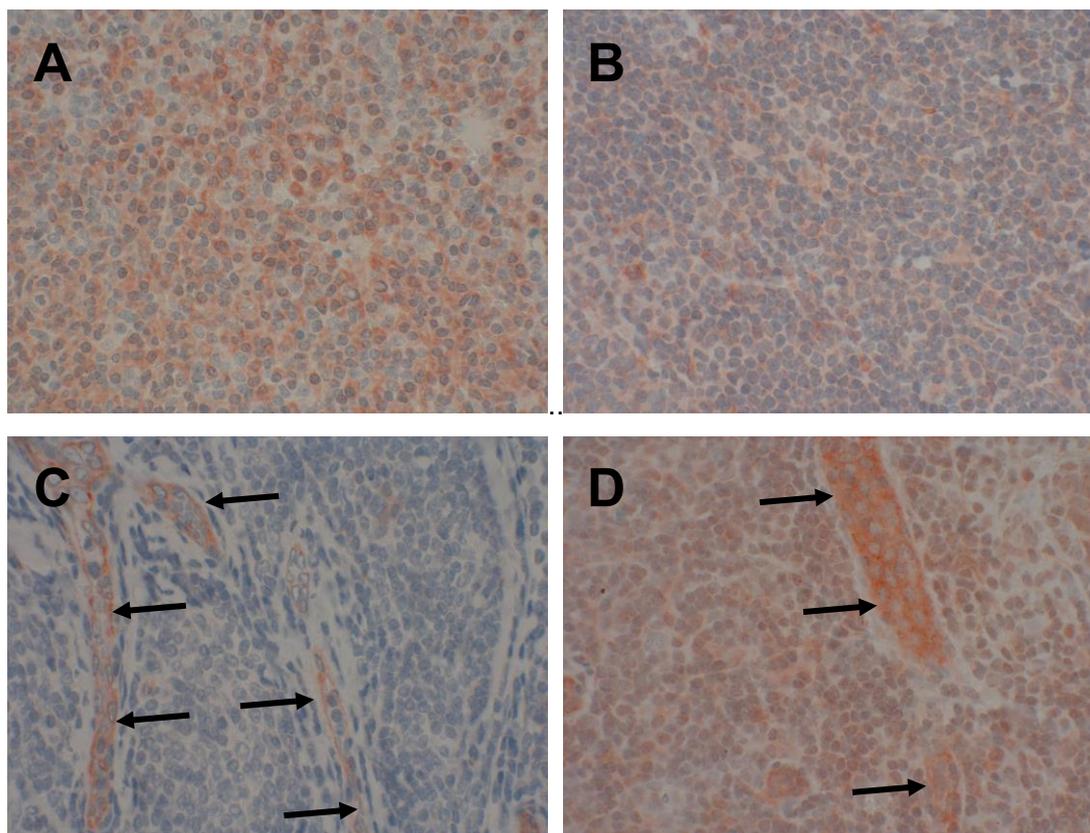
Der SSTR4 konnte in den meisten Tumoren nicht nachgewiesen werden (**Abbildung 17**). Wenn überhaupt, zeigte sich in den Präparaten eine meist homogene, überwiegend randständige und schwache zytoplasmatische Immunreaktionen.



**Abbildung 17:** SSTR4-Expression (rotbraune Färbung) in den untersuchten MALT-Lymphomen.  
A: gastrisches Lymphom; B: extragastrisches Lymphom. Immunhistochemie, Gegenfärbung mit Hämatoxylin; Originalvergrößerung: x630.

## SSTR5

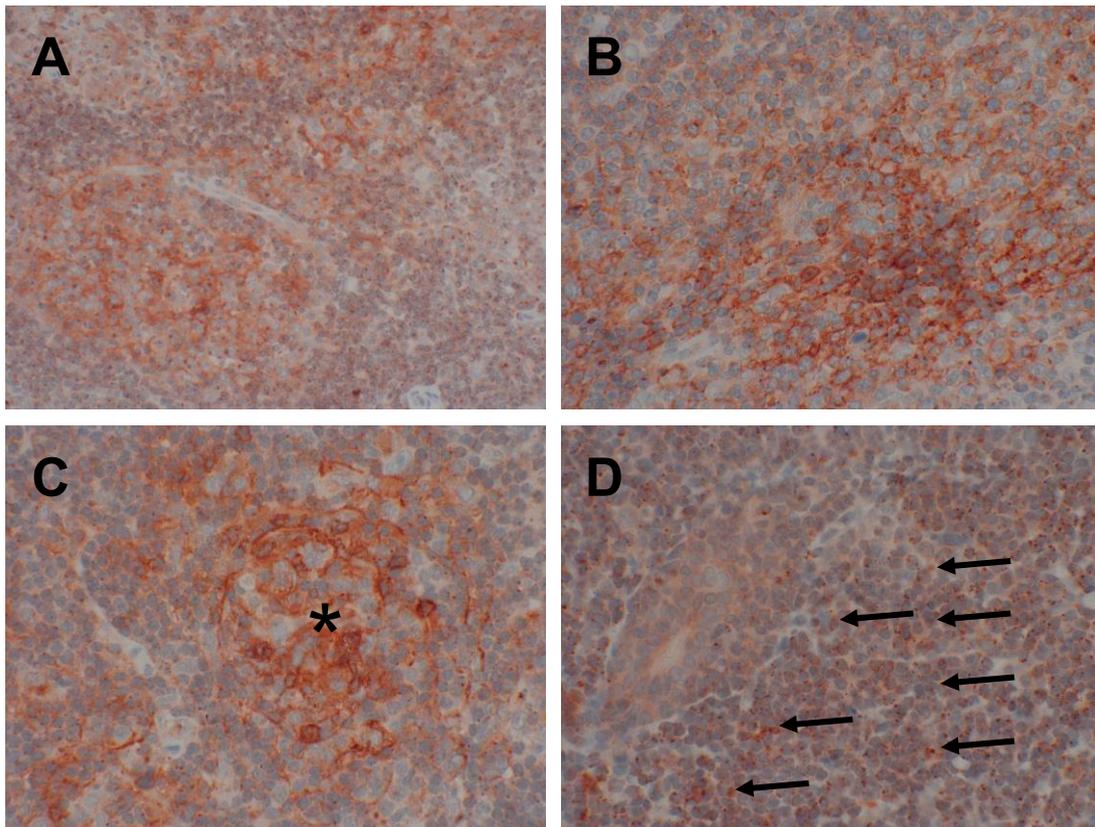
Durch den monoklonalen Antikörper gegen den SSTR5 ließen sich sowohl membranständige, als auch zytoplasmatische Färbereaktionen erzielen. Insgesamt zeigten die Proben der MALT-Lymphome in Bezug auf den SSTR5 zwar von allen SSTR-Färbungen die intensivste Reaktion, allerdings ist ein durchschnittlicher IRS von 2,7 als eher schwach bis mäßig gefärbt zu bewerten (**Abbildung 18A, B, D**). Auch konnte bei vielen Präparaten keine Immunreaktion verzeichnet werden (**Abbildung 18C**). Häufig fanden sich innerhalb eines Präparates verschiedene Färbeintensitäten. Darüber hinaus fiel auf, dass die Tumorgefäße fast immer stark SSTR5-positiv waren (**Abbildung 18C, D**).



**Abbildung 18:** SSTR5-Expression (rotbraune Färbung) in den untersuchten MALT-Lymphomen. A, C: gastrisches Lymphom; B, D: extragastrisches Lymphom; Pfeile: SSTR5-positive Gefäßendothelien. Immunhistochemie, Gegenfärbung mit Hämatoxylin; Originalvergrößerung: x630.

### 5.3.2 CXCR4

Beim Chemokin-Rezeptor CXCR4 fand sich in den Tumorzellen mit Abstand das intensivste Immunsignal, wobei die Präparate wie beim SSTR5 meist homogen gefärbt waren (**Abbildung 19**). Kein Präparat wies einen IRS-Wert unter 2 auf. Wie beim SSTR2 konnten auch hier Gewebe, die physiologischerweise ebenfalls als proliferativ zu bewerten sind, wie die Keimzentren der Follikel, deutlich und membranständig angefärbt werden (**Abbildung 19C**). Bei den Tumorzellen fanden sich sowohl zytoplasmatische als auch membranständige Färbungen. Speziell in den Tumorzellen um die Follikel herum zeigte sich aber auch in vielen Fällen, ein starkes intrazelluläres, punktförmiges Immunsignal, was auf eine ausgeprägte Internalisierung der Rezeptoren in intrazellulären Vesikeln schließen lässt (**Abbildung 19D**).

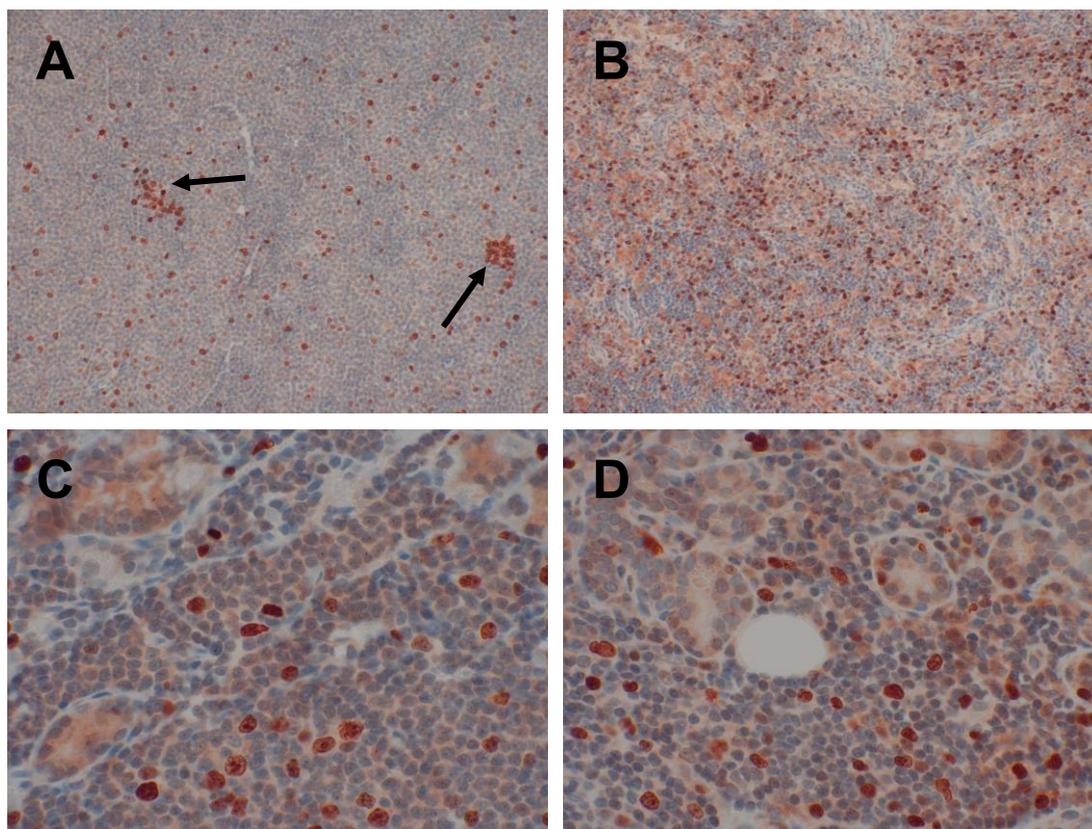


**Abbildung 19:** CXCR4-Expression (rotbraune Färbung) in den untersuchten MALT-Lymphomen.

A: gastrisches Lymphom; B, C, D: extragastrisches Lymphom; Stern: CXCR4-positives Keimzentrum eines Lymphfollikels; Pfeile: punktförmige Rezeptor-Internalisierung in Tumorzellen. Immunhistochemie, Gegenfärbung mit Hämatoxylin; Originalvergrößerung: x400 (A, B), x630 (C, D).

### 5.3.3 Ki-67

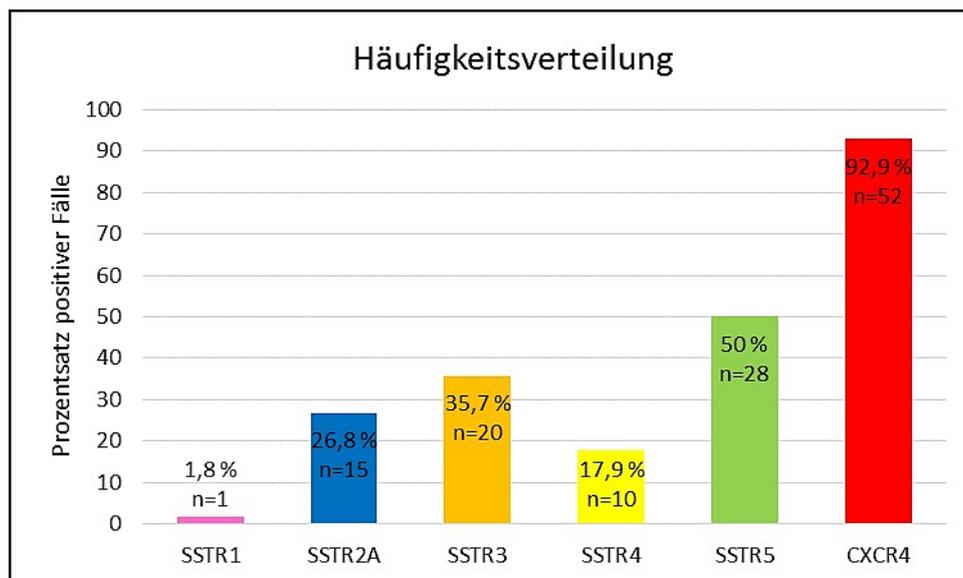
Beim Proliferationsmarker Ki-67 konnte ähnlich wie beim Chemokinrezeptor CXCR4 in den untersuchten Proben meist eine hohe Expressionsrate beobachtet werden (**Abbildung 20**). Auch hier wiesen die Zellen der Keimzentren der Follikel meist eine starke Ki-67-Expression auf (**Abbildung 20A**, Pfeile). Allerdings fanden sich auch Präparate, bei denen nur einzelne Zellkerne Ki-67-positiv waren (**Abbildung 20A**).



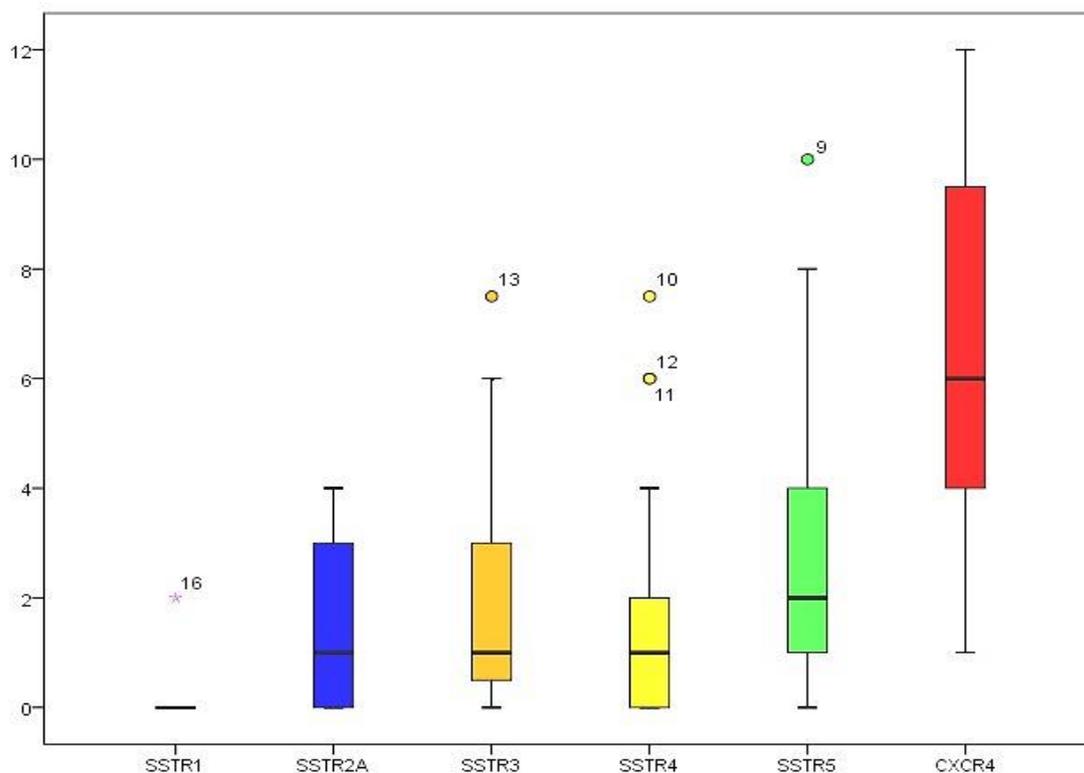
**Abbildung 20:** Ki-67-Expression (rotbraune Färbung) in den untersuchten MALT-Lymphomen. A, C: gastrisches Lymphom; B, D: extragastrisches Lymphom; Pfeile: kleine Ki-67-positive Keimzentren. Immunhistochemie, Gegenfärbung mit Hämatoxylin; Originalvergrößerung: x200 (A, B), x630 (C, D).

#### 5.3.4 Häufigkeitsverteilung der Rezeptor-Subtypen

Da insgesamt 64 Proben von 55 Patienten vorlagen, wurden beim Vorhandensein mehrerer Gewebeproben pro Patient Mittelwerte aus den jeweiligen IRSs gebildet, so dass nur ein Wert pro Patient in die statistische Auswertung einfluss. Als positiv wurden Präparate gewertet, die im Immunreaktiven Score einen Mindestwert von 3 erreichten. Eine genaue Übersicht ist der **Abbildung 21** zu entnehmen.



**Abbildung 21:** Prozentualer Anteil an Fällen mit einer Positivität für die verschiedenen SSTR-Subtypen beziehungsweise für den CXCR4. Als positiv wurden nur Fälle mit einem IRS  $\geq 3$  gewertet.



**Abbildung 22:** Boxplot-Darstellung der Verteilung der Expressionsintensitäten entsprechend dem IRS für die verschiedenen SSTR-Subtypen beziehungsweise für den CXCR4. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

Ergänzend zeigt die **Abbildung 22** die Verteilung der Expressionsintensitäten für die verschiedenen Rezeptoren nach dem IRS. Hierbei gingen alle Präparate, also auch solche mit einem IRS-Wert von 0 in die Bewertung mit ein.

Im Folgenden sind die Expressionsstärken der einzelnen Rezeptoren vergleichend dargestellt. Hierzu wurden die Werte aus dem IRS aus Gründen der besseren Übersichtlichkeit und leichteren Vergleichbarkeit mit Hilfe der IRS-Klassifikation in vier Gruppen eingeteilt, wobei „0“ einer negativen, „1“ einer schwachen, „2“ einer mäßigen und „3“ einer starken Färbereaktion entsprechen (**siehe Tabelle 9**).

### SSTR1

Der SSTR1 ließ sich mit einer einzigen Ausnahme bei den untersuchten Proben nicht immunhistochemisch anfärben (**Tabelle 10**). 98,2 Prozent (n=54) aller Präparate wurde mit einem IRS-Wert von 0 bewertet. In einer Probe (1,8%; n=1) ließ sich ein schwach angefärbtes Areal nachweisen, so dass hier ein Intensitäts-Wert von 1 erreicht wurde. Da kein Präparat intensiv angefärbt werden konnte, erreichte keine der untersuchten Proben einen IRS-Wert von 2 oder 3.

	IRS-Klassifikation	
	Anzahl	Prozentsatz
<b>0=negativ</b>	54	98,2
<b>1=schwach</b>	1	1,8
<b>2=mäßig</b>	0	0
<b>3=stark</b>	0	0

**Tabelle 10:**

Häufigkeitsverteilung der Expressionsstärke des SSTR1, entsprechend der IRS-Klassifikation

### SSTR2A

Der Rezeptor-Subtyp SSTR2A konnte insgesamt mit einer höheren Intensität angefärbt werden als der SSTR1. Bei 50,9 Prozent (n=28) der Patienten war der Tumor jedoch ungefärbt. 45,5 Prozent der Fälle (n=25) erzielten eine IRS-Klassifikation von 1 und gelten somit als schwach positiv. Zwei weitere Präparate (3,6 Prozent der Fälle) wurden als mäßig gefärbt klassifiziert. Einen Wert von 3 in der IRS-Klassifikation erreichte keines der untersuchten Präparate (**Tabelle 11**).

	IRS-Klassifikation	
	Anzahl	Prozentsatz
<b>0=negativ</b>	28	50,9
<b>1=schwach</b>	25	45,5
<b>2=mäßig</b>	2	3,6
<b>3=stark</b>	0	0

**Tabelle 11:**

Häufigkeitsverteilung der Expressionsstärke des SSTR2A, entsprechend der IRS-Klassifikation

### SSTR3

Im Vergleich zu den Rezeptor-Subtypen SSTR1 und SSTR2A ließ sich der SSTR 3 mit einer höheren Intensität anfärben. Zwar zeigten 52,7 Prozent der Fälle (n=29) keine Positivität für diesen Rezeptor, jedoch konnten jeweils 13 (je 23,6 Prozent) der untersuchten Proben als schwach beziehungsweise mäßig gefärbt klassifiziert werden. Einen Wert von 3 in der IRS-Klassifikation erreichte keines der untersuchten Präparate (**Tabelle 12**).

	IRS-Klassifikation	
	Anzahl	Prozentsatz
<b>0=negativ</b>	29	52,7
<b>1=schwach</b>	13	23,6
<b>2=mäßig</b>	13	23,6
<b>3=stark</b>	0	0

**Tabelle 12:**

Häufigkeitsverteilung der Expressionsstärke des SSTR3, entsprechend der IRS-Klassifikation

### SSTR4

Der Somatostatin-Rezeptor SSTR4 war in 67,3 Prozent der Fälle (n=37) nicht nachweisbar. Bei 13 (23,6 Prozent) Patientenproben ließ sich eine schwache, in 9,1 Prozent der Fälle (n=5) eine mäßig positive Färbereaktion nachweisen. Einen Wert von 3 in der IRS-Klassifikation erreichte keines der untersuchten Präparate (**Tabelle 13**).

	IRS-Klassifikation	
	Anzahl	Prozentsatz
<b>0=negativ</b>	37	67,3
<b>1=schwach</b>	13	23,6
<b>2=mäßig</b>	5	9,1
<b>3=stark</b>	0	0

**Tabelle 13:**

Häufigkeitsverteilung der Expressionsstärke des SSTR4, entsprechend der IRS-Klassifikation

## SSTR5

Die intensivsten Färbungen innerhalb der Somatostatin-Rezeptor-Familie konnten für den SSTR5 verzeichnet werden. 18 Fälle (32,7 Prozent) zeigten einen Klassifikations-Wert von eins und gelten somit als schwach positiv. 29,1 Prozent der Präparate (n=16) zeigten eine mäßig positive Färbereaktion. Eine (1,8 Prozent der Fälle) Probe erreichte gar den höchsten Wert von 3 in der IRS-Klassifikation (**Tabelle 14**).

	IRS-Klassifikation	
	Anzahl	Prozentsatz
<b>0=negativ</b>	20	36,4
<b>1=schwach</b>	18	32,7
<b>2=mäßig</b>	16	29,1
<b>3=stark</b>	1	1,8

**Tabelle 14:**

Häufigkeitsverteilung der Expressionsstärke des SSTR5, entsprechend der IRS-Klassifikation

## CXCR4

Der Chemokin-Rezeptor CXCR4 war von allen untersuchten Rezeptoren derjenige, welcher am intensivsten angefärbt werden konnte. Nur in zwei Fällen (3,6 Prozent) konnte keine Immunreaktion nachgewiesen werden. Mit einer schwachen Färbung wurden 10,9 Prozent der Proben (n=6) klassifiziert. Der Großteil aller Proben (58,2 Prozent der Fälle; n=32) wurde mit 2 Klassifikations-Punkten bewertet. 27,3 Prozent der Fälle (n=15) erreichten die intensivste Färbung und somit eine Bewertung von 3 in der IRS-Klassifikation (**Tabelle 15**).

	IRS-Klassifikation	
	Anzahl	Prozentsatz
<b>0=negativ</b>	2	3,6
<b>1=schwach</b>	6	10,9
<b>2=mäßig</b>	32	58,2
<b>3=stark</b>	15	27,3

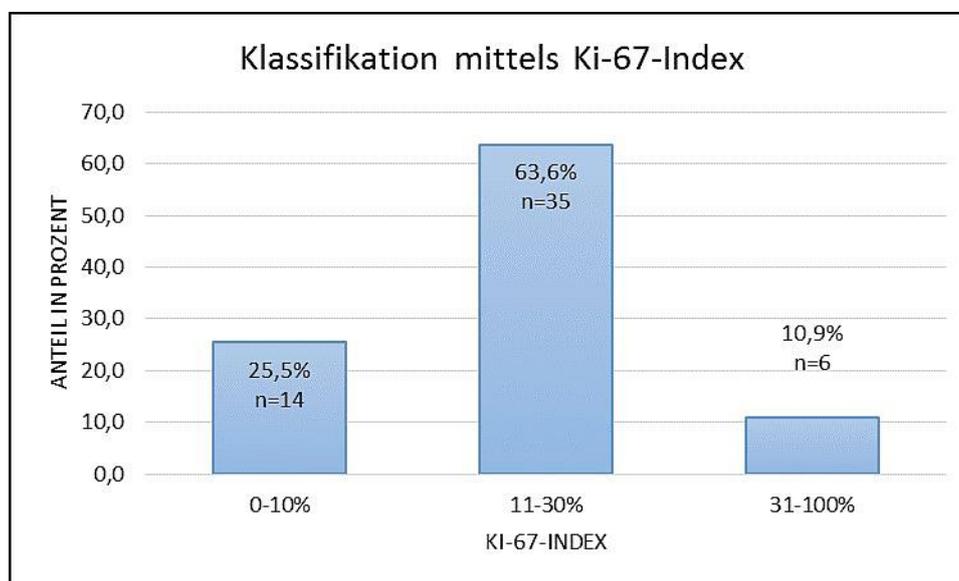
**Tabelle 15:**

Häufigkeitsverteilung der Expressionsstärke des CXCR4, entsprechend der IRS-Klassifikation

## Ki-67

Die Klassifikation des Ki-67-Index erfolgte durch Einordnung der Proben in 3 Gruppen. Präparate mit einer Ki-67-Positivität von weniger als 10 Prozent wurden der ersten Gruppe

zugeordnet. Mit 14 Patienten ließen sich 25,5 Prozent der Präparate in diese Gruppe einteilen. Der Großteil (n=35; 63,6 Prozent) der Patienten wies Ki-67-Werte zwischen 11 und 30 Prozent auf und wurde somit der zweiten Gruppe zugeordnet. Eine Ki-67-Positivität von 31 Prozent und mehr (Gruppe 3) zeigten nur 10,9 Prozent (n=6) der Patienten (**Abbildung 23**).



**Abbildung 23:** Aufteilung der Patienten in die Ki-67-Klassifikationsgruppen

## 5.4 Statistik

Zur statistischen Analyse wurde das Programm IBM SPSS Statistics in der Version 22 verwendet. Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests wurde überprüft, ob die vorliegenden Daten als normalverteilt zu betrachten sind. Der Test ergab, dass alle Daten nicht normalverteilt sind.

### 5.4.1 Korrelationen zwischen den Rezeptorexpressionsintensitäten

Im Weiteren wurde mittels des Kendell-Tau-b-Tests überprüft, ob die IRS-Werte für die verschiedenen Rezeptorsubtypen miteinander korrelieren.

Hierbei zeigte sich, dass die Expression bestimmter Rezeptoren signifikant ( $p \leq 0,05$ ) beziehungsweise hochsignifikant ( $p \leq 0,001$ ) mit der anderer Rezeptoren korreliert. So korrelierte die SSTR3-Expression signifikant mit der des SSTR4 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,350$ ;  $p=0,002$ ) sowie hochsignifikant mit der des SSTR5 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,430$ ;  $p < 0,001$ ). Die Expression des SSTR4 korrelierte ebenfalls hochsignifikant mit der des SSTR5 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,466$ ;  $p < 0,001$ ). Ein tendenzieller Zusammenhang

ergab sich für die Expression des SSTR3 mit der des CXCR4 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,197$ ;  $p=0,061$ ). Ansonsten zeigten sich keine weiteren signifikanten Zusammenhänge.

#### **5.4.2 Unterschiede in der Rezeptorexpression in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation**

Im Folgenden wurde nun untersucht, inwiefern es hinsichtlich des Expressions-Ausmaßes der einzelnen Rezeptoren Unterschiede in Bezug auf die Tumorlokalisation gab. Hierbei wurden die Tumore zunächst in gastrische und extragastrische Tumore unterteilt. Im Anschluss erfolgte ein Vergleich zwischen allen fünf Einzellokalisationen (Magen, Ohrspeicheldrüse, Schilddrüse, Unterkieferspeicheldrüse, Augenhöhle) untereinander. Diese Testungen erfolgten jeweils mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests. Der Vergleich zwischen gastrischen und extragastrischen Präparaten wurde im Folgenden zu jedem untersuchten Rezeptor dargestellt. Weiterführende Einzelvergleiche sind aus Gründen der Übersichtlichkeit nur dann als Abbildung oder Tabelle in die Arbeit aufgenommen worden, wenn sich signifikante Unterschiede ergaben.

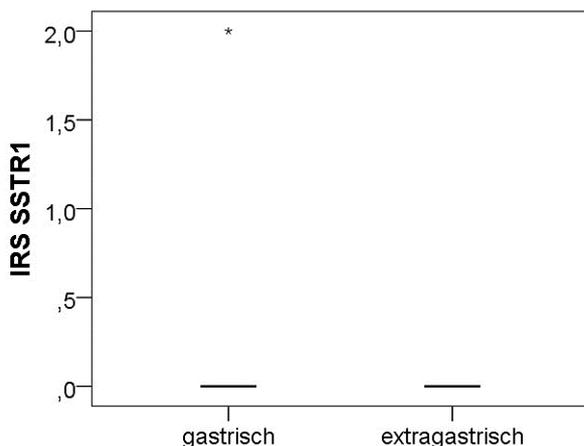
Weiterhin erfolgte die Darstellung der Expressionsstärken für die einzelnen Rezeptoren getrennt nach Tumorlokalisation in Boxplot-Diagrammen.

##### **SSTR1**

Da nur ein Präparat eine SSTR1-Expression aufwies, konnten bei der Untersuchung des SSTR1 weder im Vergleich zwischen gastrischen und extragastrischen Proben, noch bei der Untersuchung der einzelnen Tumorlokalisationen aussagekräftige Unterschiede in der Expressionsstärke festgestellt werden (**Abbildung 24, Tabelle 16**).

##### **SSTR2A**

Beim Vergleich zwischen der gastrischen und der extragastrischen Lokalisation der Tumore in Bezug auf die Expression des SSTR2A zeigte sich im Mann-Whitney-U-Test kein signifikanter Unterschied (**Abbildung 25, Tabelle 17**).



**Abbildung 24:**

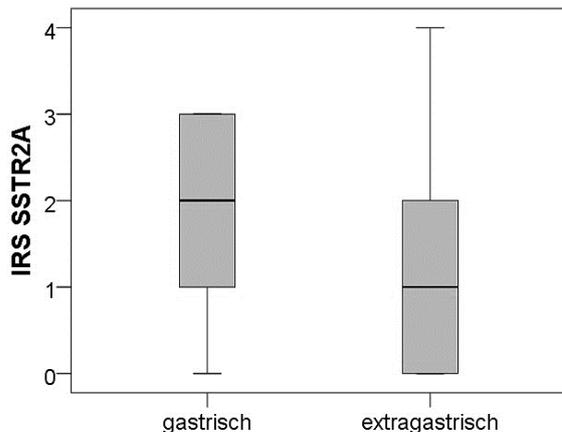
Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR1-Expression nach dem IRS in Bezug auf eine gastrische oder extragastrische Lokalisation der Tumore.

Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

**Tabelle 16:**

Vergleich zwischen den Tumoren gastrischer oder extragastrischer Lokalisation mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich des Ausmaßes der SSTR1-Expression.

<b>Mann-Whitney-U-Test gastrisch vs. extragastrisch</b>	
<b>U-Wert</b>	220,000
<b>Z-Wert</b>	-2,000
<b>p-Wert</b>	<b>0,046*</b> <small>*nur ein Wert positiv, daher keine Aussage möglich</small>



**Abbildung 25:**

Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR2A-Expression nach dem IRS in Bezug auf eine gastrische oder extragastrische Lokalisation der Tumore.

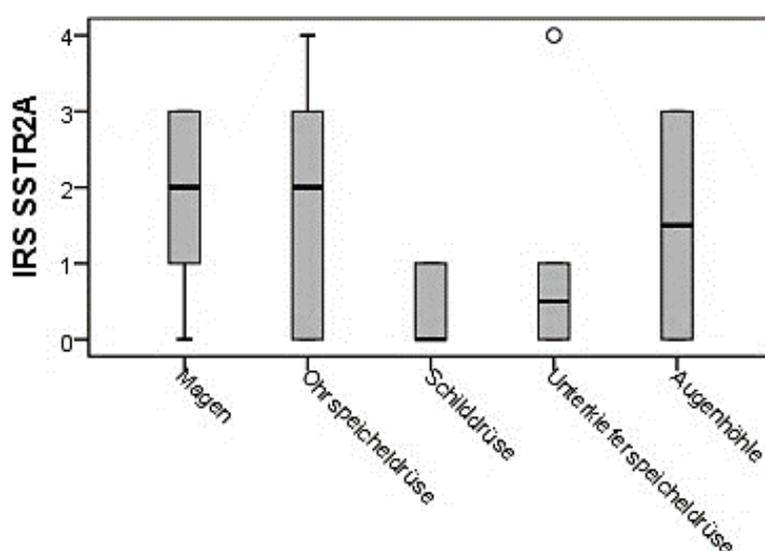
Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

**Tabelle 17:**

Vergleich zwischen den Tumoren gastrischer oder extragastrischer Lokalisation mittels des Mann-Whitney-U-Tests hinsichtlich des Ausmaßes der SSTR2A-Expression.

<b>Mann-Whitney-U-Test gastrisch vs. extragastrisch</b>	
<b>U-Wert</b>	174,000
<b>Z-Wert</b>	-1,482
<b>p-Wert</b>	<b>0,138</b>

Auf Grund des erkennbaren tendenziellen Unterschieds in der SSTR2A-Expression zwischen den Tumoren beider Lokalisationen wurden die einzelnen Herkunftsorte der MALT-Lymphome im Weiteren genauer betrachtet. Bei dem Vergleich zwischen den Tumorlokalisationen Magen und Schilddrüse ergab sich im Mann-Whitney-U-Test ein signifikanter Unterschied ( $U=10,000$ ;  $Z=-2,411$ ;  $p=0,020$ ), mit höheren Werten beim Magen. Auch der Vergleich zwischen den Lymphomen der Ohrspeicheldrüse und der Schilddrüse ergab eine signifikante Differenz ( $U=41,000$ ;  $Z=-2,159$ ;  $p=0,037$ ). Auch hier fanden sich höhere Werte bei den Tumoren der Ohrspeicheldrüse als bei denen der Schilddrüse. Weitere Vergleiche der MALT-Entitäten miteinander zeigten in Bezug auf die SSTR2A-Rezeptor-Expression im Mann-Whitney-U-Test keine signifikanten Unterschiede (**Abbildung 26**).



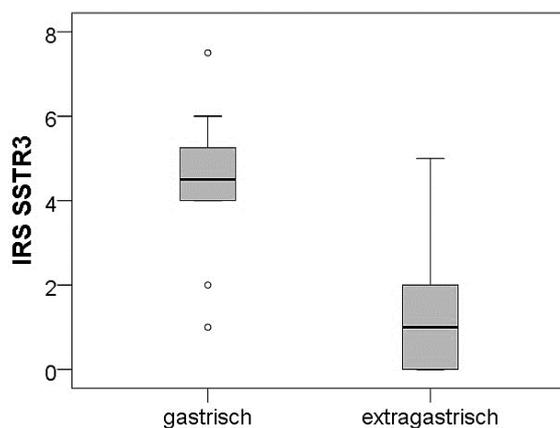
**Abbildung 26:**

Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR2A-Expression nach dem IRS, aufgliedert nach allen fünf vorliegenden Tumorlokalisationen.

Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

### SSTR3

Im Mann-Whitney-U-Test ergab sich zwischen gastrisch und extragastrisch lokalisierten MALT-Lymphomen ein hochsignifikanter Unterschied in Bezug auf die Expression des SSTR3. Gastrische MALT-Lymphome exprimieren signifikant mehr Rezeptoren vom SSTR3-Typ als solche extragastrischen Ursprungs (**Abbildung 27, Tabelle 18**).



**Abbildung 27:**

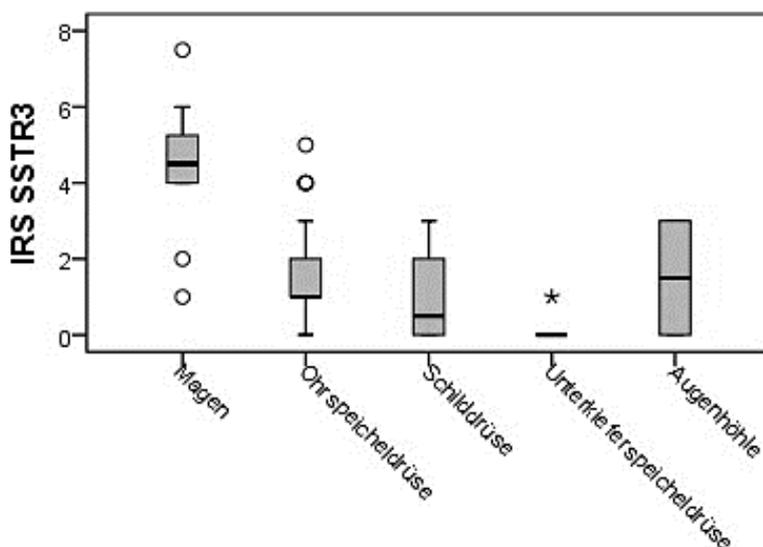
Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR3-Expression nach dem IRS in Bezug auf eine gastrische oder extragastrische Lokalisation der Tumore. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

**Tabelle: 18:**

Vergleich zwischen den Tumoren gastrischer oder extragastrischer Lokalisation mittels Mann-Whitney-U-Test hinsichtlich des Ausmaßes der SSTR3-Expression.

<b>Mann-Whitney-U-Test gastrisch vs. extragastrisch</b>	
<b>U-Wert</b>	46,000
<b>Z-Wert</b>	-4,213
<b>p-Wert</b>	<b>&lt;0,001</b>

Auch der Vergleich der Tumore der Einzellokalisationen untereinander ergab teilweise signifikante Unterschiede in der Expression des SSTR3 (**Abbildung 28**). Der Mann-Whitney-U-Test zeigte Signifikanzen beim Vergleich zwischen den MALT-Lymphomen des Magens und der Ohrspeicheldrüse (U=39,500; Z=-3,773; p<0,001), zwischen Magen und Schilddrüse (U=4,000; Z=-2,942; p=0,002) und Magen und Unterkieferspeicheldrüse (U=0,500; Z=-3,328; p<0,001). Darüber hinaus exprimierten auch die Ohrspeicheldrüse und die Unterkieferspeicheldrüse signifikant unterschiedlich stark den SSTR3 (U=23,500; Z=-2,933; p=0,003). Hier zeigte die Ohrspeicheldrüse höhere SSTR3-IRS-Werte als die Unterkieferspeicheldrüse. In allen Fällen wiesen die Tumore des Magens eine höhere SSTR3-Expression auf als die anderer Lokalisationen. Alle weiteren Vergleiche ergaben keine signifikanten Unterschiede.

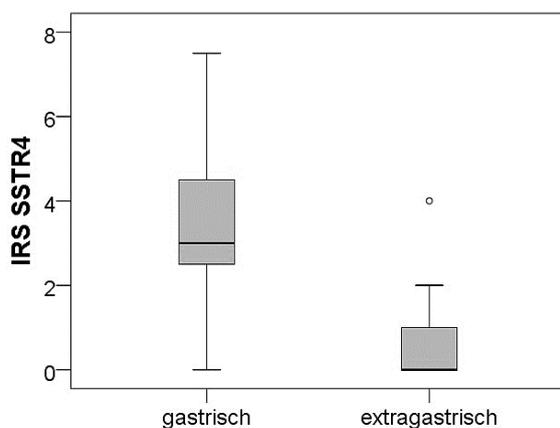


**Abbildung 28:**

Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR3-Expression nach dem IRS, aufgliedert nach allen fünf vorliegenden Tumorlokalisationen. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

### SSTR4

Der Vergleich mittels Mann-Whitney-U-Test zwischen den Tumoren gastrischer und extragastrischer Lokalisation ergab auch beim SSTR4 signifikante Expressionsunterschiede mit höheren Werten bei den Lymphomen gastrischer Herkunft (**Abbildung 29, Tabelle 19**).



**Abbildung 29:**

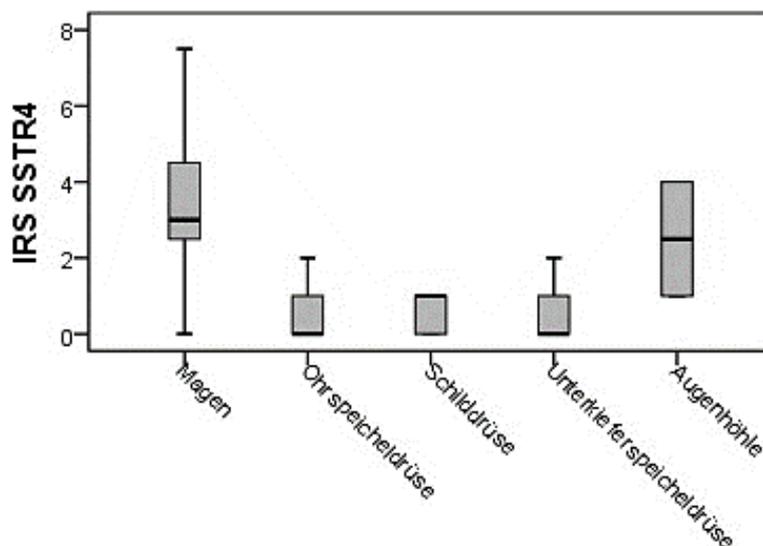
Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR4-Expression nach dem IRS in Bezug auf eine gastrische oder extragastrische Lokalisation der Tumore. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

**Tabelle 19:**

Vergleich zwischen den Tumoren gastrischer oder extragastrischer Lokalisation mittels Mann-Whitney-U-Test hinsichtlich des Ausmaßes der SSTR4-Expression.

Mann-Whitney-U-Test gastrisch vs. extragastrisch	
U-Wert	74,500
Z-Wert	-3,737
p-Wert	<0,001

Auch zwischen den verschiedenen Tumorlokalisationen ergaben sich teilweise signifikante Unterschiede. Hierbei zeigten MALT-Lymphome des Magens eine signifikant höhere Expression als die der Ohrspeicheldrüse ( $U=46,000$ ;  $Z=-3,713$ ;  $p<0,001$ ), der Schilddrüse ( $U=10,000$ ;  $Z=-2,372$ ;  $p=0,020$ ) und der Unterkieferspeicheldrüse ( $U=8,500$ ;  $Z=-2,553$ ;  $p=0,010$ ). Die extragastrisch lokalisierten Tumore wiesen im direkten Vergleich untereinander keine signifikant unterschiedliche Expression des SSTR4 auf (**Abbildung 30**).



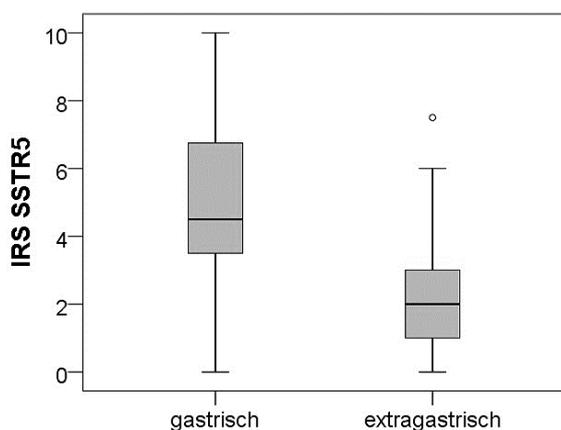
**Abbildung 30:**

Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR4-Expression nach dem IRS, aufgliedert nach allen fünf vorliegenden Tumorlokalisationen.

Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

## SSTR5

Wie schon bei den Rezeptoren SSTR3 und SSTR4 ergab der Mann-Whitney-U-Test auch für den SSTR5 hochsignifikante Unterschiede im Vergleich zwischen einer gastrischen und einer extragastrischen Lokalisation (**Abbildung 31, Tabelle 20**). Auch dieser Rezeptor wird von Non-Hodgkin-Lymphomen des MALT-Typs im Magen häufiger exprimiert als von denen anderer Lokalisationen.

**Abbildung 31:**

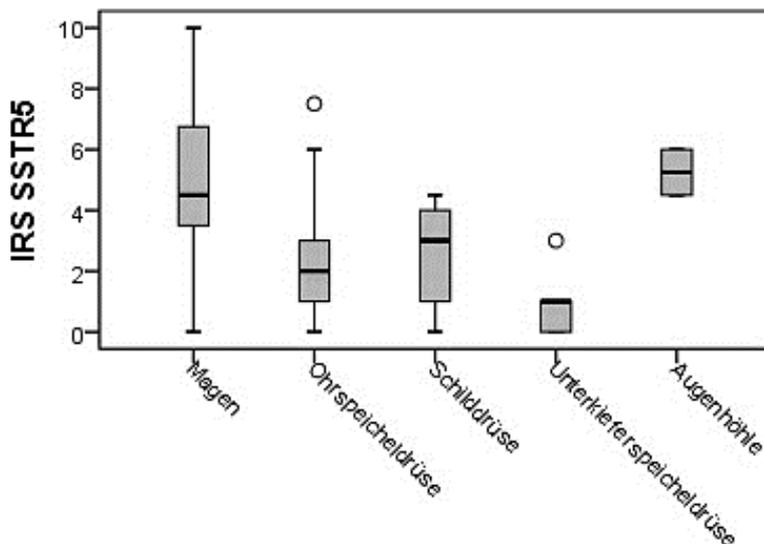
Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR5-Expression nach dem IRS in Bezug auf eine gastrische oder extragastrische Lokalisation der Tumore. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

**Tabelle 20:**

Vergleich zwischen den Tumoren gastrischer oder extragastrischer Lokalisation mittels Mann-Whitney-U-Test hinsichtlich des Ausmaßes der SSTR5-Expression.

<b>Mann-Whitney-U-Test gastrisch vs. extragastrisch</b>	
<b>U-Wert</b>	85,500
<b>Z-Wert</b>	-3,330
<b>p-Wert</b>	<b>0,001</b>

Der direkte Vergleich zwischen den fünf einzelnen Lokalisationen erbrachte signifikante Unterschiede zwischen Lymphomen des Magens und der Ohrspeicheldrüse ( $U=53,000$ ;  $Z=-3,333$ ;  $p=0,001$ ) sowie zwischen denen des Magens und der Unterkieferspeicheldrüse ( $U=6,000$ ;  $Z=-2,735$ ;  $p=0,005$ ) mit jeweils höheren IRS-Werten bei den Tumoren des Magens. Bei den extragastrischen Lokalisationen unterschied sich die Expression des SSTR5 lediglich zwischen den MALT-Lymphomen der Ohrspeicheldrüse und der Augenhöhle signifikant ( $U=3,500$ ;  $Z=-2,104$ ;  $p=0,024$ ). Hier fand sich eine deutlich höhere SSTR5-Expression in den Tumoren der Augenhöhle. Weitere Vergleiche zeigten zwar Tendenzen, erreichten aber nicht das Signifikanzniveau. **Abbildung 32** gibt einen Überblick über die SSTR5-Expression in den untersuchten MALT-Lymphomen.

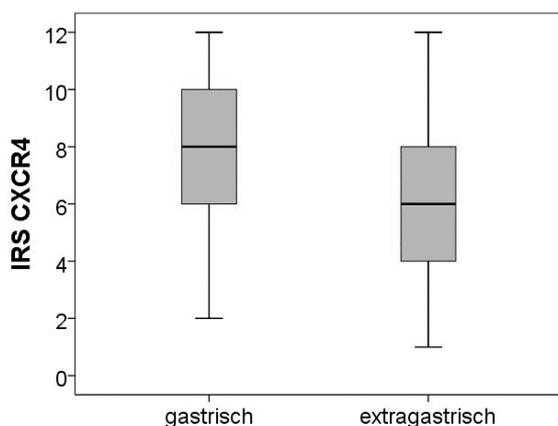


**Abbildung 32:**

Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der SSTR5-Expression nach dem IRS, aufgegliedert nach allen fünf vorliegenden Tumorlokalisationen. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

### CXCR4

Wie aus **Abbildung 33** zu ersehen ist, zeigte der Chemokinrezeptor CXCR4 sowohl bei gastrischen als auch bei extragastrischen MALT-Lymphomen eine hohe Expression. Zwar fand sich eine tendenziell höhere Präsenz bei den Tumoren des Magens, allerdings war dieser Unterschied im Mann-Whitney-U-Test nicht signifikant (**Tabelle 21**).



**Tabelle 21:**

Vergleich zwischen den Tumoren gastrischer oder extra-gastrischer Lokalisation mittels Mann-Whitney-U-Test hinsichtlich des Ausmaßes der CXCR4-Expression.

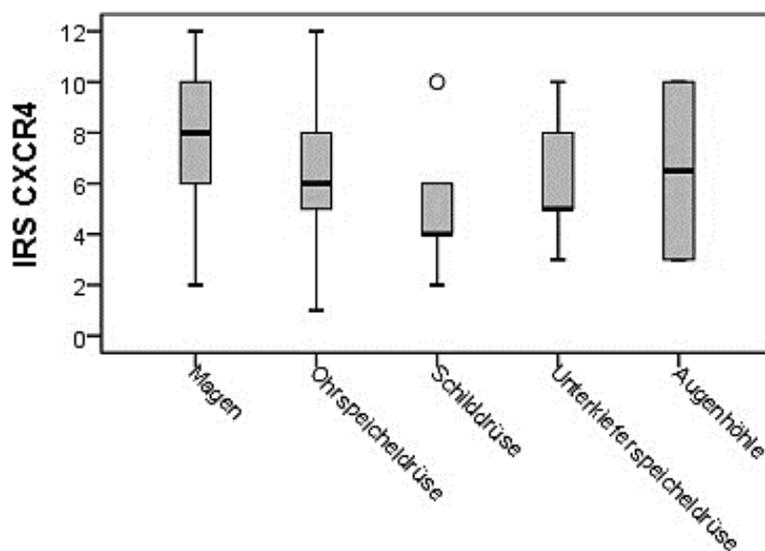
**Mann-Whitney-U-Test  
gastrisch vs.  
extragastrisch**

<b>U-Wert</b>	165,500
<b>Z-Wert</b>	-1,640
<b>p-Wert</b>	<b>0,101</b>

**Abbildung 33:**

Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der CXCR4-Expression nach dem IRS in Bezug auf eine gastrische oder extragastrische Lokalisation der Tumore. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

Auch die Einzelbetrachtung aller Lokalisationen im direkten Vergleich erbrachte keine signifikanten Unterschiede. Allenfalls zwischen den Präparaten des Magens und denen der Schilddrüse lässt sich ein tendenzieller Unterschied bezüglich der CXCR4-Expression ableiten ( $U=16,000$ ;  $Z=-1,748$ ;  $p=0,098$ ).



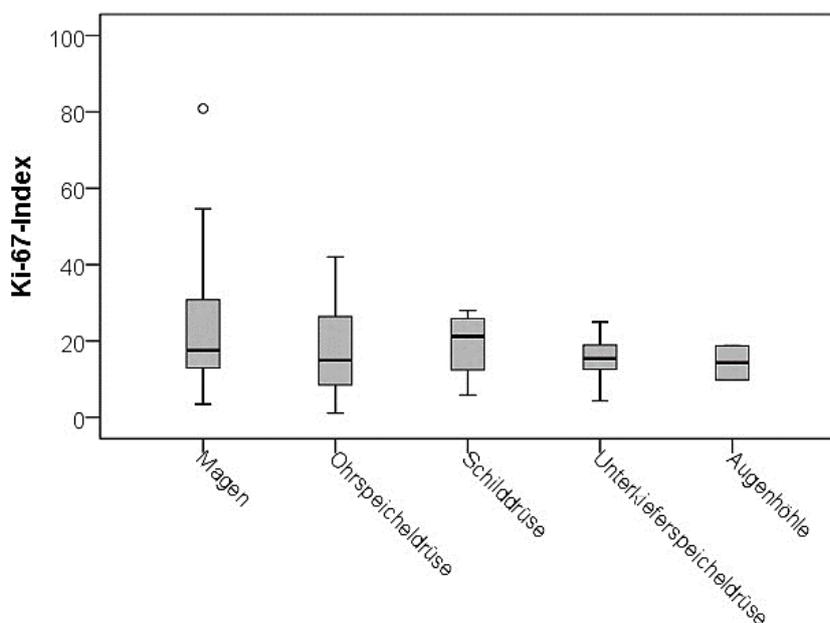
**Abbildung 34:**

Boxplot-Darstellung des Ausmaßes der CXCR4-Expression nach dem IRS, aufgegliedert nach allen fünf vorliegenden Tumorlokalisationen. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

### 5.4.3 Ki-67-Auswertung

#### Ki-67-Index in den fünf Tumorlokalisationen

Die Auswertung des Ki-67-Scores erfolgte ebenfalls mit dem Mann-Whitney-U-Test. Hier ergab sich für keinen Vergleich der Lokalisationen untereinander ein signifikanter Unterschied. Aus **Abbildung 35** geht hervor, dass die Ki-67-Werte der Lokalisationen Magen und Ohrspeicheldrüse die größte Spannweite zeigten. Alle anderen Lokalisationen wiesen deutlich geringere Spannweiten in den Werten auf. Auch wenn sich die Interquartilsabstände der Lokalisationen teilweise deutlich unterscheiden, liegen die Mediane aller fünf Ursprungsorte in der Nähe von 20 Prozent, so dass bereits aus der **Abbildung 35** deutlich wird, dass keine nennenswerten Unterschiede zwischen den Tumororten in Bezug auf das Vorkommen des Ki-67-Proteins bestehen.

**Abbildung 35:**

Boxplot-Darstellung des Ki-67-Indexes, aufgliedert nach allen fünf vorliegenden Tumorlokalisationen. Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

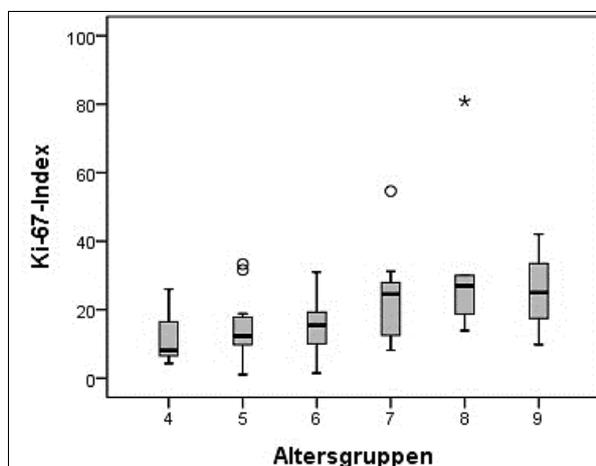
### Korrelationen zwischen Ki-67-Index und SSTR- oder CXCR4-Expression

Mit Hilfe des Kendall-Tau-b-Tests wurde überprüft, ob es in der vorliegenden Untersuchung einen Zusammenhang zwischen der Expression des Ki-67-Proteins und der Expressionsintensität der untersuchten Rezeptoren bei allen fünf Tumorlokalisationen zusammengenommen gab. Hierbei korrelierten der SSTR3 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,236$ ;  $p=0,042$ ) und der CXCR4 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,225$ ;  $p=0,049$ ) signifikant mit dem Ki-67-Index. Die Intensität der Expression aller anderen SSTR korrelierte nicht mit der des Ki-67-Proteins.

Im Weiteren wurden die gastrischen und extragastrischen Tumore auf einen Zusammenhang zwischen der Expression des Ki-67-Proteins und der Expressionsintensität der untersuchten Rezeptoren hin untersucht (Kendall-Tau-b-Test). Bei der gastrischen Tumorlokalisation ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Ki-67-Expression und dem Vorliegen des CXCR4-Rezeptors (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,570$ ;  $p=0,020$ ). Bei den extragastrisch lokalisierten Präparaten zeigten sich keine signifikanten Korrelationen. Lediglich zwischen dem Ki-67-Index und der Expression des SSTR3 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,221$ ;  $p=0,053$ ) oder dem Vorliegen des SSTR4 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,219$ ;  $p=0,067$ ) fand sich ein tendenzieller Zusammenhang.

#### 5.4.4 Zusammenhang zwischen Erkrankungsalter und Rezeptor-Expression beziehungsweise Ki-67-Index

Nach dem Kendall-Tau-b-Test ergab sich sowohl für alle Tumore zusammengenommen als auch für die einzelnen Tumorlokalisationen keine Korrelation zwischen dem Erkrankungsalter und dem IRS der verschiedenen Rezeptoren. Dagegen zeigte sich bei der Betrachtung aller Tumoren zusammengenommen ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Erkrankungsalter und dem Ki-67-Index (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,283$ ;  $p=0,003$ ). Bei der getrennten Betrachtung der Tumore mit gastrischer oder extragastrischer Lokalisation fand sich jedoch keine Korrelation des Ki-67 mit dem Alter zum Diagnosezeitpunkt eines MALT-Lymphoms des Magens. Bei den extragastrischen Tumoren korrelierten dagegen das Erkrankungsalter und der Ki-67-Index signifikant miteinander (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,288$ ;  $p=0,006$ ). **Abbildung 36** zeigt die Höhe des Ki-67-Indexes in Abhängigkeit von der Altersgruppe bei allen Tumoren zusammengenommen. Hierzu wurde das Alter der Patienten in Dekaden eingeteilt (0-10 Jahre entspricht Altersgruppe 1; 11-20 Jahre entspricht Altersgruppe 2, ...91-100 Jahre entspricht Altersgruppe 9). Dabei zeigte sich, dass die Ki-67-Expression mit zunehmendem Erkrankungsalter der Patienten steigt. In **Tabelle 22** ist dieser Zusammenhang dargestellt.



**Abbildung 36:**

Boxplot-Darstellung der Höhe des Ki-67-Indexes in Abhängigkeit vom Alter der Patienten in Altersgruppen bei allen Tumoren zusammengenommen.

Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

**Tabelle 22:**

Korrelation des Ki-67-Indexes mit dem Alter in Altersgruppen bei allen fünf Tumorlokalisationen zusammen betrachtet.

#### Kendall-Tau-b-Test Ki-67-Index vs. Altersgruppen

rho	0,342
p-Wert	0,001

#### **5.4.5 Zusammenhang zwischen dem Stadium der Erkrankung und der Rezeptor-Expression beziehungsweise dem Ki-67-Index**

Um eine mögliche Korrelation zwischen dem IRS beziehungsweise dem Ki-67-Index und dem Tumorstadium zu untersuchen, wurde erneut der Kendall-Tau-b-Test verwendet. Hierbei ergab sich bei der Betrachtung der Präparate aller Lokalisationen insgesamt weder für die SSTR-Expression noch für den Ki-67-Index ein signifikanter Zusammenhang mit dem Tumorstadium.

Weiterhin wurden die gastrische und die extragastrische Lokalisation getrennt analysiert. Bei den gastrisch lokalisierten Tumoren korrelierte das Erkrankungsstadium nicht signifikant mit dem IRS beziehungsweise dem Ki-67-Index; es ergab sich lediglich ein tendenzieller Zusammenhang zwischen dem Stadium und dem Vorliegen des SSTR3 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,471$ ;  $p=0,095$ ). Extragastrisch lokalisierte MALT-Lymphome zeigten hingegen einen hochsignifikanten Zusammenhang zwischen einem höheren Stadium der Erkrankung und der Expression des SSTR3 (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,374$ ;  $p=0,004$ ) und dem Vorkommen des CXCR4-Rezeptors (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,342$ ;  $p=0,013$ ). Darüber hinaus war ein tendenzieller Zusammenhang zwischen dem Stadium der Tumorerkrankung und der SSTR4-Expression innerhalb der Gruppe der extragastrisch lokalisierten Tumore erkennbar (Korrelationskoeffizient  $\rho=0,225$ ;  $p=0,094$ ).

#### **5.5 Zusammenhang zwischen den Begleiterkrankungen und der Rezeptor-Expression beziehungsweise dem Ki-67-Index**

Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests wurde im Weiteren untersucht, ob das Vorliegen einer der beiden untersuchten Begleiterkrankungen (Autoimmunerkrankung, Helicobacter-pylori-Infektion) einen Einfluss auf die SSTR-Expression beziehungsweise den Ki-67-Index sowie auf die klinischen Parameter Stadium der Erkrankung und Erkrankungsalter hatte.

##### **5.5.1 Einfluss einer Autoimmunerkrankung auf die Rezeptor-Expression beziehungsweise auf den Ki-67-Index**

Mittels des Mann-Whitney-U-Tests wurde ermittelt, ob signifikante Unterschiede in der Rezeptor-Expression beziehungsweise dem Ki-67-Index zwischen Patienten mit und ohne Autoimmunerkrankung bestanden. Dazu wurde zunächst das Sjögren-Syndrom, anschließend

die Hashimoto-Thyreoiditis und zuletzt beide Autoimmunerkrankungen gemeinsam im Vergleich mit Patienten ohne Autoimmunerkrankung untersucht.

Für Patienten mit einem Sjögren-Syndrom (n=35) ergab sich im Vergleich zu denen ohne Vorliegen der Erkrankung (n=20) ein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Expression des SSTR5 (U=236,500; Z=-2,008; p=0,045), wobei die Patientengruppe mit einer Erkrankung am Sjögren-Syndrom höhere Expressionswerte aufwies.

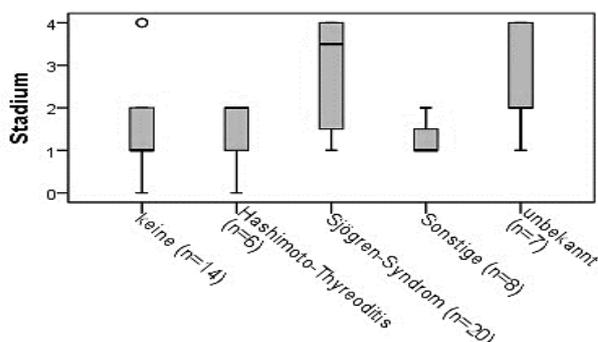
Patienten, die an einer Hashimoto-Thyreoiditis (n=6) litten, wiesen gegenüber denen ohne Hashimoto-Thyreoiditis (n=49) keine signifikanten Expressionsunterschiede in den untersuchten Rezeptoren beziehungsweise des Ki-67-Proteins auf. Hier ergab sich lediglich für den SSTR2A ein tendenzieller Unterschied (U=84,000; Z=-1,762; p=0,092).

In dem isolierten Vergleich zwischen den Patienten mit Sjögren-Syndrom und denen mit Hashimoto-Thyreoiditis zeigten sich keine signifikanten Unterschiede, so dass abschließend noch einmal alle Patienten in die statistische Auswertung der Fragestellung aufgenommen wurden, bei denen Autoantikörper in der Laboruntersuchung nachweisbar waren (n=34). Diese wurden in Bezug auf die SSTR- und CXCR4-Rezeptorexpression mit allen autoantikörper-negativen Patienten (n=14) verglichen. Hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Expression des SSTR4 (U=114,500; Z=-2,946; p=0,003) sowie eine tendenzielle Differenz für den SSTR5 (U=164,500; Z=-1,687; p=0,092). Patienten mit positivem Nachweis von Autoantikörpern verschiedener Genese, zeigten hier niedrigere Werte als die Vergleichsgruppe ohne Autoimmungeschehen.

### **5.5.2 Einfluss einer Autoimmunerkrankung auf das Tumorstadium zum Diagnosezeitpunkt**

Der Chi-Quadrat-Test ergab einen signifikanten Unterschied für die Stadieneinteilung bei Vorliegen beziehungsweise Nicht-Vorliegen einer Autoimmunerkrankung ( $\chi^2=7,893$ ; p=0,030). Anschließend wurde überprüft, ob zwischen Vorliegen einer bestimmten Autoimmunerkrankung und dem Erkrankungsstadium bei Diagnosestellung Zusammenhänge bestehen. Hierbei fand sich ein starker tendenzieller Unterschied (p=0,081).

Aus der graphischen Darstellung dieses Zusammenhangs (**Abbildung 37**) geht hervor, dass speziell das Vorliegen des Sjögren-Syndroms mit einem höheren Tumor-Stadium zum Diagnosezeitpunkt assoziiert zu sein scheint. Die Überprüfung dieser Vermutung ergab einen hochsignifikanten Unterschied in Bezug auf das Tumorstadium zum Diagnosezeitpunkt im Vergleich zu Patienten ohne Sjögren-Syndrom (**Tabelle 23**).

**Abbildung 37:**

Boxplot-Darstellung der Höhe des Tumorstadiums in Abhängigkeit vom Vorliegen einer spezifischen Autoimmunerkrankung.

Dargestellt ist der Median, das obere und untere Quartil, der Minimal- und der Maximalwert sowie Ausreißer.

**Tabelle 23:**

Unterschied in der Höhe des Tumorstadiums zwischen Patienten mit und ohne Vorliegen eines Sjögren-Syndroms.

**Mann-Whitney-U-Test**  
**Stadium vs. Sjögren-Syndrom**

<b>U</b>	194,500
<b>Z</b>	-2,875
<b>p-Wert</b>	<b>0,004</b>

### 5.5.3 Einfluss einer Autoimmunerkrankung auf das Erkrankungsalter

Der Kruskal-Wallis-Test ergab keine signifikanten Unterschiede bei der Betrachtung des Erkrankungsalters in Bezug auf das Vorliegen einer Autoimmunerkrankung.

### 5.5.4 Einfluss einer Helicobacter-pylori-Infektion auf die Rezeptor-Expression beziehungsweise den Ki-67-Index

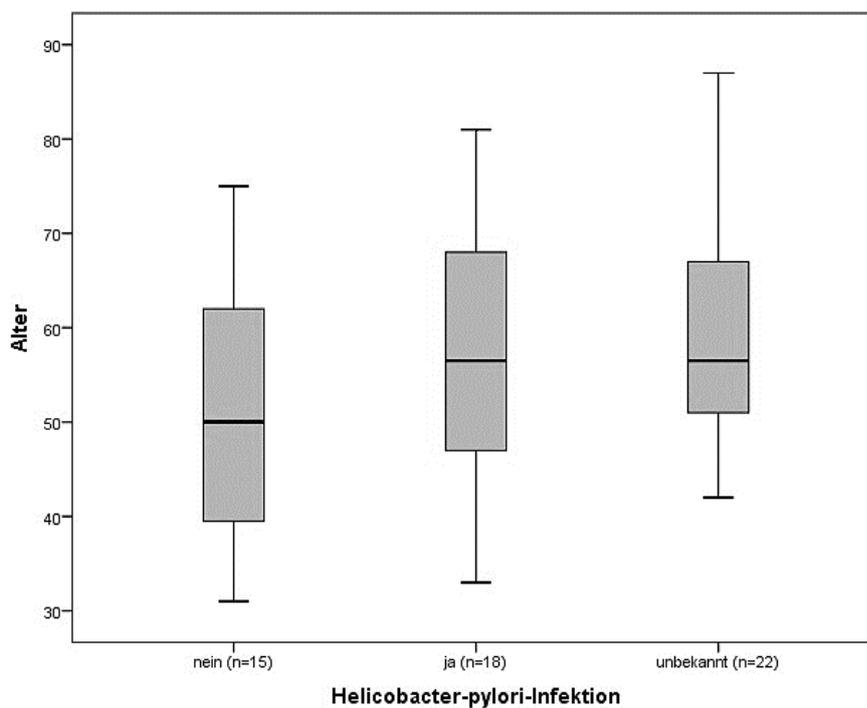
Im Mann-Whitney-U-Test zeigte sich bei der Betrachtung aller Tumorlokalisationen kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer H.p.-Infektion und der Expressionsintensität der untersuchten Rezeptoren. Da eine H.p.-Infektion bevorzugt mit MALT-Lymphomen des Magens assoziiert ist, wurden ebenfalls mittels des Mann-Whitney-U-Tests noch einmal die gastrischen Präparate gesondert betrachtet. Es zeigten sich jedoch auch hier keine signifikanten Unterschiede.

### 5.5.5 Einfluss einer Helicobacter-pylori-Infektion auf das Tumorstadium zum Diagnosezeitpunkt

Der Chi-Quadrat-Test ergab keine signifikanten Unterschiede bei der Betrachtung des Stadiums in Bezug auf das Vorliegen einer Helicobacter-pylori-Infektion.

### 5.5.6 Einfluss einer *Helicobacter-pylori*-Infektion auf das Erkrankungsalter

Im Mann-Whitney-U-Test fand sich kein signifikanter Unterschied in Bezug auf das Erkrankungsalter bei Patienten mit einer H.p.-Infektion im Vergleich zu denen ohne eine solche Erkrankung. Auch für die nur gastrisch lokalisierten Tumore ergab sich im Mann-Whitney-U-Test kein Unterschied. Da es auch Patienten gab, die zwar eine H.p.-Infektion zeigten, allerdings eine extragastrische Lokalisation des Primärtumors aufwiesen, wurden für die graphische Darstellung in **Abbildung 38** alle Präparate betrachtet. Tendenziell lässt sich erkennen, dass das Vorliegen einer H.p.-Infektion eher mit einem höheren Erkrankungsalter assoziiert zu sein scheint.



**Abbildung 38:** Boxplot-Darstellung des Erkrankungsalters in Bezug auf das Vorliegen einer *Helicobacter-pylori*-Infektion.

## 6 Diskussion

### 6.1 Alters- und Geschlechtsverteilung

Das mediane Patientenalter zum Zeitpunkt der Erstdiagnose betrug in der vorliegenden Untersuchung 54 Jahre. Die Altersverteilung zeigte einen Gipfel in der Altersgruppe der 51- bis 60-Jährigen, was sich mit den Angaben des Marginalzonen-Lymphom-Registers deckt, in denen die sechste Lebensdekade als Altersgipfel genannt wird.

In der europäischen Bevölkerung sind Männer prozentual leicht häufiger vom extranodalen Marginalzonen-Lymphom betroffen als Frauen, was beispielsweise in der Arbeit von Capelle et al. 2008 untersucht wurde. Es wurden 1419 Patienten in die Untersuchung eingeschlossen. Das mediane Erkrankungsalter lag bei 68 Jahren (hier 54 Jahre) und mit einem ungefähren Verhältnis von 1:1 (hier zirka 1:2 m:w) waren Männer geringgradig häufiger betroffen als Frauen (m: 51,9 Prozent/ w: 41,8 Prozent) (Capelle et al. 2008).

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Olszewski und Castillo in ihrer epidemiologischen Untersuchung an 9886 Patienten mit MALT-Lymphom (Median: 67 Jahre; weibliches Geschlecht: 55,4 Prozent) (Olszewski und Castillo 2013).

Die vorliegende Arbeit zeigt abweichende Ergebnisse in Bezug auf die Geschlechtsverteilung und das mediane Erkrankungsalter. Ursächlich hierfür könnte sein, dass ein Großteil der Patienten an einer mit MALT-Lymphomen assoziierten Begleiterkrankung (Sjögren-Syndrom; Hashimoto-Thyreoiditis) litt. Diese betreffen einerseits deutlich häufiger Frauen als Männer und weisen auch in Bezug auf das Erkrankungsalter und das Risiko ein anderes Profil auf, sodass die hier beobachteten Zahlen dadurch beeinflusst worden sein könnten. Darüber hinaus ist der Umfang der hier betrachteten Stichprobe deutlich kleiner als der der beiden oben genannten Studien, wodurch die Ergebnisse ebenfalls verfälscht worden sein könnten.

### 6.2 Tumorlokalisation

Gemäß den Angaben des Marginalzonen-Lymphom-Registers zur Epidemiologie des extranodalen Marginalzonenlymphoms des MALT beträgt dessen Häufigkeit innerhalb der Non-Hodgkin-Lymphome zirka sieben bis zehn Prozent.

In der vorliegenden Arbeit wich die Verteilung der Lokalisationshäufigkeiten von den in **Tabelle 24** dargestellten typischen Daten deutlich ab. Diese Tatsache ist am ehesten der relativ geringen Größe der Stichprobe geschuldet. Da allein 30 Präparate der Ohrspeicheldrüse und

nur 11 Präparate dem Magen entstammten, kann bei der Häufigkeitsverteilung der Lokalisation nicht von einer repräsentativen Stichprobe ausgegangen werden.

Lokalisation	Anteil in %
<b>Gastrointestinaltrakt</b> (davon zirka 75% im Magen)	50
<b>Lunge</b>	14
<b>HNO-Bereich</b>	14
<b>Augenanhangsgebilde</b>	12
<b>Haut</b>	11
<b>Schilddrüse</b>	4
<b>Mammae</b>	4

**Tabelle 24:**

Übersicht über die Lokalisation der MALT-Lymphome in der Normalbevölkerung (modifiziert nach den Angaben des Marginalzonen-Lymphom-Registers).

### 6.3 Stadien

Capelle et al. erfassten 1419 Patienten mit MALT-Lymphom. In 972 Fällen (68,5 Prozent) erfolgte die Diagnose in einem frühen Tumorstadium. Bei 357 Patienten (25,2 Prozent) lag bereits ein mittleres bis fortgeschrittenes Tumorstadium vor. In 90 Fällen wurde kein Stadium definiert.

Die von Olszewski und Castillo untersuchten 9886 Fälle von MALT-Lymphomen wurden in 75,5 Prozent der Fälle im Stadium I oder II diagnostiziert. Bereits in den fortgeschrittenen Stadien III und IV befanden sich 15,5 Prozent der MALT-Lymphome. Bei weiteren 9,1 Prozent der Fälle war kein Erkrankungsstadium bekannt (Olszewski und Castillo 2013). Die in vorliegender Arbeit untersuchten Patienten wiesen zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ein ähnliches Stadienprofil auf. Hier befanden sich insgesamt 67,3 Prozent der Tumoren in den Stadien I und II, 29,1 Prozent der Patienten hatten bereits das Stadium III oder IV erreicht. In 3,6 Prozent der Fälle war kein Stadium definiert. Da die hier untersuchte Stichprobe von vergleichsweise sehr kleinem Umfang ist, sind die Abweichungen zu den beiden oben genannten Untersuchungen akzeptabel. Trotzdem ist eine ähnliche Tendenz zur Diagnose in frühen Stadien erkennbar.

## 6.4 Immunhistochemische Untersuchung der Patientenproben

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der verfügbaren Patientenproben auf die Expression der Somatostatin-Rezeptoren SSTR1 bis SSTR5 und des Chemokin-Rezeptors CXCR4.

### 6.4.1 Somatostatin-Rezeptor-Expression

Die untersuchten Tumorpräparate zeigten eine sehr heterogene Expression der verschiedenen Somatostatin-Rezeptoren in Bezug auf deren Häufigkeit und Färbeintensität. Der SSTR5 hob sich innerhalb der fünf Rezeptor-Subtypen als der am häufigsten positive Rezeptor ab. Er konnte bei 50 Prozent der Proben (n=28) nachgewiesen werden. Der SSTR3 trat am zweithäufigsten auf und wurde in 35,7 Prozent der Fälle (n=20) detektiert. 26,8 Prozent der Patienten (n=15) zeigten eine SSTR2A-Expression. An vorletzter Stelle stand der SSTR4, welcher in 10 Fällen (17,9 Prozent) anfärbbar war, gefolgt vom SSTR1, der nur in einem Fall (1,8 Prozent) exprimiert wurde und damit am seltensten auftrat. Dieselbe Abstufung ergab sich auch in Bezug auf die Intensität der erzielten Färbungen. Auch hier fand sich in absteigender Reihenfolge bei den Somatostatin-Rezeptoren SSTR5, SSTR3 und SSTR2A die stärkste Immunreaktion.

Eine indirekte Untersuchung der Somatostatin-Rezeptoren in MALT-Lymphomen erfolgte bereits durch Raderer et al. 1999 und 2001, indem die Tumorproben auf das Vorliegen der entsprechenden mRNA mittels Northern Blot untersucht wurden. Hierzu grenzte man gastrische von extragastrischen Lokalisationen ab und stellte fest, dass letztere eine hohe mRNA-Expression des SSTR2A aufwiesen. Die gastrischen MALT-Lymphome zeigten dagegen ein gehäuftes Vorkommen von mRNA für den SSTR3 und den SSTR4, nicht jedoch für den SSTR2A (Raderer et al. 2001).

In der vorliegenden Arbeit wurde nicht die protein-codierende messenger RNA untersucht, sondern die letztendlich synthetisierten Rezeptor-Proteine als Zielstruktur immunhistochemisch angefärbt. In Bezug auf den Somatostatin-Rezeptor-Subtyp SSTR2A fielen die Ergebnisse im Vergleich zu denen von Raderer et al. 2001 unterschiedlich aus. Es zeigte sich eine geringgradig höhere Expression des SSTR2A in gastrischen im Vergleich zu extragastrischen Tumoren, die jedoch statistisch nicht signifikant war. Ursächlich für diese Differenzen könnte beispielsweise sein, dass in extragastrischen Tumoren die mRNA für den SSTR2A nicht zum endgültigen Protein translatiert wird, beispielsweise aufgrund einer vermehrten Expression von mi-RNA.

Die Rezeptor-Proteine SSTR3 und SSTR4 ließen sich in gastrischen Tumoren ebenfalls signifikant häufiger nachweisen als in extragastrischen Tumoren, was im Gegensatz zum SSTR2A mit den Ergebnissen von Raderer et al. (2001) übereinstimmt.

Parallel zur Untersuchung der mRNA für die SSTR unterzogen Raderer et al. die Patienten einer octreotid-basierten Szintigraphie zur Tumordetektion und konnten hiermit eine Darstellung der extragastrischen MALT-Lymphome erzielen. Dass gastrisch lokalisierte MALT-Lymphome sich nicht sensitiv mit dieser bildgebenden Methode detektieren ließen, stimmte mit dem von den Autoren nachgewiesenen mRNA-Profil überein, sodass man, basierend auf der Tatsache, dass Octreotid mit hoher Spezifität den SSTR2A bindet, schlussfolgerte der SSTR2A-Subtyp würde nicht von gastrischen MALT-Lymphomen exprimiert werden (Raderer et al. 2001).

Wie die Tabelle 24 im Kapitel 6.2 darstellt, treten Marginalzonen-Lymphome des MALT gehäuft im Gastrointestinaltrakt und hier zu drei Vierteln im Magen auf. Auf Grund der schlechten Datenlage in Bezug auf die Expression von Somatostatin-Rezeptoren in MALT-Lymphomen, wurde zum Vergleich die Arbeit von Shi et al. herangezogen, die Magenkarzinome auf das Vorliegen von SSTR-mRNA untersucht hat. Hierbei handelte es sich nicht um Lymphome, sondern um Karzinome der gleichen organbezogenen Lokalisation (Shi et al. 2013).

Im Gegensatz zu Raderer et al., welche die Northern-Blot-Methode nutzten, haben Shi et al. die SSTR-mRNA mittels RT-PCR detektiert. Von insgesamt 51 Patienten mit Magenkarzinomen wurde jeweils eine Probe aus gesundem Magengewebe mit einer Probe des Malignoms verglichen. Untersucht wurde neben anderen Merkmalen die mRNA für die Somatostatin-Rezeptoren SSTR2, 3 und 5. Shi et al. stellten fest, dass die Expression von sowohl Somatostatin selbst als auch von dessen Rezeptoren in Tumorzellen im Vergleich zu gesundem Magengewebe desselben Patienten signifikant niedriger ausfiel ( $p < 0,01$ ) (Shi et al. 2013). Darüber hinaus stellte die SSTR2-mRNA sogar die größte Fraktion in der PCR-Untersuchung.

Auch wenn Shi et al. keine gastrisch lokalisierten MALT-Lymphome, sondern gastrische Karzinome untersucht haben, so konnte zumindest hier ein hoher Anteil an mRNA für den SSTR2 gefunden werden. Somit zeigen die Ergebnisse eine ähnliche Tendenz, wie die in der vorliegenden Arbeit erzielten Resultate.

Da in der Literatur bislang nur sehr spärliche Ergebnisse zur SSTR-Expression in Non-Hodgkin-Lymphomen im Allgemeinen und in MALT-Lymphomen im Speziellen vorliegen, fällt eine gesamtheitlich vergleichende Einordnung der erzielten Ergebnisse schwer.

Eine Möglichkeit zur Verbesserung der bisherigen Datenlage könnte darin bestehen, Szintigraphien nicht octreotid-basiert durchzuführen, sondern hierfür beispielsweise das breiter wirksame Pasireotid zu verwenden. Pasireotid bindet nicht nur den SSTR2A, sondern darüber hinaus auch die SSTR1, 3 und 5 mit hoher Spezifität. Während die Ergebnisse der Arbeit von Raderer et al. wegen des gefundenen SSTR-mRNA-Profiles eine somatostatinanalogon-basierte Szintigraphie oder -PET/CT nur für extragastrische MALT-Lymphome nahelegen, könnten mit Somatostatin-Analoga der zweiten Generation möglicherweise alle Marginalzonen-Lymphome des MALT visualisiert werden und die Szintigraphie oder die PET/CT damit anderen Bildgebungsverfahren überlegen sein. Dies ergibt sich vor allem aus der in der vorliegenden Arbeit gefundenen hohen Expressionsrate des SSTR5 sowohl in gastrisch als auch extragastrisch lokalisierten MALT-Lymphomen.

#### **6.4.2 CXCR4-Rezeptor-Expression**

In der vorliegenden Untersuchung konnte bei 92,9 Prozent der untersuchten MALT-Lymphome eine CXCR4-Expression nachgewiesen werden.

In der von Middle et al. (2015) vorgelegten Arbeit wurde untersucht, inwieweit Chemokin-Rezeptoren, Sphingosin-1-Phosphat-Rezeptoren und Integrine die Lokalisation von Lymphomen beeinflussen beziehungsweise die Lokalisation deren Expression beeinflusst. Ein Teil der Gesamtuntersuchung befasste sich mit der Fragestellung, wie stark sich der CXCR4-Rezeptor in den untersuchten Tumorproben immunhistochemisch anfärben ließ. Dabei standen Lymphompräparate verschiedener Entitäten und Lokalisationen zur Verfügung. In der differenzierten Betrachtung der einzelnen Entitäten erreichten Marginalzonen-Lymphome die höchsten Score-Werte in Bezug auf die immunhistochemische Färbung des CXCR4. Middle et al. unterteilten die untersuchten B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphome ebenfalls nach ihrer Lokalisation, wobei einen Manifestationsort die Augenanhangs-Gebilde darstellten. Auch diese erreichten in der Arbeit von Middle et al. im Vergleich zu anderen Lokalisationen die höchsten Expressionsintensitäten (Middle et al. 2015).

Obwohl es sich bei den in dieser Arbeit untersuchten MALT-Lymphomen um eine Untergruppe der MZL handelt und sich die von Middle et al. verwendeten Scoring-Systeme von denen der vorgelegten Arbeit unterscheiden, wiesen ebenfalls beinahe alle untersuchten Proben eine intensive Färbereaktion für den CXCR4-Rezeptor auf. Die CXCR4-Färbungen von Präparaten der Augenhöhle zeigten in der vorliegenden Arbeit ebenfalls die höchste Expressionsintensität aller extragastrischen Proben.

Die Forschergruppe um Alexander Deutsch beschäftigte sich ebenfalls mit der Expression von Chemokin-Rezeptoren in Lymphomen. Hierbei ging es im Besonderen um deren Rolle bei der

Transformation nicht-neoplastischen Magengewebes in ein diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom (Deutsch et al. 2013). Hierzu wurden konkret folgende Zwischenstufen betrachtet: nicht-neoplastisches Magengewebe, H.p.-assoziierte Gastritis, MALT-Lymphome des Magens sowie zum diffusen großzelligen B-Zell-Lymphom transformierte MALT-Lymphome des Magens. Neben anderen Rezeptoren lag unter anderem auch ein Fokus auf dem CXCR4-Rezeptor, welcher von Deutsch et al. beispielsweise vor allen Dingen mit einer Infiltration des Knochenmarks in Verbindung gebracht wurde. Darüber hinaus gehörte zu den Ergebnissen die Erkenntnis, dass ein Verlust des CXCR4 mit dem Fortschreiten der Lymphomkrankung und einem tendenziell fortgeschrittenen Stadium assoziiert zu sein scheint. Bei zehn der von Deutsch et al. untersuchten Tumore handelte es sich um MALT-Lymphome. Eine RT-PCR zeigte, dass keines der zehn Präparate eine mRNA für den CXCR4-Rezeptor exprimierte. Die immunhistochemische Detektion ergab allerdings eine positive Färbereaktion für den CXCR4 in zwei von fünf MALT-Lymphomen des Magens (Deutsch et al. 2013).

Auch in der vorgelegten Arbeit zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Stadium und der Expression des CXCR4, wobei ein höheres Stadium mit einer höheren Expression des Rezeptors korrelierte. Allerdings wiesen die 64 untersuchten Proben insgesamt eine hohe Positivität für den CXCR4 auf. Die Ursache für diesen deutlichen Ergebnisunterschied könnte im Umfang der Stichprobe liegen, welcher in beiden Untersuchungen klein war, denn in einer anderen Untersuchung durch Trentin et al. in Non-Hodgkin-Lymphomen konnte ebenfalls eine hohe Expression des CXCR4-Rezeptors detektiert werden. So zeigten in der Arbeit von Trentin et al. alle 43 untersuchten Non-Hodgkin-Lymphome eine Positivität für den CXCR4. Darunter befanden sich auch fünf Marginalzonen-Lymphome, die allesamt eine deutliche CXCR4-Expression aufwiesen (Trentin et al. 2004).

### **6.4.3 Ki-67-Index**

In der vorliegenden Arbeit wurden die MALT-Lymphome zusätzlich auch auf ihre Ki-67-Expression hin untersucht. Die ermittelten Ki-67-Werte wurden anschließend klassifiziert, indem die Präparate entsprechend dem Anteil an positiven Zellkernen in drei Gruppen, (1) Ki-67-Werte  $\leq 10$  Prozent, (2) Ki-67-Index 10-30 Prozent und (3) Ki-67-Werte  $\geq 30$  Prozent, eingeordnet wurden.

Die Arbeitsgruppe um Sato et al. (2006) beschäftigte sich ebenso wie die vorliegende Arbeit mit der Expression des Ki-67-Proteins in MALT-Lymphomen. Allerdings wurden dort ausschließlich gastrische MALT-Lymphome von insgesamt 23 Patienten betrachtet. In der Arbeit von Sato et al. (2006) zeigte sich eine lediglich moderate Expression des Ki-67-Proteins in den betrachteten Proben. Die Intensitätseinteilung wurde in 10-Prozent-Schritten

vorgenommen. Die überwiegende Mehrheit der Fälle wies einen Ki-67-Index von kleiner als zehn Prozent auf (n=21). Nur zwei Proben zeigten einen Ki-67-Wert von bis zu 20 Prozent (Sato et al. 2006).

Im Vergleich zur vorliegenden Arbeit wiesen die Präparate von Sato und Kollegen somit eher niedrige Ki-67-Werte auf. Allerdings gestaltet sich die Vergleichbarkeit auf Grund der abweichenden Tumorlokalisation sowie des geringen Stichprobenumfangs als schwierig.

Insgesamt finden sich in der Literatur nur wenige Daten über den SSTR- und CXCR4-Besatz sowie zur Ki-67-Expression in MALT-Lymphomen. Hinzu kommt, dass zur Untersuchung des Vorkommens der Rezeptoren bei MALT-Lymphomen verschiedenste Methoden zum Einsatz kamen, die nicht ohne weiteres mit den hier verwendeten immunhistochemischen Ansatz verglichen werden können. Zum anderen spielt die Wahl der verwendeten Antikörper und deren Spezifität eine entscheidende Rolle bei der Detektion der Rezeptoren. Auch wurden in nur wenigen Arbeiten ausschließlich die immunhistochemischen Zellmerkmale betrachtet. Selbst wenn dies gegeben wäre, so wäre eine sinnvolle Vergleichbarkeit nur dann möglich, wenn das Auswertungssystem für die immunhistochemischen Untersuchungen immer dasselbe gewesen wäre. Allerdings mangelt es hier an Einheitlichkeit. Abgesehen davon ist die Mehrzahl der zum Einsatz kommenden Bewertungssysteme untersucherabhängig, sodass unterschiedliche Untersucher möglicherweise auch zu verschiedenen Ergebnissen kommen können. So ist unter anderem entscheidend, ab welcher Färbeintensität ein Tumor als positiv gilt. Nur wenn hier die Grenzen der Positivitäten bei den verschiedenen Arbeiten ähnlich definiert sind, ist auch ein sinnvoller Vergleich der Ergebnisse möglich. Auch innerhalb des Patientenkollektivs liegen Ursachen für eine schlechte Vergleichbarkeit von Ergebnissen. Die Vielzahl der NHL-Entitäten, die unterschiedlichen Manifestationsorte von Lymphomen, das Tumorstadium sowie auch die Anzahl der Fälle sind nur einige von vielen Gründen, die eine vergleichende Einordnung von Daten erschweren.

## 7 Schlussfolgerungen

Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick über die Expressionshäufigkeiten und -intensitäten der Somatostatin-Rezeptoren SSTR1 bis SSTR5 sowie des Chemokin-Rezeptors CXCR4 bei MALT-Lymphomen unterschiedlicher Lokalisation. Dabei fanden sich Hinweise, dass gastrische und extragastrische Tumore unterschiedliche Expressionsstärken für die jeweiligen Rezeptoren aufweisen und sich das Expressionsmuster zwischen beiden Gruppen teilweise deutlich unterscheidet.

Der CXCR4-Rezeptor war mit Abstand am häufigsten exprimiert. Er war in 92,9 Prozent der untersuchten Präparate nachweisbar. Unter den Somatostatin-Rezeptoren erwiesen sich der SSTR5 (Positivität in 50 Prozent der Fälle) sowie der SSTR3 (Positivität in 35,7 Prozent der Tumore) ebenfalls als interessante Zielstrukturen. Diese hohen Inzidenzen und teilweise auch intensiven Färbungen sprechen dafür, dass zukünftig vor allem der CXCR4 und der SSTR5 diagnostische und therapeutische Zielstrukturen bei malignen Lymphomen des MALT-Typs darstellen könnten. Da die Expression des SSTR2A mit einer Positivität in nur 26,8 Prozent der Fälle vergleichsweise niedrig war, sollten in Zukunft eher Somatostatin-Analoga eingesetzt werden, die ein breites Affinitätsspektrum in Bezug auf die fünf verschiedenen Somatostatin-Rezeptoren aufweisen. Ein solches Pharmakon ist zum Beispiel Pasireotid. Es bindet über den SSTR2A hinaus auch die Somatostatin-Rezeptoren SSTR1, 3 und 5 und könnte daher dem bisher häufig verwendeten Octreotid in der Diagnostik und in der Therapie von MALT-Lymphomen überlegen sein.

Mit Hilfe des Ki-67-Indexes konnten 63,6 Prozent der Patienten der Risikogruppe I und weitere 25,5 Prozent der Risikogruppe II zugeordnet werden. Allerdings mangelt es in Bezug auf die Index-Zuordnung an vergleichbaren Daten in der Literatur.

Dass chronisch-entzündliche Erkrankungen das Risiko, an einem malignen Non-Hodgkin-Lymphom zu erkranken, teilweise signifikant steigern, ist bereits mehrfach beschrieben. Eine Auswirkung einer solchen Erkrankung auf den Rezeptorbesatz und die damit verbundenen SSTR- oder CXCR4-basierten Diagnose- und Therapiemöglichkeiten von MALT-Lymphomen wurde allerdings bislang kaum erfasst, stellt aber auf Grund der in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnisse ein weiteres Feld für künftige Untersuchungen dar.

Die vorliegende Arbeit soll einen ersten Schritt in Bezug auf die Erfassung der Expression der Somatostatin-Rezeptoren und des Chemokin-Rezeptors CXCR4 bei MALT-Lymphomen darstellen. Wenn die Ergebnisse der hier vorgestellten Arbeit weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen bedingen würden, könnte die Aussagekraft der dargestellten Ergebnisse noch deutlich verbessert werden.

**8 Literaturverzeichnis**

Akagi T. 1999. [Pathogenesis and clinical pathology of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma]. *Rinsho Ketsueki*, 40 (3):177-181.

Al-Salam S, John A, Daoud S, Chong SM, Castella A. 2008. Expression of Epstein-Barr virus in Hodgkin lymphoma in a population of United Arab Emirates nationals. *Leuk Lymphoma*, 49 (9):1769-1777.

Aldred V, Vassallo J, Froes MCAH, Augusto Soares F. 2008. CD20 expression by Hodgkin-Reed-Sternberg cells in classical Hodgkin lymphoma is related to reduced overall survival in young adult patients. *Leuk Lymphoma*, 49 (11):2198-2202.

Anaya JM, Castiblanco J, Rojas-Villarraga A, Pineda-Tamayo R, Levy RA, Gomez-Puerta J, Dias C, Mantilla RD, Gallo JE, Cervera R, Shoenfeld Y, Arcos-Burgos M. 2012. The multiple autoimmune syndromes. A clue for the autoimmune tautology. *Clin Rev Allergy Immunol*, 43 (3):256-264.

Auernhammer CJ, Spitzweg C, Heinemann V, Goke B. 2012. [Medicinal therapy of metastasized neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic system.]. *Internist (Berl)*. Balkwill F. 2004. Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer*, 4 (7):540-550.

Balova V, Ruffer JU, Haverkamp H, Pfistner B, Muller-Hermelink HK, Duhmke E, Worst P, Wilhelmy M, Naumann R, Hentrich M, Eich HT, Josting A, Loffler M, Diehl V, Engert A. 2005. A prospectively randomized trial carried out by the German Hodgkin Study Group (GHSG) for elderly patients with advanced Hodgkin's disease comparing BEACOPP baseline and COPP-ABVD (study HD9elderly). *Ann Oncol*, 16 (1):124-131.

Banga JP, Mirakian R, Hammond L, Pryce G, Bidey S, Bottazzo F, Weetman AP, McGregor AM, Roitt IM. 1986. Characterization of monoclonal antibodies directed towards the microsomal/microvillar thyroid autoantigen recognized by Hashimoto autoantibodies. *Clin Exp Immunol*, 64 (3):544-554.

Bauer W, Briner U, Doepfner W, Haller R, Huguenin R, Marbach P, Petcher TJ, Pless. 1982. SMS 201-995: a very potent and selective octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. *Life Sci*, 31 (11):1133-1140.

Bernhagen J, Krohn R, Lue H, Gregory JL, Zernecke A, Koenen RR, Dewor M, Georgiev I, Schober A, Leng L, Kooistra T, Fingerle-Rowson G, Ghezzi P, Kleemann R, McColl SR, Bucala R, Hickey MJ, Weber C. 2007. MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. *Nat Med*, 13 (5):587-596.

Biggar RJ, Jaffe ES, Goedert JJ, Chaturvedi A, Pfeiffer R, Engels EA. 2006. Hodgkin lymphoma and immunodeficiency in persons with HIV/AIDS. *Blood*, 108 (12):3786-3791.

Boecker W, Denk H, Heitz Ph U, Höfler G, Kreipe H, Moch H. 2012. *Pathologie. 5., vollständig überarbeitete Auflage.* München.

- Bonadonna G, Zucali R, Monfardini S, De Lena M, Uslenghi C. 1975. Combination chemotherapy of Hodgkin's disease with adriamycin, bleomycin, vinblastine, and imidazole carboxamide versus MOPP. *Cancer*, 36 (1):252-259.
- Bornschein J, Drozdov I, Malfertheiner P. 2009. Octreotide LAR: safety and tolerability issues. *Expert Opin Drug Saf*, 8 (6):755-768.
- Borsch G. 1984. [The gastrointestinal tract as an immunologic organ: the gut-associated immune system]. *Klin Wochenschr*, 62 (15):699-709.
- Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Butcher M, Rivier J, Guillemin R. 1973. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science*, 179 (4068):77-79.
- Bridger JM, Kill IR, Lichter P. 1998. Association of pKi-67 with satellite DNA of the human genome in early G1 cells. *Chromosome Res*, 6 (1):13-24.
- Brincker H, Pedersen NT, Bendix-Hansen K, Johansen P. 2000. Non-Hodgkin's lymphoma subtypes over time in an unselected population of 646 patients: a study of clinicopathological data and incidence based on a review using the REAL-classification. *Leuk Lymphoma*, 39 (5-6):531-541.
- Brittinger G. 1978. [Prospective multicentric study on the clinical significance of the Kiel classification of non-Hodgkin's lymphomas (author's transl)]. *Blut*, 36 (2):111-116.
- Browne P, Petrosyan K, Hernandez A, Chan JA. 2003. The B-cell transcription factors BSAP, Oct-2, and BOB.1 and the pan-B-cell markers CD20, CD22, and CD79a are useful in the differential diagnosis of classic Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol*, 120 (5):767-777.
- Byrne GE, Jr. 1977. Rappaport classification of non-Hodgkin's lymphoma: histologic features and clinical significance. *Cancer Treat Rep*, 61 (6):935-944.
- Cammarota G, Papa A, Tursi A, Cuoco L, Fedeli G, Gasbarrini G. 1997. Pathogenesis of MALT lymphoma: an antigen-dependent process. *Gastroenterology*, 113 (5):1810.
- Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. 2011. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*, 117 (19):5019-5032.
- Canellos GP, Mauch P. 2010. What is the appropriate systemic chemotherapy for lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma? *J Clin Oncol*, 28 (1):e8.
- Canman CE, Lim DS. 1998. The role of ATM in DNA damage responses and cancer. *Oncogene*, 17 (25):3301-3308.
- Capelle LG, de Vries AC, Looman CW, Casparie MK, Boot H, Meijer GA, Kuipers EJ. 2008. Gastric MALT lymphoma: epidemiology and high adenocarcinoma risk in a nation-wide study. *Eur J Cancer*, 44 (16):2470-2476.
- Cardona AE, Li M, Liu L, Savarin C, Ransohoff RM. 2008. Chemokines in and out of the central nervous system: much more than chemotaxis and inflammation. *J Leukoc Biol*, 84 (3):587-594.

- Catanzaro J, Dinkel S. 2014. Sjogren's syndrome: the hidden disease. *Medsurg Nurs*, 23 (4):219-223.
- Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. 2014. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev*, 13 (4-5):391-397.
- Chan JK, Ng CS, Isaacson PG. 1990. Relationship between high-grade lymphoma and lowgrade B-cell mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (MALToma) of the stomach. *Am J Pathol*, 136 (5):1153-1164.
- Cogliatti SB, Schmid U. 2002. Who is WHO and what was REAL? *Swiss Med Wkly*, 132 (4344):607-617.
- Cohen Y. 1983. [International working formulation for the histological classification on nonHodgkin's lymphoma]. *Harefuah*, 104 (7):312-313.
- Colao A, Faggiano A, Pivonello R. 2010. Somatostatin analogues: treatment of pituitary and neuroendocrine tumors. *Prog Brain Res*, 182:281-294.
- Corness JD, Demchyshyn LL, Seeman P, Van Tol HH, Srikant CB, Kent G, Patel YC, Niznik HB. 1993. A human somatostatin receptor (SSTR3), located on chromosome 22, displays preferential affinity for somatostatin-14 like peptides. *FEBS Lett*, 321 (2-3):279-284.
- Cortes JJ, Sabanes J, Reies PA. 1985. Anti-SSA and anti-SSB autoantibodies in Sjogren's syndrome and lupus erythematosus in Mexican Mestizos. *Clin Exp Rheumatol*, 3 (3):277-278.
- Creutzfeldt W, Lembcke B, Folsch UR, Schleser S, Koop I. 1987. Effect of somatostatin analogue (SMS 201-995, Sandostatin) on pancreatic secretion in humans. *Am J Med*, 82 (5B):49-54.
- Curtis RE, Travis LB, Rowlings PA, Socie G, Kingma DW, Banks PM, Jaffe ES, Sale GE, Horowitz MM, Witherspoon RP, Shriner DA, Weisdorf DJ, Kolb HJ, Sullivan KM, Sobocinski KA, Gale RP, Hoover RN, Fraumeni JF, Jr., Deeg HJ. 1999. Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study. *Blood*, 94 (7):2208-2216.
- D'Elia MM, Amedei A, Del Prete G. 2003. Helicobacter pylori antigen-specific T-cell responses at gastric level in chronic gastritis, peptic ulcer, gastric cancer and low-grade mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. *Microbes Infect*, 5 (8):723-730.
- Determann O, Hoster E, Ott G, Wolfram Bernd H, Loddenkemper C, Leo Hansmann M, Barth TE, Unterhalt M, Hiddemann W, Dreyling M, Klapper W, European Mantle Cell Lymphoma N, the German Low Grade Lymphoma Study G. 2008. Ki-67 predicts outcome in advanced-stage mantle cell lymphoma patients treated with anti-CD20 immunochemotherapy: results from randomized trials of the European MCL Network and the German Low Grade Lymphoma Study Group. *Blood*, 111 (4):2385-2387.
- Deutsch AJ, Steinbauer E, Hofmann NA, Strunk D, Gerliza T, Beham-Schmid C, Schaidler H, Neumeister P. 2013. Chemokine receptors in gastric MALT lymphoma: loss of CXCR4 and upregulation of CXCR7 is associated with progression to diffuse large B-cell lymphoma. *Mod Pathol*, 26 (2):182-194.

- Di Napoli A, Al-Jadiri MF, Talerico C, Duranti E, Pillozzi E, Trivedi P, Anastasiadou E, Alsaadawi AR, Al-Darraji AF, Al-Hadad SA, Testi AM, Uccini S, Ruco L. 2013. Epstein-Barr virus (EBV) positive classical Hodgkin lymphoma of Iraqi children: an immunophenotypic and molecular characterization of Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *Pediatr Blood Cancer*, 60 (12):2068-2072.
- Dinand V, Malik A, Unni R, Arya LS, Pandey RM, Dawar R. 2008. Proliferative index and CD15 expression in pediatric classical Hodgkin lymphoma. *Pediatr Blood Cancer*, 50 (2):280283.
- Doocey RT, Toze CL, Connors JM, Nevill TJ, Gascoyne RD, Barnett MJ, Forrest DL, Hogge DE, Lavoie JC, Nantel SH, Shepherd JD, Sutherland HJ, Voss NJ, Smith CA, Song KW. 2005. Allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation for relapsed and refractory aggressive histology non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol*, 131 (2):223-230.
- Eich HT, Diehl V, Gorgen H, Pabst T, Markova J, Debus J, Ho A, Dorken B, Rank A, Grosu AL, Wiegel T, Karstens JH, Greil R, Willich N, Schmidberger H, Dohner H, Borchmann P, Muller-Hermelink HK, Muller RP, Engert A. 2010. Intensified chemotherapy and dosereduced involved-field radiotherapy in patients with early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group HD11 trial. *J Clin Oncol*, 28 (27):41994206.
- Endl E, Gerdes J. 2000. Posttranslational modifications of the KI-67 protein coincide with two major checkpoints during mitosis. *J Cell Physiol*, 182 (3):371-380.
- Enno A, O'Rourke J, Braye S, Howlett R, Lee A. 1998. Antigen-dependent progression of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT)-type lymphoma in the stomach. Effects of antimicrobial therapy on gastric MALT lymphoma in mice. *Am J Pathol*, 152 (6):1625-1632.
- Epstein MA, Achong BG, Barr YM. 1964. Virus Particles in Cultured Lymphoblasts from Burkitt's Lymphoma. *Lancet*, 1 (7335):702-703.
- Feichtinger H, Kaaya E, Putkonen P, Li SL, Ekman M, Gendelman R, Biberfeld G, Biberfeld P. 1992. Malignant lymphoma associated with human AIDS and with SIV-induced immunodeficiency in macaques. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 8 (3):339-348.
- Ferjoux G, Bousquet C, Cordelier P, Benali N, Lopez F, Rochaix P, Buscail L, Susini C. 2000. Signal transduction of somatostatin receptors negatively controlling cell proliferation. *J Physiol Paris*, 94 (3-4):205-210.
- Fischer T, Doll C, Jacobs S, Kolodziej A, Stumm R, Schulz S. 2008. Reassessment of sst2 somatostatin receptor expression in human normal and neoplastic tissues using the novel rabbit monoclonal antibody UMB-1. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 (11):4519-4524.
- Fossaluzza V, De Vita S. 1992. Clinical differences between ANA/anti-ENA positive or negative primary Sjogren's syndrome. *Clin Rheumatol*, 11 (3):385-387.
- Foyil KV, Bartlett NL. 2010. Anti-CD30 Antibodies for Hodgkin lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep*, 5 (3):140-147.
- Furusato B, Mohamed A, Uhlen M, Rhim JS. 2010. CXCR4 and cancer. *Pathol Int*, 60 (7):497-505.
- Gartner R. 2009. [Hashimoto thyroiditis]. *MMW Fortschr Med*, 151 (6):45.

- Gerber NK, Atonia CL, Elkin EB, Yahalom J. 2015. Characteristics and outcomes of patients with nodular lymphocyte-predominant hodgkin lymphoma versus those with classical hodgkin lymphoma: a population-based analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 92 (1):76-83.
- Gerdes J, Dallenbach F, Lennert K, Lemke H, Stein H. 1984a. Growth fractions in malignant non-Hodgkin's lymphomas (NHL) as determined in situ with the monoclonal antibody Ki-67. *Hematol Oncol*, 2 (4):365-371.
- Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. 1984b. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol*, 133 (4):1710-1715.
- Gilburd B, Abu-Shakra M, Shoenfeld Y, Giordano A, Bocci EB, delle Monache F, Gerli R. 2004. Autoantibodies profile in the sera of patients with Sjogren's syndrome: the ANA evaluation--a homogeneous, multiplexed system. *Clin Dev Immunol*, 11 (1):53-56.
- Goodman RH, Aron DC, Roos BA. 1983. Rat pre-prosomatostatin. Structure and processing by microsomal membranes. *J Biol Chem*, 258 (9):5570-5573.
- Greiner A, Knorr C, Qin Y, Schultz A, Marx A, Kroczeck RA, Muller-Hermelink HK. 1998. CD40 ligand and autoantigen are involved in the pathogenesis of low-grade B-cell lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue. *Dev Immunol*, 6 (3-4):187-195.
- Grozinsky-Glasberg S, Grossman AB, Korbonits M. 2008. The role of somatostatin analogues in the treatment of neuroendocrine tumours. *Mol Cell Endocrinol*, 286 (1-2):238-250.
- Guillemin R. 2008. Somatostatin: the beginnings, 1972. *Mol Cell Endocrinol*, 286 (1-2):3-4.
- Harrington KJ, Michalaki VJ, Vini L, Nutting CM, Syrigos KN, A'Hern R, Harmer CL. 2005. Management of non-Hodgkin's lymphoma of the thyroid: the Royal Marsden Hospital experience. *Br J Radiol*, 78 (929):405-410.
- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Falini B, Gatter KC, et al. 1994. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*, 84 (5):1361-1392.
- Helbron D, Brittinger G, Lennert K. 1979. [T-zone lymphoma--clinical symptoms, therapy, and prognosis (author's transl)]. *Blut*, 39 (2):117-131.
- Hernandez PA, Gorlin RJ, Lukens JN, Taniuchi S, Bohinjec J, Francois F, Klotman ME, Diaz GA. 2003. Mutations in the chemokine receptor gene CXCR4 are associated with WHIM syndrome, a combined immunodeficiency disease. *Nat Genet*, 34 (1):70-74.
- Herold G. 2013. *Innere Medizin*. Köln.
- Hiddemann W, Dreyling M, Stahel RA, Force EGT. 2005. Minimum Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of newly diagnosed follicular lymphoma. *Ann Oncol*, 16 Suppl 1:i56-57.

- Hofland LJ, Lamberts SW. 2003. The pathophysiological consequences of somatostatin receptor internalization and resistance. *Endocr Rev*, 24 (1):28-47.
- Hofland LJ, Liu Q, Van Koetsveld PM, Zuijderwijk J, Van Der Ham F, De Krijger RR, Schonbrunn A, Lamberts SW. 1999. Immunohistochemical detection of somatostatin receptor subtypes sst1 and sst2A in human somatostatin receptor positive tumors. *J Clin Endocrinol Metab*, 84 (2):775-780.
- Hoster E, Dreyling M, Klapper W, Gisselbrecht C, van Hoof A, Kluin-Nelemans HC, Pfreundschuh M, Reiser M, Metzner B, Einsele H, Peter N, Jung W, Wormann B, Ludwig WD, Duhrsen U, Eimermacher H, Wandt H, Hasford J, Hiddemann W, Unterhalt M, German Low Grade Lymphoma Study G, European Mantle Cell Lymphoma N. 2008. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood*, 111 (2):558-565.
- Hoyer D, Bell GI, Berelowitz M, Epelbaum J, Feniuk W, Humphrey PP, O'Carroll AM, Patel YC, Schonbrunn A, Taylor JE, et al. 1995. Classification and nomenclature of somatostatin receptors. *Trends Pharmacol Sci*, 16 (3):86-88.
- Hussell T, Isaacson PG, Spencer J. 1993a. Proliferation and differentiation of tumour cells from B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue in vitro. *J Pathol*, 169 (2):221-227.
- Hussell T, Isaacson PG, Crabtree JE, Spencer J. 1993b. The response of cells from low grade B-cell gastric lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue to *Helicobacter pylori*. *Lancet*, 342 (8871):571-574.
- Hussell T, Isaacson PG, Crabtree JE, Dogan A, Spencer J. 1993c. Immunoglobulin specificity of low grade B cell gastrointestinal lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) type. *Am J Pathol*, 142 (1):285-292.
- Iannuccelli C, Spinelli FR, Guzzo MP, Priori R, Conti F, Ceccarelli F, Pietropaolo M, Olivieri M, Minniti A, Alessandri C, Gattamelata A, Valesini G, Di Franco M. 2012. Fatigue and widespread pain in systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome: symptoms of the inflammatory disease or associated fibromyalgia? *Clin Exp Rheumatol*, 30 (6 Suppl 74):117-121.
- Isaacson PG, Spencer J. 1993. Malignant lymphoma and autoimmune disease. *Histopathology*, 22 (5):509-510.
- Isaacson PG, Wotherspoon AC, Diss T, Pan LX. 1991. Follicular colonization in B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Am J Surg Pathol*, 15 (9):819-828.
- Jackson C, Sirohi B, Cunningham D, Horwich A, Thomas K, Wotherspoon A. 2010. Lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma--clinical features and treatment outcomes from a 30-year experience. *Ann Oncol*, 21 (10):2061-2068.
- Jaffe ES. 2009. The 2008 WHO classification of lymphomas: implications for clinical practice and translational research. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*:523-531.
- Josting A, Rudolph C, Mapara M, Glossmann JP, Sieniawski M, Sieber M, Kirchner HH, Dorken B, Hossfeld DK, Kisro J, Metzner B, Berdel WE, Diehl V, Engert A. 2005. Cologne

- high-dose sequential chemotherapy in relapsed and refractory Hodgkin lymphoma: results of a large multicenter study of the German Hodgkin Lymphoma Study Group (GHSG). *Ann Oncol*, 16 (1):116-123.
- Juarez J, Bendall L. 2004. SDF-1 and CXCR4 in normal and malignant hematopoiesis. *Histol Histopathol*, 19 (1):299-309.
- Kapan M, Onder A, Girgin S, Ulger BV, Firat U, Uslukaya O, Oguz A. 2015. The reliability of fine-needle aspiration biopsy in terms of malignancy in patients with hashimoto thyroiditis. *Int Surg*, 100 (2):249-253.
- Kawai T, Malech HL. 2009. WHIM syndrome: congenital immune deficiency disease. *Curr Opin Hematol*, 16 (1):20-26.
- Kawano S, Tsujii M, Nagano K, Ogihara T, Tanimura H, Hayashi N, Ito T, Sato N, Kamada T, Tamura K, et al. 1990. Different effect of *Helicobacter pylori* on the human gastric antral and body mucosal intracellular mucin. *Scand J Gastroenterol*, 25 (10):997-1003.
- Khan MU, Morse M, Coleman RE. 2008. Radioiodinated metaiodobenzylguanidine in the diagnosis and therapy of carcinoid tumors. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 52 (4):441-454.
- Khan SH, Butt MS, Sharif MK, Sameen A, Mumtaz S, Sultan MT. 2011. Functional properties of protein isolates extracted from stabilized rice bran by microwave, dry heat, and parboiling. *J Agric Food Chem*, 59 (6):2416-2420.
- Kill IR. 1996. Localisation of the Ki-67 antigen within the nucleolus. Evidence for a fibrillar-deficient region of the dense fibrillar component. *J Cell Sci*, 109 (Pt 6):1253-1263.
- Kimura N, Pilichowska M, Date F, Kimura I, Schindler M. 1999. Immunohistochemical expression of somatostatin type 2A receptor in neuroendocrine tumors. *Clin Cancer Res*, 5 (11):3483-3487.
- Kirchner H, Oppenheim JJ. 1972. Stimulation of chicken lymphocytes in a serum-free medium. *Cell Immunol*, 3 (4):695-699.
- Kist M, Glocker E, Suerbaum S. 2005. [Pathogenesis, diagnostics and treatment of *Helicobacter pylori* infection]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 48 (6):669-678.
- Klimm B, Diehl V, Pfistner B, Engert A. 2005. Current treatment strategies of the German Hodgkin Study Group (GHSG). *Eur J Haematol Suppl*, (66):125-134.
- Koch P, del Valle F, Berdel WE, Willich NA, Reers B, Hiddemann W, Grothaus-Pinke B, Reinartz G, Brockmann J, Temmesfeld A, Schmitz R, Rube C, Probst A, Jaenke G, Bodenstern H, Junker A, Pott C, Schultze J, Heinecke A, Parwaresch R, Tiemann M, German Multicenter Study G. 2001a. Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: II. Combined surgical and conservative or conservative management only in localized gastric lymphoma--results of the prospective German Multicenter Study GIT NHL 01/92. *J Clin Oncol*, 19 (18):3874-3883.
- Koch P, del Valle F, Berdel WE, Willich NA, Reers B, Hiddemann W, Grothaus-Pinke B, Reinartz G, Brockmann J, Temmesfeld A, Schmitz R, Rube C, Probst A, Jaenke G, Bodenstern H, Junker A, Pott C, Schultze J, Heinecke A, Parwaresch R, Tiemann M, German Multicenter

- Study G. 2001b. Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: I. Anatomic and histologic distribution, clinical features, and survival data of 371 patients registered in the German Multicenter Study GIT NHL 01/92. *J Clin Oncol*, 19 (18):3861-3873.
- Kraenzlin ME, Wood SM, Neufeld M, Adrian TE, Bloom SR. 1985. Effect of long acting somatostatin-analogue, SMS 201 995, on gut hormone secretion in normal subjects. *Experientia*, 41 (6):738-740.
- Kramer JM. 2014. Early events in Sjogren's Syndrome pathogenesis: the importance of innate immunity in disease initiation. *Cytokine*, 67 (2):92-101.
- Kulaksiz H, Eissele R, Rossler D, Schulz S, Hollt V, Cetin Y, Arnold R. 2002. Identification of somatostatin receptor subtypes 1, 2A, 3, and 5 in neuroendocrine tumours with subtype specific antibodies. *Gut*, 50 (1):52-60.
- Kuppers R, Hansmann ML. 2005. The Hodgkin and Reed/Sternberg cell. *Int J Biochem Cell Biol*, 37 (3):511-517.
- Kuppers R, Rajewsky K, Zhao M, Simons G, Laumann R, Fischer R, Hansmann ML. 1994. Hodgkin disease: Hodgkin and Reed-Sternberg cells picked from histological sections show clonal immunoglobulin gene rearrangements and appear to be derived from B cells at various stages of development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91 (23):10962-10966.
- Lamberts SW, Krenning EP, Reubi JC. 1991. The role of somatostatin and its analogs in the diagnosis and treatment of tumors. *Endocr Rev*, 12 (4):450-482.
- Lamberts SW, de Herder WW, Hofland LJ. 2002. Somatostatin analogs in the diagnosis and treatment of cancer. *Trends Endocrinol Metab*, 13 (10):451-457.
- Lamberts SW, van der Lely AJ, de Herder WW, Hofland LJ. 1996. Octreotide. *N Engl J Med*, 334 (4):246-254.
- Lazarini F, Tham TN, Casanova P, Arenzana-Seisdedos F, Dubois-Dalcq M. 2003. Role of the alpha-chemokine stromal cell-derived factor (SDF-1) in the developing and mature central nervous system. *Glia*, 42 (2):139-148.
- Lennert K. 1975. Morphology and classification of malignant lymphomas and so-called reticuloses. *Acta Neuropathol Suppl*, Suppl 6:1-16.
- Lenze D, Berg E, Volkmer-Engert R, Weiser AA, Greiner A, Knorr-Wittmann C, Anagnostopoulos I, Stein H, Hummel M. 2006. Influence of antigen on the development of MALT lymphoma. *Blood*, 107 (3):1141-1148.
- Leu FP, Nandi M. 2010. GPCR somatostatin receptor extracellular loop 2 is a key ectodomain for making subtype-selective antibodies with agonist-like activities in the pancreatic neuroendocrine tumor BON cell line. *Pancreas*, 39 (8):1155-1166.
- Lightman SL, Young WS, 3rd. 1989. Lactation inhibits stress-mediated secretion of corticosterone and oxytocin and hypothalamic accumulation of corticotropin-releasing factor and enkephalin messenger ribonucleic acids. *Endocrinology*, 124 (5):2358-2364.

- Liu S, Ma J, Yue Y, Li Q, Yang H, Zhao H, Zhao W, Yu Y, Wang X, Zhao Z, Wang Y, Zhang Y. 2015. [The clinical and pathological characteristics of 14 patients' nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 36 (1):20-23.
- Lukes RJ, Collins RD. 1974. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer*, 34 (4 Suppl):suppl:1488-1503.
- Ma Q, Jones D, Borghesani PR, Segal RA, Nagasawa T, Kishimoto T, Bronson RT, Springer TA. 1998. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95 (16):9448-9453.
- Malcangio M, Getting SJ, Grist J, Cunningham JR, Bradbury EJ, Charbel Issa P, Lever IJ, Pezet S, Perretti M. 2002. A novel control mechanism based on GDNF modulation of somatostatin release from sensory neurones. *FASEB J*, 16 (7):730-732.
- Marshall BJ. 1993. Treatment strategies for *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am*, 22 (1):183-198.
- Maslinska M, Przygodzka M, Kwiatkowska B, Sikorska-Siudek K. 2015. Sjogren's syndrome: still not fully understood disease. *Rheumatol Int*, 35 (2):233-241.
- Masuzawa Y, Osawa T, Inoue K, Nojima S. 1973. Effects of various mitogens on the phospholipid metabolism of human peripheral lymphocytes. *Biochim Biophys Acta*, 326 (3):339-344.
- Maton PN. 1993. Use of octreotide acetate for control of symptoms in patients with islet cell tumors. *World J Surg*, 17 (4):504-510.
- May A, Leone M, Afra J, Linde M, Sandor PS, Evers S, Goadsby PJ, Force ET. 2006. EFNS guidelines on the treatment of cluster headache and other trigeminal-autonomic cephalalgias. *Eur J Neurol*, 13 (10):1066-1077.
- Michalides R. 2002. Cell cycle regulators: role in etiology, prognosis and treatment in cancer. *Ann Oncol*, 13 Suppl 4:39.
- Middle S, Coupland SE, Taktak A, Kidgell V, Slupsky JR, Pettitt AR, Till KJ. 2015. Immunohistochemical analysis indicates that the anatomical location of B-cell non-Hodgkin's lymphoma is determined by differentially expressed chemokine receptors, sphingosine-1phosphate receptors and integrins. *Exp Hematol Oncol*, 4:10.
- Minami S, Kamegai J, Sugihara H, Suzuki N, Wakabayashi I. 1998. Growth hormone inhibits its own secretion by acting on the hypothalamus through its receptors on neuropeptide Y neurons in the arcuate nucleus and somatostatin neurons in the periventricular nucleus. *Endocr J*, 45 Suppl:S19-26.
- Miyoshi I, Saito T, Kubonishi I, Taguchi H. 2005. Circulating Reed-Sternberg cells. *Intern Med*, 44 (9):1019.
- Montalban C, Manzanal A, Boixeda D, Redondo C, Alvarez I, Calleja JL, Bellas C. 1997. *Helicobacter pylori* eradication for the treatment of low-grade gastric MALT lymphoma: follow-up together with sequential molecular studies. *Ann Oncol*, 8 Suppl 2:37-39.

- Montminy MR, Goodman RH, Horovitch SJ, Habener JF. 1984. Primary structure of the gene encoding rat preprosomatostatin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 81 (11):3337-3340.
- Montserrat E, Campo E. 1995. [A new international classification of lymphoid neoplasms. Farewell to the Working Formulation, Kiel and company?]. *Med Clin (Barc)*, 104 (5):185-187.
- Muller-Hermelink HK, Ott G, Ott M, Greiner A. 1995. [Pathology and pathogenesis of extranodal lymphomas in the gastrointestinal tract]. *Praxis (Bern 1994)*, 84 (48):1416-1422.
- Mundschenk J, Unger N, Schulz S, Hollt V, Schulz S, Steinke R, Lehnert H. 2003. Somatostatin receptor subtypes in human pheochromocytoma: subcellular expression pattern and functional relevance for octreotide scintigraphy. *J Clin Endocrinol Metab*, 88 (11):5150-5157.
- Murphy E, Prommer EE, Mihalyo M, Wilcock A. 2010. Octreotide. *J Pain Symptom Manage*, 40 (1):142-148.
- Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, Takakura N, Nishikawa S, Kitamura Y, Yoshida N, Kikutani H, Kishimoto T. 1996. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature*, 382 (6592):635-638.
- Nakayama-Ichihama S, Yokote T, Kobayashi K, Hirata Y, Akioka T, Hiraoka N, Takayama A, Iwaki K, Oka S, Takubo T, Tsuji M, Hanafusa T. 2010. Multiple-cytokine-producing, mixedcellularity, classical Hodgkin lymphoma with B symptoms and minimal-change nephrotic syndrome. *Leuk Res*, 34 (7):e157-159.
- Nannini C, Jebakumar AJ, Crowson CS, Ryu JH, Matteson EL. 2013. Primary Sjogren's syndrome 1976-2005 and associated interstitial lung disease: a population-based study of incidence and mortality. *BMJ Open*, 3 (11):e003569.
- Niermann C, Schulze HJ, Hallermann C. 2008. [The history of lymphoma classifications with special consideration of cutaneous lymphomas]. *Hautarzt*, 59 (5):394-399.
- Nobre-Leitao C, Lage P, Cravo M, Cabecadas J, Chaves P, Alberto-Santos A, Correia J, Soares J, Costa-Mira F. 1998. Treatment of gastric MALT lymphoma by Helicobacter pylori eradication: a study controlled by endoscopic ultrasonography. *Am J Gastroenterol*, 93 (5):732-736.
- Nogova L, Reineke T, Eich HT, Josting A, Muller-Hermelink HK, Wingbermuehle K, Brillant C, Gossmann A, Oertel J, Bollen MV, Muller RP, Diehl V, Engert A. 2005. Extended field radiotherapy, combined modality treatment or involved field radiotherapy for patients with stage IA lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma: a retrospective analysis from the German Hodgkin Study Group (GHSG). *Ann Oncol*, 16 (10):1683-1687.
- Norton AJ. 1996. Classification of non-Hodgkin's lymphomas. *Baillieres Clin Haematol*, 9 (4):641-652.
- Oberlin E, Amara A, Bachelier F, Bessia C, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, Schwartz O, Heard JM, Clark-Lewis I, Legler DF, Loetscher M, Baggiolini M, Moser B. 1996. The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. *Nature*, 382 (6594):833-835.

Odemis V, Lamp E, Pezeshki G, Moepps B, Schilling K, Gierschik P, Littman DR, Engele J. 2005. Mice deficient in the chemokine receptor CXCR4 exhibit impaired limb innervation and myogenesis. *Mol Cell Neurosci*, 30 (4):494-505.

Olszewski AJ, Castillo JJ. 2013. Survival of patients with marginal zone lymphoma: analysis of the Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer*, 119 (3):629-638.

Ott G, Katzenberger T, Greiner A, Kalla J, Rosenwald A, Heinrich U, Ott MM, MullerHermelink HK. 1997. The t(11;18)(q21;q21) chromosome translocation is a frequent and specific aberration in low-grade but not high-grade malignant non-Hodgkin's lymphomas of the mucosa-associated lymphoid tissue (MALT-) type. *Cancer Res*, 57 (18):3944-3948.

Palackdharry CS. 1994. The epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma: why the increased incidence? *Oncology (Williston Park)*, 8 (8):67-73; discussion 73-68.

Papotti M, Bongiovanni M, Volante M, Allia E, Landolfi S, Helboe L, Schindler M, Cole SL, Bussolati G. 2002. Expression of somatostatin receptor types 1-5 in 81 cases of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. A correlative immunohistochemical and reverse-transcriptase polymerase chain reaction analysis. *Virchows Arch*, 440 (5):461-475.

Parker DC. 1975. Stimulation of mouse lymphocytes by insoluble anti-mouse immunoglobulin. *Nature*, 258 (5533):361-363.

Patel YC. 1999. Somatostatin and its receptor family. *Front Neuroendocrinol*, 20 (3):157-198.

Patel YC, Srikant CB. 1997. Somatostatin receptors. *Trends Endocrinol Metab*, 8 (10):398-405.

Patel YC, Papachristou DN, Zingg HH, Farkas EM. 1991. Regulation of islet somatostatin secretion and gene expression: selective effects of adenosine 3',5'-monophosphate and phorbol esters in normal islets of Langerhans and in a somatostatin-producing rat islet clonal cell line 1027 B2. *Endocrinology*, 128 (4):1754-1762.

Petersen H, Bizec JC, Schuetz H, Delporte ML. 2011. Pharmacokinetic and technical comparison of Sandostatin(R) LAR(R) and other formulations of long-acting octreotide. *BMC Res Notes*, 4:344.

Raderer M, Traub T, Formanek M, Virgolini I, Osterreicher C, Fiebiger W, Penz M, Jager U, Pont J, Chott A, Kurtaran A. 2001. Somatostatin-receptor scintigraphy for staging and followup of patients with extraintestinal marginal zone B-cell lymphoma of the mucosa associated lymphoid tissue (MALT)-type. *Br J Cancer*, 85 (10):1462-1466.

Raderer M, Wohrer S, Streubel B, Troch M, Turetschek K, Jager U, Skrabs C, Gaiger A, Drach J, Poespoek A, Formanek M, Hoffmann M, Hauff W, Chott A. 2006. Assessment of disease dissemination in gastric compared with extragastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma using extensive staging: a single-center experience. *J Clin Oncol*, 24 (19):3136-3141.

Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Solans R, Camps MT, Casanovas A, Sopena B, DiazLopez B, Rascon FJ, Qanneta R, Fraile G, Perez-Alvarez R, Callejas JL, Ripoll M, Pinilla B, Akasbi M, Fonseca E, Canora J, Nadal ME, de la Red G, Fernandez-Regal I, JimenezHeredia I, Bosch JA, Ayala MD, Morera-Morales L, Maure B, Mera A, Ramentol M, Retamozo S, Kostov B, Group SSS, Autoimmune Diseases Study Group of the Spanish Society of Internal M. 2014.

Systemic involvement in primary Sjogren's syndrome evaluated by the EULAR-SS disease activity index: analysis of 921 Spanish patients (GEAS-SS Registry). *Rheumatology (Oxford)*, 53 (2):321-331.

Rassidakis GZ, Medeiros LJ, Viviani S, Bonfante V, Nadali GP, Vassilakopoulos TP, Mesina O, Herling M, Angelopoulou MK, Giardini R, Chilosi M, Kittas C, McLaughlin P, Rodriguez MA, Romaguera J, Bonadonna G, Gianni AM, Pizzolo G, Pangalis GA, Cabanillas F, Sarris AH. 2002. CD20 expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease: associations with presenting features and clinical outcome. *J Clin Oncol*, 20 (5):1278-1287.

Ratajczak MZ, Zuba-Surma E, Kucia M, Reza R, Wojakowski W, Ratajczak J. 2006. The pleiotropic effects of the SDF-1-CXCR4 axis in organogenesis, regeneration and tumorigenesis. *Leukemia*, 20 (11):1915-1924.

Rath S, Connors JM, Dolman PJ, Rootman J, Rootman DB, White VA. 2014. Comparison of American Joint Committee on Cancer TNM-based staging system (7th edition) and Ann Arbor classification for predicting outcome in ocular adnexal lymphoma. *Orbit*, 33 (1):23-28.

Reisine T, Bell GI. 1995. Molecular properties of somatostatin receptors. *Neuroscience*, 67 (4):777-790.

Remmele W, Stegner HE. 1987. [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe*, 8 (3):138-140.

Remmele W, Schicketanz KH. 1993. Immunohistochemical determination of estrogen and progesterone receptor content in human breast cancer. Computer-assisted image analysis (QIC score) vs. subjective grading (IRS). *Pathol Res Pract*, 189 (8):862-866.

Reubi JC, Laissue J, Krenning E, Lamberts SW. 1992. Somatostatin receptors in human cancer: incidence, characteristics, functional correlates and clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 43 (1-3):27-35.

Reubi JC, Waser B, Schaer JC, Laissue JA. 2001. Somatostatin receptor sst1-sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *Eur J Nucl Med*, 28 (7):836-846.

Reubi JC, Kappeler A, Waser B, Schonbrunn A, Laissue J. 1998. Immunohistochemical localization of somatostatin receptor sst2A in human pancreatic islets. *J Clin Endocrinol Metab*, 83 (10):3746-3749.

Reubi JC, Schar JC, Waser B, Wenger S, Heppeler A, Schmitt JS, Macke HR. 2000. Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes SST1-SST5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use. *Eur J Nucl Med*, 27 (3):273-282.

Rosenberg SA. 1977. Validity of the Ann Arbor staging classification for the non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer Treat Rep*, 61 (6):1023-1027.

Sato H, Sato Y, Ichimura K, Oka T, Kondo E, Tanaka T, Kondo T, Ohara N, Takahashi K, Yoshino T. 2006. p27(Kip1) is detected on most gastric MALT lymphomas, but not large cell lymphomas. *J Clin Exp Hematop*, 46 (1):25-30.

- Savio A, Zamboni G, Capelli P, Negrini R, Santandrea G, Scarpa A, Fuini A, Pasini F, Ambrosetti A, Paterlini A, Buffoli F, Angelini GP, Cesari P, Rolfi F, Graffeo M, Pascarella A, Valli M, Mombello A, Ederle A, Franzin G. 2000. Relapse of low-grade gastric MALT lymphoma after *Helicobacter pylori* eradication: true relapse or persistence? Long-term posttreatment follow-up of a multicenter trial in the north-east of Italy and evaluation of the diagnostic protocol's adequacy. *Recent Results Cancer Res*, 156:116-124.
- Sawaoka H, Kawano S, Tsuji S, Tsuji M, Sun W, Gunawan ES, Hori M. 1998. *Helicobacter pylori* infection induces cyclooxygenase-2 expression in human gastric mucosa. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 59 (5):313-316.
- Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MH, Key G, Flad HD, Gerdes J. 1993. The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. *J Cell Biol*, 123 (3):513-522.
- Scholzen T, Gerdes J. 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*, 182 (3):311-322.
- Schonbrunn A. 2008. Selective agonism in somatostatin receptor signaling and regulation. *Mol Cell Endocrinol*, 286 (1-2):35-39.
- Schonbrunn A, Tashjian H, Jr. 1978. Characterization of functional receptors for somatostatin in rat pituitary cells in culture. *J Biol Chem*, 253 (18):6473-6483.
- Schoneberg T, Schultz G, Gudermann T. 1999. Structural basis of G protein-coupled receptor function. *Mol Cell Endocrinol*, 151 (1-2):181-193.
- Schulz S, Handel M, Schreff M, Schmidt H, Holtt V. 2000. Localization of five somatostatin receptors in the rat central nervous system using subtype-specific antibodies. *J Physiol Paris*, 94 (3-4):259-264.
- Schulz S, Schreff M, Schmidt H, Handel M, Przewlocki R, Holtt V. 1998a. Immunocytochemical localization of somatostatin receptor sst2A in the rat spinal cord and dorsal root ganglia. *Eur J Neurosci*, 10 (12):3700-3708.
- Schulz S, Schulz S, Schmitt J, Wiborny D, Schmidt H, Olbricht S, Weise W, Roessner A, Gramsch C, Holtt V. 1998b. Immunocytochemical detection of somatostatin receptors sst1, sst2A, sst2B, and sst3 in paraffin-embedded breast cancer tissue using subtype-specific antibodies. *Clin Cancer Res*, 4 (9):2047-2052.
- Schwarting R. 1993. Little missed markers and Ki-67. *Lab Invest*, 68 (6):597-599.
- Shi X, Li X, Chen L, Wang C. 2013. Analysis of somatostatin receptors and somatostatin promoter methylation in human gastric cancer. *Oncol Lett*, 6 (6):1794-1798.
- Shortman K, Cerottini JC, Brunner KT. 1972. The separation of sub-populations of T and B lymphocytes. *Eur J Immunol*, 2 (4):313-319.
- Sidebotham RL, Baron JH. 1990. Hypothesis: *Helicobacter pylori*, urease, mucus, and gastric ulcer. *Lancet*, 335 (8683):193-195.

- Simon Z, Tarr T, Ress Z, Gergely L, Kiss E, Illes A. 2007. Successful rituximab-CHOP treatment of systemic lupus erythematosus associated with diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Rheumatol Int*, 28 (2):179-183.
- Smoot DT, Mobley HL, Chippendale GR, Lewison JF, Resau JH. 1990. Helicobacter pylori urease activity is toxic to human gastric epithelial cells. *Infect Immun*, 58 (6):1992-1994.
- Somvanshi RK, Kumar U. 2012. Pathophysiology of GPCR Homo- and Heterodimerization: Special Emphasis on Somatostatin Receptors. *Pharmaceuticals (Basel)*, 5 (5):417-446.
- Specht E, Kaemmerer D, Sanger J, Wirtz RM, Schulz S, Lupp A. 2015. Comparison of immunoreactive score, HER2/neu score and H score for the immunohistochemical evaluation of somatostatin receptors in bronchopulmonary neuroendocrine neoplasms. *Histopathology*. Stange EF, Schneider A, Schusdziarra V, Ditschuneit H. 1984. Inhibitory effects of somatostatin on growth and differentiation in cultured intestinal mucosa. *Horm Metab Res*, 16 (2):74-78.
- Stansfeld AG, Diebold J, Noel H, Kapanci Y, Rilke F, Kelenyi G, Sundstrom C, Lennert K, van Unnik JA, Mioduszevska O, et al. 1988. Updated Kiel classification for lymphomas. *Lancet*, 1 (8580):292-293.
- Starborg M, Gell K, Brundell E, Hoog C. 1996. The murine Ki-67 cell proliferation antigen accumulates in the nucleolar and heterochromatic regions of interphase cells and at the periphery of the mitotic chromosomes in a process essential for cell cycle progression. *J Cell Sci*, 109 ( Pt 1):143-153.
- Stefanovic A, Lossos IS. 2009. Extranodal marginal zone lymphoma of the ocular adnexa. *Blood*, 114 (3):501-510.
- Stein H, Hummel M. 2007. [Burkitt's and Burkitt-like lymphoma. Molecular definition and value of the World Health Organisation's diagnostic criteria]. *Pathologe*, 28 (1):41-45.
- Stein H, Diehl V. 2014. First Hodgkin cell line L428 and the CD30 antigen: their role for diagnostic and treatment of CD30-positive neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am*, 28 (1):1-11.
- Surowiak P, Materna V, Matkowski R, Szczuraszek K, Kornafel J, Wojnar A, Pudelko M, Dietel M, Denkert C, Zabel M, Lage H. 2005. Relationship between the expression of cyclooxygenase 2 and MDR1/P-glycoprotein in invasive breast cancers and their prognostic significance. *Breast Cancer Res*, 7 (5):R862-870.
- Szanto A, Csipo I, Horvath I, Biro E, Szodoray P, Zeher M. 2008. Autoantibodies to alfafodrin in patients with Hashimoto thyroiditis and Sjogren's syndrome: possible markers for a common secretory disorder. *Rheumatol Int*, 28 (11):1169-1172.
- Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, Yoshida H, Kawabata K, Kataoka Y, Kitamura Y, Matsushima K, Yoshida N, Nishikawa S, Kishimoto T, Nagasawa T. 1998. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature*, 393 (6685):591-594.
- Takenaka T, Konda C. 1983. [Hodgkin's disease staging classification and procedures, with special reference to Ann Arbor classification]. *Nihon Rinsho*, 41 (11):2469-2474.

- Talal N, Bunim JJ. 1964. The Development of Malignant Lymphoma in the Course of Sjogren's Syndrome. *Am J Med*, 36:529-540.
- Taniyama Y, Suzuki T, Mikami Y, Moriya T, Satomi S, Sasano H. 2005. Systemic distribution of somatostatin receptor subtypes in human: an immunohistochemical study. *Endocr J*, 52 (5):605-611.
- Teicher BA, Fricker SP. 2010. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res*, 16 (11):2927-2931.
- Tengner P, Halse AK, Haga HJ, Jonsson R, Wahren-Herlenius M. 1998. Detection of antiRo/SSA and anti-La/SSB autoantibody-producing cells in salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum*, 41 (12):2238-2248.
- Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, Ketchum KA, Klenk HP, Gill S, Dougherty BA, Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson R, Khalak HG, Glodek A, McKenney K, Fitzgerald LM, Lee N, Adams MD, Hickey EK, Berg DE, Gocayne JD, Utterback TR, Peterson JD, Kelley JM, Cotton MD, Weidman JM, Fujii C, Bowman C, Watthey L, Wallin E, Hayes WS, Borodovsky M, Karp PD, Smith HO, Fraser CM, Venter JC. 1997. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 388 (6642):539-547.
- Tomita S, Ono Y, Fujimori T. 2003. [Pathology of gastric MALT lymphoma]. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*, 100 (5):540-545.
- Toulis KA, Goulis DG, Tsolakidou K, Hilidis I, Fragkos M, Polyzos SA, Gerofotis A, Kita M, Bili H, Vavilis D, Daniilidis M, Tarlatzis BC, Papadimas I. 2013. Thyrotropin receptor autoantibodies and early miscarriages in patients with Hashimoto thyroiditis: a case-control study. *Gynecol Endocrinol*, 29 (8):793-796.
- Trentin L, Cabrelle A, Facco M, Carollo D, Miorin M, Tosoni A, Pizzo P, Binotto G, Nicolardi L, Zambello R, Adami F, Agostini C, Semenzato G. 2004. Homeostatic chemokines drive migration of malignant B cells in patients with non-Hodgkin lymphomas. *Blood*, 104 (2):502508.
- Tsuji S, Tsujii M, Murata H, Nishida T, Komori M, Yasumaru M, Ishii S, Sasayama Y, Kawano S, Hayashi N. 2006. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer: underlying molecular and cellular mechanisms. *World J Gastroenterol*, 12 (11):1671-1680.
- Tubman DE, Frick MP, Hanto DW. 1983. Lymphoma after organ transplantation: radiologic manifestations in the central nervous system, thorax, and abdomen. *Radiology*, 149 (3):625631.
- Turner MD. 2014. Salivary gland disease in Sjogren's syndrome: sialoadenitis to lymphoma. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 26 (1):75-81.
- Tzioufas AG, Wassmuth R, Dafni UG, Guialis A, Haga HJ, Isenberg DA, Jonsson R, Kalden JR, Kiener H, Sakarellos C, Smolen JS, Sutcliffe N, Vitali C, Yiannaki E, Moutsopoulos HM. 2002. Clinical, immunological, and immunogenetic aspects of autoantibody production against Ro/SSA, La/SSB and their linear epitopes in primary Sjogren's syndrome (pSS): a European multicentre study. *Ann Rheum Dis*, 61 (5):398-404.

- Uno T, Isobe K, Shikama N, Nishikawa A, Oguchi M, Ueno N, Itami J, Ohnishi H, Mikata A, Ito H. 2003. Radiotherapy for extranodal, marginal zone, B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue originating in the ocular adnexa: a multiinstitutional, retrospective review of 50 patients. *Cancer*, 98 (4):865-871.
- Uppenkamp M, Feller AC. 2002. Classification of malignant lymphoma. *Onkologie*, 25 (6):563-570.
- Vanetti M, Kouba M, Wang X, Vogt G, Hollt V. 1992. Cloning and expression of a novel mouse somatostatin receptor (SSTR2B). *FEBS Lett*, 311 (3):290-294.
- Vorob'eva EA. 1961. [The lymphatic system of the human thymus gland]. *Arkh Anat Gistol Embriol*, 41:60-66.
- Vujasinovic-Stupar N, Pejnovic N, Markovic O, Babic G. 2008. Influence of rituximab-CHOP therapy on clinical course and autoimmune parameters in rheumatoid arthritis associated with diffuse large B cell non-Hodgkin lymphoma. *Ann Hematol*, 87 (9):767-769.
- Wanyura H, Uliasz M, Kaminski A, Samolczyk-Wanyura D, Smolarz-Wojnowska A. 2007. Diagnostic difficulties and treatment of non-Hodgkin lymphoma of the orbit. *J Craniomaxillofac Surg*, 35 (1):39-47.
- Willms A, Bieler D, Wieler H, Willms D, Kaiser KP, Schwab R. 2013. Correlation between sonography and antibody activity in patients with Hashimoto thyroiditis. *J Ultrasound Med*, 32 (11):1979-1986.
- Witzig TE, Hong F, Micaleff IN, Gascoyne RD, Dogan A, Wagner H, Jr., Kahl BS, Advani RH, Horning SJ. 2015. A phase II trial of RCHOP followed by radioimmunotherapy for early stage (stages I/II) diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: ECOG3402. *Br J Haematol*.
- Wohrer S, Isaacson PG, Raderer M. 2004. Complete regression of primary gastric plasmacytoma following *Helicobacter pylori* eradication. *Ann Hematol*, 83 (10):666.
- Wong A, Ching SS, Long AS. 2014. The use of a second biopsy from the gastric body for the detection of *Helicobacter pylori* using rapid urease test. *Singapore Med J*, 55 (12):644-647.
- Wong D, Korz W. 2008. Translating an Antagonist of Chemokine Receptor CXCR4: from bench to bedside. *Clin Cancer Res*, 14 (24):7975-7980.
- Wotherspoon AC. 2000. A critical review of the effect of *Helicobacter pylori* eradication on gastric MALT lymphoma. *Curr Gastroenterol Rep*, 2 (6):494-498.
- Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. 1991. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet*, 338 (8776):1175-1176.
- Wynick D, Polak JM, Bloom SR. 1989. Somatostatin and its analogues in the therapy of gastrointestinal disease. *Pharmacol Ther*, 41 (1-2):353-370.
- Yamada Y, Reisine T, Law SF, Ihara Y, Kubota A, Kagimoto S, Seino M, Seino Y, Bell GI, Seino S. 1992. Somatostatin receptors, an expanding gene family: cloning and functional characterization of human SSTR3, a protein coupled to adenylyl cyclase. *Mol Endocrinol*, 6 (12):2136-2142.

- Yamada Y, Kagimoto S, Kubota A, Yasuda K, Masuda K, Someya Y, Ihara Y, Li Q, Imura H, Seino S, et al. 1993. Cloning, functional expression and pharmacological characterization of a fourth (hSSTR4) and a fifth (hSSTR5) human somatostatin receptor subtype. *Biochem Biophys Res Commun*, 195 (2):844-852.
- Yamamoto S. 2002. Non-Hodgkin's lymphoma incidence in the world. *Jpn J Clin Oncol*, 32 (9):386.
- Yang X, Zhang B, Jiang YX, Zhao RN, Zhang XY, Li WB, Zhang Q, Lai XJ. 2014. Ultrasonographic features of thyroid nodules accompanied by Hashimoto thyroiditis. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, 36 (3):261-266.
- Zlotnik A, Yoshie O. 2012. The chemokine superfamily revisited. *Immunity*, 36 (5):705-716.
- Zou YR, Kottmann AH, Kuroda M, Taniuchi I, Littman DR. 1998. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature*, 393 (6685):595-599.
- Zucca E, Bertoni F, Roggero E, Cavalli F. 2000. The gastric marginal zone B-cell lymphoma of MALT type. *Blood*, 96 (2):410-419.
- Zucca E, Conconi A, Pedrinis E, Cortelazzo S, Motta T, Gospodarowicz MK, Patterson BJ, Ferreri AJ, Ponzoni M, Devizzi L, Giardini R, Pinotti G, Capella C, Zinzani PL, Pileri S, Lopez-Guillermo A, Campo E, Ambrosetti A, Baldini L, Cavalli F, International Extranodal Lymphoma Study G. 2003. Nongastric marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Blood*, 101 (7):2489-2495.
- Zwitter MJ, Drinovec J, Dubravcic M, Vodnik A, Petric-Grabnar J, Dolnicar M, Konstantinovic M, Zemva Z. 1987. Cyclosporine may alleviate B symptoms and induce a remission of heavily pretreated Hodgkin disease: a preliminary report. *Ann Intern Med*, 106 (6):843-844.

## **9 Anhang**

### **9.1 Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Frau apl. Prof. Dr. med. A. Lupp,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den

.....

Susann Stollberg

## 9.2 Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei allen Personen bedanken, die mich bei der Fertigstellung dieser Arbeit mit Rat und Tat unterstützt haben.

An erster Stelle gilt mein aufrichtiger Dank Frau apl. Prof. Dr. med. Amelie Lupp, die mir das Thema überlassen und mich geduldig eingearbeitet hat. Sie stand mir stets als zuverlässige Ansprechpartnerin bei allen Fragestellungen zur Seite. Ohne ihr großes Engagement und ihre konstruktiven Vorschläge bei der Auswertung der Daten sowie bei der Erstellung meines Manuskriptes, wäre die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. Markus Raderer und seinen Mitarbeitern für die Zurverfügungstellung der Patientenpräparate nebst den dazugehörigen umfangreichen klinischen Daten. Darüber hinaus stand er während der Entstehung dieser Dissertation immer als Ratgeber in Bezug auf übergeordnete Fragestellungen und Ziele zur Verfügung.

Für seine freundliche Unterstützung bedanke ich mich ebenfalls bei Herrn PD Dr. med. Daniel Kaemmerer und seinem Team.

Ganz besonderer Dank gilt Frau Elisa Neubauer, die mit mir ihre eigenen Erfahrungen geteilt hat und mir vor allem bei der statistischen Datenerhebung und weiteren technischen Fragen eine wertvolle Hilfe war. Ihr Engagement und ihre Geduld haben mich in dieser schwierigen Phase stets motiviert.

Ich bedanke mich ebenfalls bei allen Patienten und deren Angehörigen, die mit ihrem Einverständnis histologische Proben der Wissenschaft zur Verfügung zu stellen, diese Arbeit überhaupt erst ermöglicht haben.

Zuletzt bedanke ich mich bei meiner Familie und meinen Freunden, die immer ein offenes Ohr für mich hatten und mir bei auftretenden Problemen den Rücken gestärkt haben.

Motiviert hat mich besonders meine Oma, die diese Zeilen sicher mit Stolz gelesen hätte.

Vielen Dank Ihnen und Euch allen!