

Professor Dr. Wolfgang  
H. E. Roggendorf



Dr. Camelia M. Monoranu

*Die Neuropathologie hat ihre Wurzeln sowohl in der klinischen Nervenheilkunde wie in der pathologischen Anatomie unter Einschluss der normalen und vergleichenden Anatomie. Mit Einführung der Gliafärbung sowie der Nissl'schen Fixierungs- und Färbemethode der Nervenzellen bricht um die Wende des 20. Jahrhunderts eine neue Ära an. Eine weitere stürmische Entwicklung folgt in den Sechzigerjahren mit der Gründung der Deutschen Gesellschaft für Neuropathologie und Neuroanatomie. Im Folgenden sollen aktuelle Neuerungen der Biopsiediagnostik, der allgemeinen Diagnostik, auf Neuerungen im methodischen Bereich unter Einschluss der molekularbiologischen Methoden eingehen, sowie Forschungsrichtungen und wissenschaftliche Hauptthemen dargestellt werden. Nicht zuletzt sollten auch Referenzzentren und Studien genannt werden.*

# Neues aus der Neuropathologie

## Immunhistologie

Neben der immer noch routinemäßig angewandten klassischen „Neurohistologie“ (zum Beispiel Markscheidenfärbung, Nissl-Färbung und Versilberungen) und der gelegentlichen Elektronenmikroskopie hat die Immunhistologie einen wesentlichen Stellenwert eingenommen: In der Neuroonkologie werden mit manchmal nur millimetergroßen Proben weitreichende diagnostische Fragestellungen beantwortet. Daher ist es entscheidend, dass ein immunhistologisches Methodensystem zur Verfügung steht, das diese Proben ausreichend charakterisiert. So wird zur Einordnung der glialen Tumoren saures Gliafaserprotein (GFAP – Abbildung 1) eingesetzt, bei neuronalen Tumoren das Protein Synaptophysin, wodurch zum Beispiel Gangliozytome charakterisiert werden. Des Weiteren ist durch die Immunhistologie eine Zuordnung der Metastasen zu primären Tumoren wesentlich erleichtert worden, da eine aufwändige Suche des Primärtumors klinischerseits durch eine weniger aufwändige immunhistologische Untersuchung

ersetzt oder zumindest unterstützt werden kann. Hierzu sind Antikörper gegen epitheliale Proteine nachzuweisen, gelegentlich werden auch organspezifische Antikörper eingesetzt (zum Beispiel für Schilddrüse oder Prostata). Eine weitere Bedeutung der Immunhistologie in der täglichen Routine kommt der Charakterisierung der Lymphome zu. Hier kann durch ein Antikörperspektrum eine ausgefeilte, therapierelevante Subtypisierung durchgeführt werden. Nicht zuletzt ist eine Abgrenzung zwischen Tumorentität und entzündlicher Reaktion möglich.

Ein weiteres Anwendungsgebiet der Immunhistologie ist die prognostische Einschätzung von Tumoren. Hierzu ist die Bestimmung der Proliferationsrate ein wesentlicher Parameter. Seit langer Zeit ist der Marker Ki-67 ein gängig benutzter Antikörper. Neuerdings gibt es Antikörper die eine feinere Klassifikation der embryonalen Tumoren ermöglichen. INI-1 (Abbildung 2) ist zur Abgrenzung des so genannten atypischen teratoiden/rhabdoiden Tumors (AT/RT) von anderen embryonalen Tumoren, wie zum

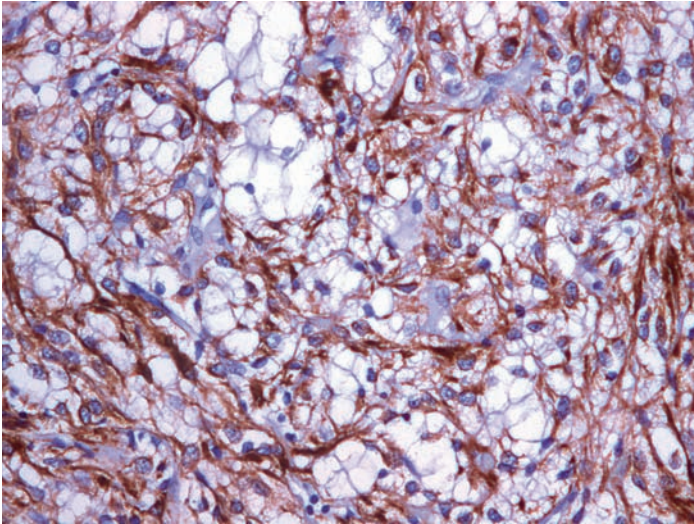


Abbildung 1: Saures Gliafaserprotein (GFAP) in den Tumorzellen eines niedriggradigen Astrozytoms.

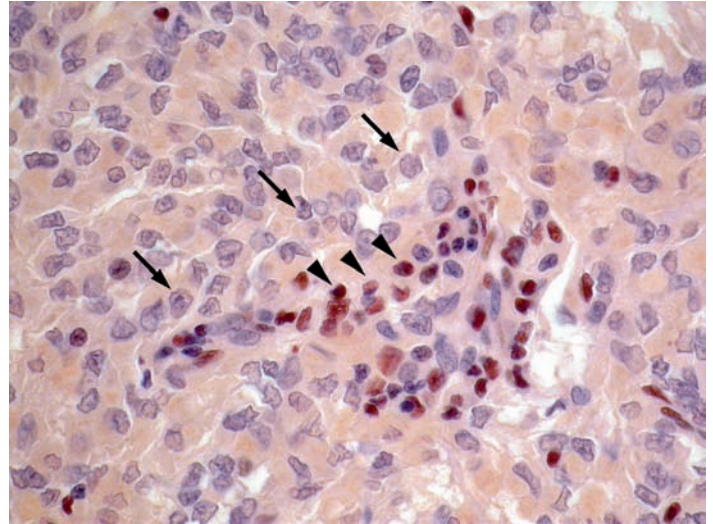


Abbildung 2: Atypischer teratoider/rhabdoider Tumor bei einem zweijährigen Kind: Verlust des nukleären INI1-Proteins in den Tumorzellen (siehe Pfeile); lediglich in den Endothelzellen des angetroffenen Gefäßes zeigt sich eine positive Markierung (siehe Pfeilspitzen).

Beispiel das Medulloblastom, gut einzusetzen. Dieses ist von Bedeutung zur Einschätzung der Prognose. Während Medulloblastome vom klassischen Typ in der Regel gute therapeutische Möglichkeiten haben, ist die Prognose bei AT/RT schlecht.

Eine neue Entwicklung stellt ein Antikörper dar, der eine Mutation des Isocitratdehydrogenase-1-Gens (IDH-1) erkennt. Diese Genmutation erscheint zu einem hohen Prozentsatz in diffusen Gliomen vom WHO-Grad II und III sowie in sekundären Glioblastomen. Dagegen ist die IDH-1-Mutation selten in primären Glioblastomen vorliegend. Es fehlt gänzlich bei Metastasen und anderen nicht hirneigenen Tumoren. Der kommerzielle Antikörper HO-9 (Abbildung 3) zeigt eine Oligodendrogliommarkierung in der Infiltrationszone. Hiermit ist der Antikörper zur Einschätzung von Astrozytomen Grad II und III und von Oligodendrogliomen wichtig. Der Antikörpernachweis fehlt in Gangliogliomen und ist äußerst hilfreich, reaktive Astrozyten von Tumoraströzyten zu differenzieren. Neuerdings wird IDH-1 zum Einsatz in klinischen Studien von Gliompatienten als Stratifizierungsfaktor diskutiert.

## Techniken der Molekularbiologie

In den vergangenen fünf Jahren hat sich die Diagnostik mit molekularbiologischen Techniken rasant entwickelt, insbesondere in der Neuroonkologie. Zunächst ein 1p19q-Assay bis

hin zu einer ganzen Reihe nützlicher Untersuchungen. Oligoastrozytome weisen Verluste (Deletionen) auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1 (1p) oder dem langen Arm des Chromosoms 19 (19q) auf. Der Nachweis dieser Deletionen erfolgt mittels PCR unter Anwendung spezieller Primer oder mittels Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH-Technik). Allerdings hat diese Entwicklung auch Fragen zur Variabilität der Ergebnisse aufgeworfen und darüber hinaus ist eine entsprechende technische Laborausstattung relativ kostspielig und die Durchführung solcher Untersuchungen zeitaufwändig. Im Folgenden ein kurzer Überblick über die wesentlichen Methoden:

- » die Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH-Technik),
- » die Methylierung und
- » das Gene-profiling.

FISH ist eine sehr gebräuchliche Testmethode, um Deletionen oder Translokationen festzustellen, wie zum Beispiel die 1p19q-Deletion, die genetische Signatur für Oligodendrogliome. Dadurch können Oligodendrogliome von anderen glialen Tumoren oder von neuronalen Tumoren, zum Beispiel der dysembryoplastischen neuroektodermalen Tumoren (DNT), unterschieden werden. Darüber hinaus weist die Signatur eine große prognostische Bedeutung auf, beispielsweise, ein besseres Ansprechen auf Chemotherapie oder Radiatio bei Oligodendrogliomen.

Die Methylguaninmethyltransferase-Promotormethylierungsuntersuchung (MGMT) mittels polymerase-chain-reaction (PCR) ist mittlerweile ein etablierter Test zur prognostischen Einschätzung der Glioblastome. Der Wert der anderen Methoden wie Gene-profiling ist bezüglich ihrer Bedeutung für Diagnose, Prognose oder Therapie noch nicht gesichert.

## Biopsie- und Zytodiagnostik

Diagnostisch hat nach wie vor die Biopsie den klassischen Stellenwert zur Festlegung der Entität und der prognostischen Einschätzung von Hirntumoren. Hier wird üblicherweise eine Paraffineinbettung nach Formalin-Fixierung durchgeführt. Zunehmend kleine Proben machen es erforderlich, auch eine ausführliche klinische anamnestische Datenkenntnis zu haben, bzw. einen Zugang zur Bildgebung zu gewinnen. Daneben spielen intraoperative Schnellschnitte eine wesentliche Rolle, da hiervon auch das intraoperative Vorgehen oftmals bestimmt wird. Die in den vergangenen Jahren zunehmend geübte Stereotaxie ist eine besondere Form der Probenentnahme. Die Bedeutung der Stereotaxie liegt darin, dass Prozesse, die in schlecht zugänglichen Regionen gelagert sind, durch diese Methode gezielt angegangen werden können oder dass zur Diagnosesicherung eine Gewebeprobe entnommen wird.

Ein weiteres wichtiges diagnostisches Feld ist die Zytologie. In der Regel wird hier eine Li-

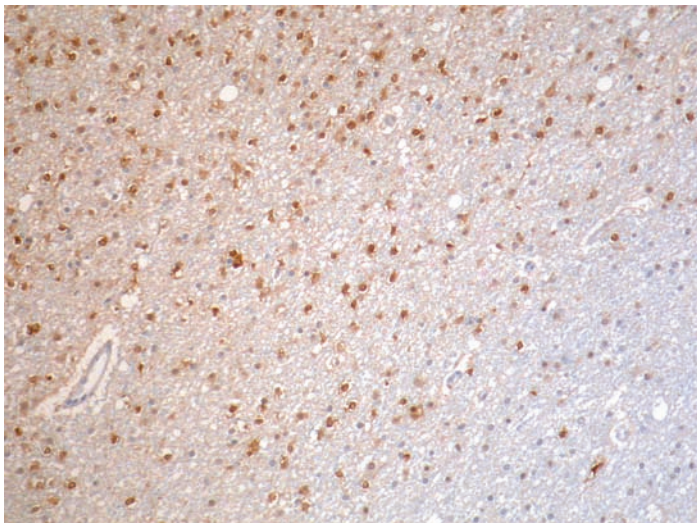


Abbildung 3: IDH-1-Mutation: Infiltrationszone eines Oligodendroglioms WHO Grad III. Im soliden Tumoranteil oben links, zeigt sich eine braune Markierung der Zellkerne. Rechts unten: nicht markierte, normale Oligodendrogliazellen im Marklager (Immunhistologie mit dem Antikörper H09).

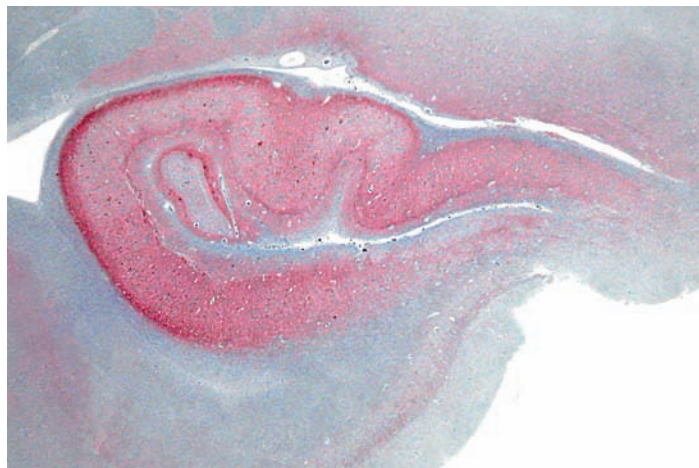


Abbildung 4: Hippocampus bei einem Autopsiegehirn mit Morbus Alzheimer Stadium IV, Nachweis von Tau-Proteinen mittels Immunhistologie in beinahe allen Abschnitten des Ammonshorn (Antikörper AT8).

quorzytologie durchgeführt. Dabei werden Cytospinpräparate gewonnen und mit einer Standardfärbung, May-Grünwald-Giemsa angefärbt. Diese Methode hat ihre wesentliche Erweiterung dadurch erfahren, dass auch von zytologischen Präparaten eine Immunhistologie durchgeführt werden kann, was zur Sicherung der Diagnose, zum Beispiel der Lymphome oder auch der metastatischen Prozesse eine wesentliche Bereicherung darstellt. Darüber hinaus ist es möglich, an Cytospinpräparaten molekularbiologische Methoden, zum Beispiel Klonalitätsanalysen für T- und B-Zellen mittels PCR durchzuführen.

Regelmäßiges neuropathologisches Eingangsgut sind Muskel- und Nervenbiopsien. Die Muskel- und Nervenbiopsien haben besondere Erfordernisse an die Präparation, hierbei ist nach wie vor für den Muskel wesentlich, dass tiefgefrorenes Material für Kyrostatschnitte zugänglich gemacht wird (Enzymhistochemie ergänzt durch immunhistologische Untersuchungen). Bei der Haut- oder Nervenbiopsie ist je nach Anforderung meistens eine spezielle Einbettung erforderlich.

**Autopsie**

Wie in der Pathologie so auch in der Neuro-pathologie nimmt der Umfang der Autopsie erheblich ab (bei stetig anwachsender Biop-sietätigkeit). Die Folgen sind eine Abnahme der Qualitätssicherung, einerseits, möglicherweise schafft hier die Notwendigkeit zur Zertifizierung Abhilfe, andererseits ist auch die Forschung

im Bereich Neurodegeneration erheblich be-einträchtigt, obgleich gerade hier ein Bedarf an Kenntniszunahme besteht (siehe unten). In der Diagnostik, im Rahmen der Autopsie, hat me-thodisch die Immunhistochemie Meilensteine (Abbildung 4) gesetzt. Wesentlich ist, dass die Proteinanalyse zu einer neuen Einteilung und zu besserem Verständnis neurodegenerativer Krankheiten beigetragen hat (Tabelle 1). Neben „Tauopathien“ und „Synucleinopathien“ unter

denen „alte“ bekannte Krankheiten zusammen-gefasst werden, sind es die ubiquitinassoziier-ten Proteine TDP-43 (TAR-DNA-bindingprotein 43) und FUS (fused in sarkoma), die eine neue Nomenklatur der Frontotemporallappende-generation (FTLD) und der amyotrophen Late-ralsklerose (ALS) hervorgebracht haben. Die Bedeutung könnte sein, dass diese Proteine Kandidaten zur Entwicklung neuer Therapiean-sätze sind.

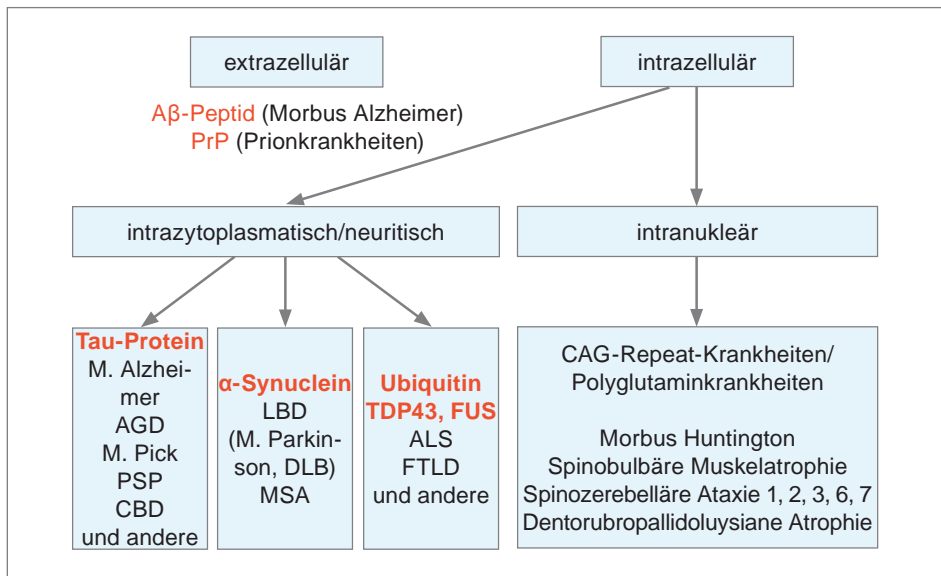


Tabelle 1: Proteinablagerungen bei neurodegenerativen Erkrankungen. A.-beta = Amyloid-beta, PRP = Prionprotein, AGD = Silberkörnchenkrankheit, PSP = progressive supranuclear palsy, CBD = corticobasale Degeneration, LBD = lewy bodies disease, MSA = Multisystematrophie, DLB = Demenz mit Lewykörper, ALS = amyotrophe Lateralsklerose, FTLD = Frontotemporallappendegeneration, CAG-Repeat = Trinukleotid-Repeat-Vergrößerung

## Forschung, Studien, Referenzzentrum

Wenn man sich das Programm der jüngsten neuropathologischen Fachtagung, sei es national oder international, ansieht, zeichnen sich drei Schwerpunkte der Forschung derzeit ab: Hirntumore, Neuroimmunologie und Neurodegeneration. Wie schon im Abschnitt Methoden erwähnt, spielt die Molekularbiologie mit ihren Techniken eine zentrale Rolle, um Signalwege zu charakterisieren (wie zum Beispiel bei den malignen Gliomen) oder um die Ausbreitung von Krankheiten (wie zum Beispiel Morbus Alzheimer) zu verstehen. Ein experimentelles Beispiel mag die Relevanz erhellen: So fand sich beta-Amyloid, intrazerebral inokuliert, im ganzen Hirngewebe ausgebreitet. Ebenso konnte beta-Amyloid intraperitoneal injiziert werden und es fand sich eine zeitlich verzögerte, zerebrale Manifestation und Ausbreitung. Neben den tierexperimentellen Studien kommt aber gerade den Untersuchungen am menschlichen Gehirn eine wesentliche Bedeutung zu. Aus diesem Grund sind wegen des eingangs geschilderten, teils dramatischen Rückgangs der Autopsierate neue Strategien notwendig und zum Teil schon etabliert. Seit Jahren besteht ein Verbund europäischer Biobanken, speziell auch Hirngewebsbanken (BrainNet Europe, BNE). Voraussetzung hierfür sind allerdings postmortale Gewebsspends und ein etabliertes, geeignetes Donationsprogramm. Gleichermaßen national oder international strukturierte Forschungsverbände gibt es für die

### Das Wichtigste in Kürze

- » Neben der Neurohistologie hat die Immunhistochemie einen wesentlichen Stellenwert.
- » Neue Antikörper wie INI-1 und IDH-1 tragen wesentlich zur Charakterisierung und prognostischen Einschätzung der Hirntumore bei.
- » In der Neuroonkologie hat die Diagnostik mit molekularbiologischen Techniken sich erheblich entwickelt mit Einfluss auf Diagnose, Prognose und Therapie.
- » Die Proteinanalyse hat zu einer neuen Einteilung und zum besseren Verständnis neurodegenerativer Erkrankungen beigetragen.

Neuroonkologie und die Neuroimmunologie. Wesentlicher Bestandteil und Voraussetzung der Forschungsverbände sind Referenzzentren. Nicht zuletzt sind diese notwendig, um Therapiestudien, die in vielfältiger Form vorliegen (HIT-Studie, Lymphomstudie, Gliomstudie), zu begleiten. Diese Referenzzentren sind für die Neurodegeneration und Prionerkrankungen in München, für entzündliche Erkrankungen des zentralen Nervensystems (ZNS) in Göttingen, für Hirntumore in Düsseldorf und Bonn und für Epilepsie in Erlangen.

Diese zahlreichen weitgefächerten Themen der Krankheiten des ZNS haben im Fach Neuropathologie im Verbund mit den Nachbardisziplinen (Neurologie, Neurochirurgie, Neuroradiologie und Psychiatrie) ein spannendes Arbeitsfeld der Diagnostik und Forschung gefunden.

*Die Autoren erklären, dass sie keine finanziellen oder persönlichen Beziehungen zu Dritten haben, deren Interessen vom Manuskript positiv oder negativ betroffen sein könnten.*

*Für die Mitarbeit bei der Abfassung des Manuskripts danken wir cand. med. Constanze Roggendorf, für die Herstellungen der Abbildungen Erwin Schmitt.*

### Autoren

*Professor Dr. Wolfgang H. E. Roggendorf,  
Dr. Camelia M. Monoranu,  
Institut für Pathologie der Universität  
Würzburg, Abteilung Neuropathologie,  
Josef-Schneider-Straße 2,  
97080 Würzburg, Telefon 0931 3181331*

Anzeige

## Ein bärenstarker Partner ...

... wenn es um Ihre Privatabrechnung geht.

Unsere Profis bearbeiten seit mehr als 30 Jahren die medizinische Privatabrechnung von über 1.700 Kunden in ganz Deutschland. Erstklassige Referenzen geben Ihnen die Sicherheit mit einem kompetenten Partner zusammen zu arbeiten.

Testen Sie uns ohne Risiko mit „Geld-zurück-Garantie“!



Herr Wieland freut sich auf Ihren Anruf!

**089 14310-115**

[www.medas.de](http://www.medas.de)



Privatärztliche Abrechnungsgesellschaft mbH