

Die Pathologie

Organ der Deutschen Abteilung der Internationalen Akademie für Pathologie, der Deutschen, der Österreichischen und der Schweizerischen Gesellschaft für Pathologie und des Bundesverbandes Deutscher Pathologen

106.

Leipzig 1. bis 3. Juni 2023

VERHANDLUNGEN
DER DEUTSCHEN
GESELLSCHAFT FÜR
PATHOLOGIE E.V.

**JAHRESTAGUNG
DER DEUTSCHEN
GESELLSCHAFT FÜR
PATHOLOGIE**

Pathologie – mehr als das Auge sieht!
Pathology – more than meets the eye!

www.pathologie-jahrestagung.de

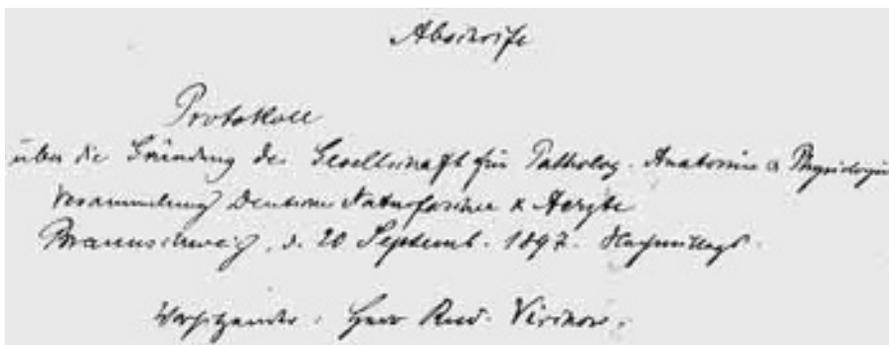
Deutsche Gesellschaft für Pathologie
und Neuropathologie
1894

Die Pathologie

Verhandlungen 2023
der Deutschen Gesellschaft
für Pathologie e.V.

Vorstände der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Tagung	Jahr	Tagungsort	Vorsitzender	Schriftführer	Tagung	Jahr	Tagungsort	Tagungspräsident/-in	Vorsitzender	Schriftführer/ Stellv. Vorsitzender
Konstituierende Versammlung										
	1897	Braunschweig	R. Virchow	E. Ponfick	52	1968	Würzburg		W. Giese	G. Seifert
1	1898	Düsseldorf	R. Virchow	E. Ponfick	53	1969	Mainz		E. Müller	G. Seifert
2	1899	München	R. Virchow	E. Ponfick	54	1970	Berlin		H. Meessen	G. Seifert
3	1900	Aachen	R. Virchow	E. Ponfick	55	1971	Nürnberg		H. Bredt	G. Seifert
4	1901	Hamburg	R. Virchow	E. Ponfick	56	1972	Graz		W. Doerr	G. Seifert
5	1902	Karlsbad	F.v. Recklinghausen (Stellv.)	E. Ponfick	57	1973	Karlsruhe		G. Liebegott	G. Seifert
6	1903	Kassel	J. Orth	E. Ponfick	58	1974	Interlaken		M. Ratzenhofer	G. Seifert
7	1904	Berlin	E. Ponfick	G. Schmorl	59	1975	Kiel		W. Selberg	G. Dhom
8	1905	Breslau	E. Ponfick	G. Schmorl	60	1976	Freiburg/Brsg.		H.-W. Altmann	G. Dhom
9	1906	Meran	H. Chiari	G. Schmorl	61	1977	Erlangen		Chr. Hedinger	G. Dhom
10	1907	Stuttgart	F. Marchand	G. Schmorl	62	1978	Wien		W. Sandritter	G. Dhom
11	1908	Dresden	P.v. Baumgarten	G. Schmorl	63	1979	Stuttgart		E. Grundmann	G. Dhom
12	1909	Kiel	A. Heller	G. Schmorl	64	1980	Bremen		H. Cain	G. Dhom
13	1910	Leipzig	A. Weichselbaum	G. Schmorl	65	1981	Innsbruck		M. Eder	G. Dhom
14	1911	Erlangen	G. Hauser	G. Schmorl	66	1982	Göttingen		J.H. Holzner	K. Hübner
15	1912	Strassburg	R. Paltauf	G. Schmorl	67	1983	Luzern		K. Lennert	K. Hübner
16	1913	Marburg	E. Fraenkel	G. Schmorl	68	1984	Berlin		G. Dhom	K. Hübner
17	1914	München	L. Aschoff	G. Schmorl	69	1985	Köln		R. Bässler	K. Hübner
		Kriegstagung			70	1986	Heidelberg		G. Seifert	K. Hübner
		Berlin	L. Aschoff		71	1987	Salzburg		V. Becker	K. Hübner
18	1921	Jena	G. Schmorl	M. Simmonds	72	1988	Hannover		J. Kracht	K. Hübner
19	1923	Göttingen	M.B. Schmidt	G. Schmorl	73	1989	Koblenz		W. Thoenes	K. Hübner
20	1925	Würzburg	M. Askanazy	G. Schmorl	74	1990	Aachen		A. Georgii	U. Löhrs
21	1926	Freiburg/Brsg.	P. Ernst	G. Schmorl	75	1991	Friedrichshafen		K. Hübner	U. Löhrs
22	1927	Danzig	O. Lubarsch	G. Schmorl	76	1992	Graz		R. Fischer	U. Löhrs
23	1928	Wiesbaden	C. Sternberg	G. Schmorl	77	1993	Würzburg		B. Helpap	G. Klöppel
24	1929	Wien	M. Borst	G. Schmorl	78	1994	Zürich		H. Denk	G. Klöppel
25	1930	Berlin	R. Rössle	G. Schmorl	79	1995	Hamburg		U. Pfeifer	G. Klöppel
26	1931	München	W. Hueck	G. Schmorl	80	1996	Dresden		H.K. Müller-Hermelink	G. Klöppel
27	1934	Rostock	W. Hueck (Stellv.)	G.B. Gruber	81	1997	Berlin		Ph.U. Heitz	G. Klöppel
28	1935	Giessen	A. Dietrich	G.B. Gruber	82	1998	Kassel		D. Katenkamp	G. Klöppel
29	1936	Breslau	B. Fischer-Wasels	G.B. Gruber	83	1999	Jena		M. Stolte	T. Kirchner
30	1937	Frankfurt/M.	H. Beitzke	G.B. Gruber	84	2000	Kiel		H. Höfler	T. Kirchner
31	1938	Stuttgart/Tübingen	Th. Fahr	G.B. Gruber	85	2001	Münster		H. Nizze	T. Kirchner
		Kriegstagung			86	2002	Wien		G. Klöppel	T. Kirchner
		Breslau	W. Fischer		87	2003	Bamberg		H. Stein	T. Kirchner
32	1948	Dortmund	A. Lauche	G.B. Gruber	88	2004	Rostock		G. Mikuz	H.H. Kreipe
33	1949	Kiel	A. Lauche	E. Randerath	89	2005	Wuppertal		H.E. Gabbert	H.H. Kreipe
34	1950	Wiesbaden	A. Lauche	E. Randerath	90	2006	Berlin		F. Hofstädter	H.H. Kreipe
35	1951	Hannover	G.B. Gruber	E. Randerath	91	2007	Magdeburg		T. Kirchner	H.H. Kreipe
36	1952	Freiburg/Brsg.	G. Domagk	E. Randerath	92	2008	Berlin		M. Dietel	H.H. Kreipe
37	1953	Marburg	C. Froboese	E. Randerath	93	2009	Freiburg i.Br.	D. Kerjaschki	M. Dietel	H. Moch
38	1954	Hamburg	C. Froboese (Stellv.)	C. Krauspe	94	2010	Berlin	H.H. Kreipe	M. Dietel	H. Moch
39	1955	Zürich	E. Letterer	C. Krauspe	95	2011	Leipzig	C. Wittekind	M. Dietel	H. Moch
40	1956	Düsseldorf	M. Nordmann	C. Krauspe	96	2012	Berlin	G. Baretton	M. Dietel	H. Moch
41	1957	Bad Nauheim	A.v. Albertini	C. Krauspe	97	2013	Heidelberg	P. Schirmacher	P. Schirmacher	H. Moch
42	1958	Wien	F. Büchner	C. Krauspe	98	2014	Berlin	A. Roessner	P. Schirmacher	H. Moch
43	1959	Mannheim	W. di Biasi	C. Krauspe	99	2015	Frankfurt a. M.	M.L. Hansmann	P. Schirmacher	H. Moch
44	1960	München	E. Randerath	C. Krauspe	100	2016	Berlin	R. Knüchel-Clarke	P. Schirmacher	H. Moch
45	1961	Münster/W.	A. Werthemann	C. Krauspe	101	2017	Erlangen	A. Hartmann	P. Schirmacher	H. Moch
46	1962	Dortmund	A. Terbrüggen	C. Krauspe	102	2018	Berlin	C. Röcken	P. Schirmacher	C. Röcken
47	1963	Basel	C. Krauspe	W. Giese	103	2019	Frankfurt a. M.	K.W. Schmid	G. Baretton	C. Röcken
48	1964	Salzburg	H. Hamperl	W. Giese	104	2020	online	P. Möller	G. Baretton	C. Röcken
49	1965	Saarbrücken	E. Uehlinger	W. Giese		2021	online (ViPa)	G. Baretton	G. Baretton	C. Röcken
50	1966	Heidelberg	W. Büngeler	W. Giese	105	2022	Münster	E. Wardelmann	G. Baretton	C. Röcken
51	1967	Göttingen	F. Boemke	W. Giese	106	2023	Leipzig	F. Fend	G. Baretton	C. Röcken



▲ Kopf des Gründungsprotokolls der „Gesellschaft für Pathologische Anatomie und Physiologie“ vom 20. September 1897 (G. Dhom (1997) 100 Jahre Deutsche Gesellschaft für Pathologie (1897 bis 1997). Der Pathologe, 18: S. 1–17)

Verhandlungen der
Deutschen Gesellschaft für Pathologie e. V.
**106. Jahrestagung der Deutschen
Gesellschaft für Pathologie
„Pathologie – mehr als das Auge
sieht“**



Im Auftrag der Gesellschaft herausgegeben von
Prof. Dr. med. Falko Fend
Tübingen
Beatrix Zeller
Berlin

Anschrift des Herausgebers:
Deutsche Gesellschaft für Pathologie e.V. (DGP)
Robert-Koch-Platz 9
10115 Berlin

- S97 Editorial**
Nachlese zur 106. Jahrestagung der DGP
B. Zeller
- S100 Ansprachen**
Eröffnung der Jahrestagung der Deutschen
Gesellschaft für Pathologie 2023, Leipzig
F. Fend
- S102 Laudatio auf Prof. Dr. med. Thomas Kirchner**
D. Horst
- S104 Referate: Preisträgerinnen und Preisträger –
Rudolf-Virchow-Preis**
Multistain Deep Learning zur Vorhersage von
Prognose und Therapieansprechen im kolorektalen
Karzinom
S. Schulz · M. Jesinghaus · S. Foersch
- S109 Referate: Preisträgerinnen und Preisträger –
Forschungspreis der DGP**
Somatische Malignitäten des Hodens. Analysen
zur Charakterisierung der Mutationslast, der
DN5-Methylierung und des Proteoms
F. Bremmer
- S113 Referate: Preisträgerinnen und Preisträger –
Promotionspreis**
Tumor-Immunzell-Interaktion und Seneszenz-
assoziierte Moleküle im kolorektalen Karzinom
F. Kellers
- S121 Hauptreferate: Hauptprogramm der DGP**
The 2022 classifications of lymphoid neoplasms.
Keynote
E. Campo
- S128 What is new in the classification of peripheral T cell
lymphomas?**
L. de Leval · B. Bisig
- S136 Primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative
disorders with DUSP22 translocation**
S. Montes-Moreno
- S140 3D/4D strategische Lymphknotendiagnostik.
Die 4D-Darstellung des humanen Lymphknotens
ermöglicht die Beobachtung und Interpretation
des Immunsystems in Raum und Zeit**
M.-L. Hansmann
- S144 Klonale Hämatopoese und Knochenmarkinfiltration
bei Patienten mit einem nodalen Lymphom
der T-follikulären Helferzellen**
D. Nann · F. Fend · L. Quintanilla-Martinez
- S150 Molekulare Diagnostik des vitreoretinalen Lymphoms**
I. Bonzheim · J. Salmerón-Villalobos · D. Süsskind et al.
- S155 NGS-basierte Molekulargenetik der Leukämie –
ein leistungsfähiger und dezentraler Lösungsansatz**
S. Dintner · M. Schmutz · S. Sommer et al.
- S160 CD23-positive, BCL2-Rearrangement-negative
Keimzentrumslymphome**
T. Menter · L. Quintanilla-Martinez
- S164 The role of flow cytometry in the classification
of myeloid disorders**
L. Saft
- S176 Using proteomics for stratification and risk prediction
in patients with solid tumors**
T. Werner · M. Fahrner · O. Schilling

- S183** Methoden, Anwendungen und Zukunftsperspektiven der intraoperativen Gewebeerkennung
S. Hermanns · S. Dammeier · A. Neugebauer et al.
- S188** Das Two-in-one-hit-Modell der beschleunigten Genese von kolorektalen Karzinomen beim MLH1-assoziierten Lynch-Syndrom
A. Ahadova · A. Stenzinger · T. Seppälä et al.
- S193** Interdisziplinäre ultraschallgesteuerte minimal-invasive Autopsie bei COVID-19-Verstorbenen auf der Intensivstation einer Universitätsklinik. Eine Proof-of-Concept-Studie
T. Lahmer · K. Stock · S. Rasch et al.
- S198** **Hauptreferate: Arbeitsgemeinschaften der DGP**
Letale lymphozytäre Myokarditis – eine unterschätzte Diagnose im Säuglings- und Kindesalter?
R. Dettmeyer
- S204** Testicular cancer: new developments, molecular pathology, and current research keynote
A. Lopez-Beltran
- S208** Zoonosen bei einheimischen Wildsäugetieren
R. Ulrich
- S215** Der Riesenzelltumor des Knochens – ein Update
F. Tschavoll · G. Lutteri · B. Leinauer et al.
- S220** **Hauptreferate: Arbeitsgemeinschaften der DGP – Kurzbeiträge**
Weiterbildung zum Facharzt für Pathologie in der DDR
E. Schneider
- S222** Digital image analysis and artificial intelligence in pathology diagnostics—the Swiss view
S. Berezowska · G. Cathomas · R. Grobholz et al.
- S225** National digital pathology projects in Switzerland: A 2023 update
R. Grobholz · A. Janowczyk · A. L. Frei et al.
- S229** Digitale Pathologie in Österreich
C. Schatz · A. Qerimi · J. Haybaeck
- S232** **Berichte der Arbeitsgemeinschaften**
Bericht der Arbeitsgemeinschaft Dermatopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
E. Bierhoff · D. Metz
- S235** Bericht der Arbeitsgemeinschaft für Gastroenteropathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
J. Neumann · A. Quaas
- S237** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Geschichte und Ethik der Pathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
T. Braunschweig · K. Schierle
- S239** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Gynäko- und Mammopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
E. Burandt · R. Erber
- S242** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Hämatopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
G. Ott
- S244** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Herz-, Gefäß-, Nieren- und Transplantationspathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
J. Wohlschläger · J. H. Bräsen
- S246** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Informatik, digitale Pathologie und Biobanking der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
N. Zerbe
- S248** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Kinderpathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
E. Gradhand · T. Hager
- S250** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Knochen-, Gelenk- und Weichgewebspathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie. Die Sitzung der AG Knochen-, Gelenk- und Weichteilpathologie fand am 01.06.2023 im Rahmen der Jahrestagung der DGP in Leipzig statt
T. F. E. Barth · B. Märkl
- S252** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Kopf-Hals-Pathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
N. Rupp
- S254** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Molekularpathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
U. Siebolts · J. Sperveslage · N. Pfarr
- S256** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Thoraxpathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
C. Kümpers · K. Steinestel
- S260** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Uropathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
F. Bremmer · H. Reis
- S263** Bericht der Arbeitsgemeinschaft Zytopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie
D. Schmidt · I. Baltisser
- Nachrufe**
- S265** Şengül Boral. 01.01.1973–07.11.2022
K. Hauptmann · D. Horst
- S267** Christian Kyrieleis. 05.02.1935–24.06.2022
J. Bernhards
- S269** Peter Röttger. 18.04.1934–20.05.2022
U. Gross
- S271** Susanne Enders. 30.07.1957–11.12.2022
J. Friemann
- S273** Hanspeter Rohr. 23.07.1935–15.02.2023
M. Mihatsch
- S275** William A. Meier-Ruge. 28.07.1930–09.04.2020
M. Mihatsch

S277 Wilko Weichert. 22.09.1970–10.07.2023
M. Dietel · P. Schirmacher · C. Mogler et al.

S279 Christine Woischke. 09.07.1986 – 04.06.2023
S. Müller

Verschiedenes

Satzungen

Protokoll der DGP-Mitgliederversammlung 2023

Geschäftsordnung

Preisverleihungen

**Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft
für Pathologie**

Autor*innenverzeichnis

Impressum

Titelbild: © Deutsche Gesellschaft für Pathologie

Danksagung

Die Deutsche Gesellschaft für Pathologie e. V. dankt Herrn Prof. Dr. med. Falko Fend für die Unterstützung bei der Herausgabe der diesjährigen DGP-Verhandlungen.

Service

Alle Beiträge sind im Online-Archiv von Die Pathologie für alle Abonnent*innen der Zeitschrift frei zugänglich unter www.DiePathologie.de

Die Pathologie**Organ der Deutschen Abteilung der Internationalen Akademie für Pathologie****Organ der Deutschen Gesellschaft für Pathologie****Organ der Österreichischen Gesellschaft für Pathologie****Organ der Schweizerischen Gesellschaft für Pathologie****Organ des Bundesverbandes Deutscher Pathologen****Schriftleitung**

Prof. Dr. Wilfried Roth, Institut für Pathologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Stellvertretende Schriftleitung

Prof. Dr. Matthias Gaida, Institut für Pathologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Herausgeberinnen und Herausgeber

Prof. Dr. Hideo Andreas Baba, Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Essen

Prof. Dr. Gustavo Bruno Baretton, Institut für Pathologie, Universitätsklinikum „Carl Gustav Carus“, TU Dresden

Prof. Dr. Lukas Bubendorf, Institut für Pathologie, Universitätsspital Basel, Schweiz

Prof. Dr. Matthias Evert, Institut für Pathologie, Universität Regensburg

Prof. Dr. Falko Fend, Institut für Pathologie, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Prof. Dr. Johannes Haybäck, Institut für Pathologie, Neuropathologie und Molekularpathologie, Innsbruck

Prof. Dr. Hans Heinrich Kreipe, Institut für Pathologie, Medizinische Hochschule Hannover

Prof. Dr. Sigurd Lax, Institut für Pathologie, LKH Graz West, Österreich

Prof. Dr. Thomas Mentzel, Dermatopathologische Gemeinschaftspraxis, Friedrichshafen

Prof. Dr. Holger Moch, Institut für Klinische Pathologie, UniversitätsSpital Zürich, Schweiz

Prof. Dr. Sven Perner, MVZ HPH Institut für Pathologie und Hämatopathologie GmbH, Hamburg

Prof. Dr. Wolfgang Saeger, Institut für Pathologie und Neuropathologie, Universität Hamburg

Prof. Dr. Peter Schirmacher, Pathologisches Institut, Universität Heidelberg

Prof. Dr. Kurt Werner Schmid, Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Essen

Prof. Dr. Dietmar Schmidt, Institut für Pathologie, Viersen

Prof. Dr. Annette Hildegard Schmitt-Gräff, Abt. Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Freiburg

Prof. Dr. Michael Vieth, Institut für Pathologie, Klinikum Bayreuth GmbH

PD Dr. Mathias Werner, Fachbereich Pathologie, Vivantes Netzwerk für Gesundheit, Berlin

Prof. Dr. Claudia Wickenhauser, Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Halle (Saale)

Rubrikherausgeberinnen und Rubrikherausgeber**Bild des Monats**

Prof. Dr. Matthias Gaida, Mainz,

Prof. Dr. Wilfried Roth, Mainz

CME Zertifizierte Fortbildung

Prof. Dr. Sabina Berezowska, Institut Universitaire de Pathologie, Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV) et Université de Lausanne, Schweiz

Prof. Dr. Sven Perner, MVZ HPH Institut für Pathologie und Hämatopathologie GmbH, Hamburg

Prof. Dr. Christoph Röcken, Institut für Pathologie, Christians-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel

Prof. Dr. Peter Wild, Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie, Universitätsklinikum, Frankfurt

Der besondere Fall

Prof. Dr. Wolfgang Saeger, Hamburg

Journal Club

Prof. Dr. Christoph Röcken, Institut für Pathologie, Christians-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel

Kasuistiken

Prof. Dr. Matthias Gaida, Mainz

Molekulares Tumorboard

Prof. Dr. Ulrich Lehmann, Institut für Pathologie, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover

Prof. Dr. Albrecht Stenzinger, Molekularpathologisches Zentrum, Universitätsklinikum, Heidelberg

Originalien

Prof. Dr. Matthias Gaida, Mainz

Standortbestimmung Pathologie

Prof. Dr. Falko Fend, Tübingen

Übersichten

Prof. Dr. Wilfried Roth, Mainz

Für Autorinnen und Autoren · Instructions for Authors

Bitte reichen Sie Ihre Manuskripte ausschließlich über das Online-System „Editorial Manager“ ein.

<http://www.editorialmanager.com/depa/>.

Bei der ersten Benutzung müssen Sie sich bitte einmalig registrieren.

Manuskripteinreichung / Online Manuscript Submission:

Bei Fragen zur Einreichung wenden Sie sich bitte an:

Frau Elisabeth Althaus

Editorial Office Die Pathologie

Springer Medizin Verlag GmbH

Forststraße 31, 42697 Solingen

E-Mail: elisabeth.althaus@springer.com

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S97–S99
<https://doi.org/10.1007/s00292-023-01273-7>
 Angenommen: 24. Oktober 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature 2023

Nachlese zur 106. Jahrestagung der DGP

Beatrix Zeller

Deutsche Gesellschaft für Pathologie e. V. (DGP), Berlin, Deutschland

Vom 1. bis 3. Juni 2023 fand die 106. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP) im Congress Center Leipzig (CCL) an der Leipziger Messe (■ Abb. 1) unter dem Tagungsmotto „Pathologie – mehr als das Auge sieht!“ statt. Tagungspräsident Prof. Falko Fend (■ Abb. 2) zeigte sich sehr erfreut über die hohe Teilnahmebereitschaft aus dem Fachbereich Pathologie – 766 Teilnehmer*innen stellten in 71 Sitzungen ihre neuesten Forschungsarbeiten vor, diskutierten, bildeten sich fort und nutzten die Zeit zum Aufbau und zur Pflege gemeinsamer Netzwerke und Partnerschaften. Im Vorfeld waren 345 wissenschaftliche Abstracts eingereicht worden, welche in 209 Vorträgen und 134 Postern vorgestellt wurden.

Besondere Highlights waren die Opening Keynote von Prof. Gary Nolan aus Stanford (USA) am Donnerstagabend zum Thema „Resolving form, function, time & mechanism at the tumor-immune interface“ (■ Abb. 3) und die Festrede zum Leipziger Papyrus Ebers von Prof. Reinhold Scholl von der Universitätsbibliothek Leipzig (■ Abb. 4).

Am zweiten und dritten Kongresstag gab es zudem fünf weitere hochkarätige Keynotes zu den Tagungsschwerpunkten von Leeat Keren (Rehovot, Israel), Elias Campo (Barcelona, Spanien), Claudia Lengerke (Tübingen), Bertrand Nadel (Marseille, Frankreich) und Muzlifah Haniffa (Newcastle upon Tyne, UK).

Zum zweiten Mal fanden in diesem Jahr sowohl ein gemeinsamer Gesellschaftsabend der Tagung „PathoConnect“ (■ Abb. 5) am Freitagabend, zu dem al-

le Tagungsteilnehmer*innen, die eines der limitierten Tickets ergatterten konnten, herzlich eingeladen waren, sowie ein gemeinsamer Morgenlauf für Frühsportler über 5 km, der „Patho-Run“ (■ Abb. 6), statt. Beide Events fanden großen Zuspruch und sollen auch bei den kommenden Tagungen beibehalten werden. Das Startgeld des Patho-Runs wurde in diesem Jahr an die Leipziger Stiftung für krebserkrankte Kinder gespendet.

Die Schwerpunkte der Jahrestagung umfassten in diesem Jahr Vorträge zu den folgenden Themen:

- Hämatopathologie
- Multiparametrische Zell- und Gewebanalyse
- Intraoperative Gewebesensorik
- Pathologie und Interdisziplinarität
- Aus- und Weiterbildung



Abb. 1 ▲ Der Foyer-Bereich im CCL in Leipzig. (© Leßmann DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)



QR-Code scannen & Beitrag online lesen



Abb. 2 ▲ Eröffnungsrede des Tagungspräsidenten, Prof. Falko Fend, am Donnerstagabend. (© Leßmann DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)



Abb. 3 ▲ Opening Keynote von Gary Nolan. (© Leßmann DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)



Abb. 4 ▲ Festredner zum Papyrus Ebers, Prof. Reinhold Scholl aus Leipzig. (© Leßmann DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)



Abb. 5 ▲ Abendveranstaltung PathoConnect im FELIX am Leipziger Hauptbahnhof. (© Leßmann DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)

- Gemeinsame Sitzungen mit anderen Fachgesellschaften

Die DGP-Arbeitsgemeinschaften erhielten am Tagungsdonnerstag und -freitag wieder traditionell die Möglichkeit, sich zu treffen und ihre Sitzungen mit den themenspezifischen Beiträgen aus der freien Abstracteinreichung und eingeladenen Gastreferent*innen zu gestalten.

Als Kooperationspartner waren in diesem Jahr die European Association for Haematopathology (EA4HP), die Deutsche Röntgengesellschaft (DRG), die Deutsche Gesellschaft für Chirurgie (DGCH) sowie die

European Society of Pathology (ESP) und die Internationale Akademie für Pathologie Bonn (IAP), die dankenswerterweise wieder vier Fortbildungskurse auf der Tagung zusammen mit der DGP organisiert hat, vertreten.

Ehrungen und Preisverleihungen

Herr Prof. Thomas Kirchner aus München wurde in der Eröffnungsveranstaltung der Jahrestagung am 1. Juni 2023 für sein lebenslanges Engagement für den Fachbereich Pathologie von der DGP mit der Rudolf-Virchow-Medaille 2023 ausgezeichnet. Die Laudatio für Herrn Prof. Kirchner, die von seinem ehemaligen Mit-

arbeiter Herrn Prof. David Horst (Berlin) gehalten wurde, finden Sie ebenfalls in diesem Band.

Der Rudolf-Virchow-Preis wurde in diesem Jahr ebenfalls in der Eröffnungsveranstaltung an Herrn Dr. Sebastian Förtsch aus Mainz für seine Arbeit „Multistain deep learning for prediction of prognosis and therapy response in colorectal cancer“ vergeben. Sie ist im November 2022 in *Nature Medicine* erschienen. Eine Kurzzusammenfassung des Beitrages finden Sie im Bereich „Hauptreferate, Preisträger*innen“ in diesem Band.

Außerdem wurde Herr PD Dr. Felix Bremmer aus Göttingen zum Gewinner des DGP-Forschungspreises gekürt, der an den besten Tagungsbeitrag vergeben wird, der als freier Abstract eingereicht wurde. Seine Arbeit trägt den Titel „Germ cell tumour-related somatic-type malignancies: Characterizing the mutational burden, DNA methylation landscape and proteome to identify the tissue-of-origin, mechanisms of therapy resistance and druggable targets“.

Es fand eine große Posterbegehung sowie eine anschließende Best-Poster-Sitzung zur Vergabe der vier DGP-Posterpreise statt (▣ **Abb. 7**). Und es wurde der DGP-Promotionspreis vergeben. Eine Übersicht der Preisträger*innen stellen wir Ihnen im hinteren Teil dieser Verhandlungen zur Verfügung.

Danksagung

Der besondere Dank der DGP gilt dem diesjährigen Tagungspräsidenten, Herrn



Abb. 6 ▲ Patho-Run am Freitagmorgen. (© Försch, DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)

Prof. Dr. Falko Fend, und seinen Mitarbeiter*innen Herrn Prof. Dr. Christian Schürch und Frau Angelika Deja vom Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Tübingen, die mit großem Einsatz und viel Expertise und Sorgfalt geholfen haben, die Tagung zu organisieren und zu einem Erfolg zu machen!

Die DGP möchte sich zudem ganz herzlich bei den 51 Sponsoringpartnern bedanken, welche die Jahrestagung in diesem Jahr unterstützt haben!

Außerdem gilt ein besonderer Dank den Kolleg*innen von der Veranstaltungsagentur KUKM, von Smart-Abstract und der Grafikagentur mehrwert sowie dem Kongresshaus CCL, die ebenfalls alle maßgeblich am Gelingen der Tagung beteiligt waren.

Korrespondenzadresse

Beatrix Zeller

Deutsche Gesellschaft für Pathologie e. V. (DGP)
Robert-Koch-Platz 9, 10115 Berlin, Deutschland
zeller@pathologie-dgp.de

Interessenkonflikt. B. Zeller gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.



Abb. 7 ▲ 14 Posterpreis-Kandidat*innen haben in diesem Jahr Ihre Beiträge in der Best-Poster-Sitzung noch einmal vorgestellt. Es wurden wieder vier Posterpreise gekürt. (© Leßmann DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)

Eröffnung der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie 2023, Leipzig

Falko Fend

Institut für Pathologie und Neuropathologie, Abt. Allgemeine und Molekulare Pathologie und Pathologische Anatomie, Eberhard Karls Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland

Liebe Kolleginnen und Kollegen,
liebes Organisationsteam von KUKM,
liebe Unterstützer aus der Industrie,

mit großer Freude und Vorfreude, aber auch bereits mit ein wenig Erleichterung möchte ich sie herzlich zur 106. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie in Leipzig begrüßen. Mit Freude, weil das Interesse an dieser Tagung sehr groß ist, gemessen an den zahlreichen Beiträgen und den Anmeldungen und der Industriebeteiligung, mit Vorfreude, weil wir 3 Tage ein spannendes und abwechslungsreiches Programm mit hochkarätigen eingeladenen Sprechern und vielen guten Abstracts vor uns haben, mit Erleichterung, weil die vielen intensiven Stunden der Vorbereitung in ein hoffentlich gutes Ergebnis münden.

Eva Wardelmann war die erste, die das Wagnis einer Tagung in Präsenz auf sich nehmen musste, und wie wir alle wissen, war die erste Post-COVID-Tagung in Münster ein großer Erfolg. Insofern dachten wir uns, es wird schon nicht schiefgehen! Leipzig ist ein attraktiver Tagungsort und hat auch rundum viel zu bieten, wenn man an Kultur, Musik und Geschichte interessiert ist, aber auch, wenn man eine lebendige, dynamische und vielfältige Stadt erleben will. Der wichtigste Beitrag zum Gelingen der Jahrestagung bleibt natürlich das wissenschaftliche Programm.

Als Schwerpunkte der Tagung haben wir uns ein Spezialgebiet der Pathologie, das schon lange nicht mehr Thema der Jahrestagung war, nämlich die Hämatopathologie, und ein methodisches Querschnittsthema, die vielen faszinierenden

Methoden der multiparametrischen Gewebeanalyse mit all ihren unbegrenzten Möglichkeiten gewählt. Fortschritt in der Pathologie ist immer auch methodengetrieben und gerade die Hämatopathologie war oft Avantgarde im Einsatz seinerzeit neuer Techniken wie der Immunhistochemie oder der molekulargenetischen Analyse. Unbeabsichtigt ist die Hämatopathologie dieses Jahr auch aus anderem Grunde besonders aktuell: Es gibt nicht nur eine, sondern sogar zwei neue Klassifikationen von Neoplasien des lymphatischen und hämatopoetischen Systems zur „großen Freude“ aller Nicht-Hämatopathologen und unserer klinischen Kollegen, mit denen wir auch die kritischen Aspekte dieser Entwicklung beleuchten werden. Ohne auf die eher im Politischen als im Wissenschaftlichen gelegenen Gründe für die Publikation zweier Klassifikationen einzugehen, möchte ich trotzdem einen positiven Blickwinkel einnehmen. Konkurrierende Konzepte und sachliche Auseinandersetzung sind für Fortschritt in der Wissenschaft nicht nur hilfreich, sondern letztlich unabdingbar, wenn die Diskussion mit Argumenten geführt wird. Ständige Harmonie führt zum Stillstand. Diese Diskussion werden wir auch im Rahmen eines Round Table, für den ich um rege Beteiligung bitte, mit prominenten Vertretern beider Klassifikationen aufgreifen. Zum Schwerpunkt der multiparametrischen Analyse von Geweben, von Multifärbetechniken wie Codelx über Proteomik und Metabolomik bis hin zum Einsatz künstlicher Intelligenz für die Analyse dieser komplexen Datensätze haben wir zahlreiche prominente, internationale Sprecherinnen und Sprecher einge-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

laden, die entscheidend die Entwicklung dieser Techniken geprägt und vorangetrieben haben.

Neben diesen beiden Hauptthemen haben wir die Interdisziplinarität in all ihren Facetten als weiteres Thema gewählt. Gerade in der Hämatopathologie ist die Interdisziplinarität bei der Befundung notwendiger Alltag, denn oft ist nur in der Synopsis von Klinik, Morphologie, Immunphänotyp und molekularer Genetik eine Diagnose möglich. Gemeinsame Sitzungen mit der deutschen Röntgengesellschaft zum Gewebeamaging aus der Sicht von Pathologie und Radiologie und eine gemeinsame Sitzung mit der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie zu optischen und physikalischen Sensoren als mögliche Ersatztechnologien für den intraoperativen Schnellschnitt runden das Hauptprogramm ab. Wie immer waren die Arbeitsgemeinschaften auch heuer sehr aktiv und haben sehr attraktive Programme zusammengestellt, und wie immer haben wir uns erlaubt, interessante Beiträge fürs Hauptprogramm zu entführen.

Die Zukunft der Pathologie ist jung und weiblich, darum haben wir großen Wert auf einen hohen Anteil von Frauen – nahezu 50% bei den eingeladenen Sprechern – und ein attraktives Programm für das Junge Forum gelegt, in dem in einer Sitzung „How to“ Einführungen in die Hämatopathologie und moderne Methoden gegeben werden, gleichsam als Propädeutik für den Rest der Tagung, ergänzt durch Informationen zu verschiedenen intra- und extramuralen Fördermöglichkeiten.

Als Ansporn für die Beschäftigung mit wissenschaftlichen Arbeiten gibt es auch heuer wieder Preise für die besten Forschungsarbeiten, die besten Promotionen und die besten Poster. Wir haben uns dazu entschlossen, dass nur von der Erstautor:in vorgestellte Beiträge in die Auswahl kommen können, um tatsächlich die Jungen nach vorne zu bringen.

Bevor ich an Gustavo Baretton als Präsidenten der DGP übergebe, möchte ich mich noch ganz herzlich bei allen bedanken, ohne die diese Tagung nicht möglich wäre: Beim Vorstand für die Unterstützung unseres Programms und die intensiven Diskussionen; bei allen eingeladenen Referenten und Referentinnen, die zum Teil einen sehr langen Weg auf sich genommen ha-

ben. Besonders erwähnen möchte ich unseren Festredner Professor Scholl, der uns mit seinem Beitrag über den Papyrus Ebers einen spannenden Blick in die Anfänge der Medizin geben wird. Dank gilt allen, die in so großer Zahl Abstracts eingereicht haben, und natürlich dem Kernteam, das seit fast 2 Jahren intensiv an der Planung der Jahrestagung beteiligt ist. Zum Tübinger Team gehören Angelika Deja und Christian Schürch, der insbesondere für den Teil über die modernen Methoden der Gewebeanalyse seine Verbindungen für hochkarätige Referenten eingesetzt hat. Ohne die Unterstützung durch Jörg Maas und Beatrix Zeller in Berlin und deren langjährige Erfahrung und perfekte Terminplanung hätte sich das Konzept nicht so gut entwickelt. Danke auch dem Team von KUKM, das sich kompetent und sehr kooperativ um all unsere Belange kümmerte. Nicht zuletzt muss ich die Industrie erwähnen, ohne deren finanzielle Unterstützung die Tagung in dieser Form nicht möglich wäre und ohne deren technologische Entwicklungen viele der modernen Methoden, die wir in den nächsten Tagen sehen werden, nicht zustande kommen könnten. Last but not least gilt der Dank meiner Frau, die mich nicht nur bei allem unterstützt, sondern von der ich auch viel von der Organisation einer erfolgreichen Tagung, der European Association of Haematopathology (EAHP) in Florenz, abschauen konnte. Mit der EAHP werden wir auch gemeinsam eine Sitzung zu neuen Entwicklungen bei malignen Lymphomen veranstalten. Damit möchte ich an Gustavo Baretton übergeben, nicht ohne Sie auf den im Anschluss an die Eröffnung stattfindenden Empfang herzlich einzuladen und Ihnen spannende und lehrreiche 3 Tage in Leipzig zu wünschen.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Falko Fend

Institut für Pathologie und Neuropathologie,
Abt. Allgemeine und Molekulare Pathologie
und Pathologische Anatomie, Eberhard Karls
Universität Tübingen
Liebermeisterstr. 8, 72076 Tübingen,
Deutschland
falko.fend@med.uni-tuebingen.de

Interessenkonflikt. F. Fend gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Laudatio auf Prof. Dr. med. Thomas Kirchner

David Horst

Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland

Liebe Kolleginnen und Kollegen, meine sehr verehrten Damen und Herren,

die Deutsche Gesellschaft für Pathologie (DGP) verleiht nach einstimmiger Entscheidung im Vorstand Herrn Prof. Dr. Thomas Kirchner die Rudolf-Virchow-Medaille (▣ Abb. 1). Diese Medaille ist die höchste Auszeichnung der DGP, die nur an Persönlichkeiten vergeben wird, die sich um die Entwicklung unseres Fachs Pathologie besonders verdient gemacht haben. Ich bin absolut überzeugt davon, dass Thomas Kirchner diese Auszeichnung ganz besonders verdient hat, und es ist mir eine große Ehre, lieber Thomas – als Dein Schüler und langjähriger ehemaliger Mitarbeiter – einige Aspekte aus Deinem Leben und Deinen Leistungen für unser Fach hervorheben zu dürfen (▣ Abb. 2).

Zunächst ein paar Eckpunkte aus dem Lebenslauf von Thomas Kirchner, die seine über 40 Schaffensjahre für die deutsche Pathologie kennzeichnen. Sein rasanter akademischer Aufstieg beginnt mit der Facharztweiterbildung am Pathologischen

Institut in Würzburg und deren Abschluss im Jahr 1988 mit anschließender Habilitation. Im Jahr 1992 ist er stellvertretender Direktor der Pathologie in Würzburg und tritt kurz darauf – 1993 – mit nur 39 Jahren als jüngster Ordinarius für Pathologie in Deutschland den Lehrstuhl an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg an. Schließlich folgt ab 2005 der Lehrstuhl für Pathologie an der Ludwig-Maximilians-Universität München – und damit an einer der größten, forschungstärksten und bedeutsamsten Universitäten Europas.

Diese Stationen im Lebenslauf von Thomas Kirchner bilden den Rahmen, in dem er sich intensiv wissenschaftlich, fachlich, berufspolitisch und in der Ausbildung seiner Mitarbeiter und Studenten engagiert. Wissenschaftlich fokussiert er sich zunächst auf immunologische Fragestellungen in Thymus und Magen und zeigt u. a. eindrucksvoll in einer in *The Lancet* veröffentlichten Arbeit einen Mechanismus, der Thymome mit der Entstehung von Myasthenia gravis erstmals direkt in Verbin-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen



Abb. 1 ◀ Prof. Thomas Kirchner erhält die Rudolf-Virchow-Medaille. Die Überreichung erfolgt durch die DGP-Vorstandsvorsitzenden Prof. Gustavo Baretton und Prof. Christoph Röcken. (© Leßmann DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)



Abb. 2 ▲ Prof. David Horst hält als ehemaliger Schüler Thomas Kirchners die Laudatio zur Verleihung im Rahmen der Eröffnungsveranstaltung der 106. Jahrestagung der DGP am 1. Juni 2023 in Leipzig. (© Leßmann DGP 2023, mit freundl. Genehmigung)

dung bringt. Allerdings etabliert er dann in Erlangen einen weiteren wissenschaftlichen Schwerpunkt, der auch seine Schaffenszeit in München und das Profil des Pathologischen Instituts der LMU nachhaltig prägen wird und den er zu einem wahren Leuchtturm entwickelt: Kolonkarzinome. Die hierzu von ihm veröffentlichten Arbeiten über zelluläre Heterogenität, migrierende Tumorstammzellen und unterschiedliche biologische Entstehungsrouten sind Wegbereiter für ein völlig neues Verständnis dieser häufigen Krebserkrankung und sie bilden für eine ganze Wissenschaftlergeneration am Pathologischen Institut der LMU unter seiner Leitung die Grundlage für ein breit angelegtes, weithin sichtbares und international vernetztes Forschungsprogramm. Seine aktuell über 500 Publikationen und mehr als 23.000 Zitationen fassen dies in Zahlen. Die bereits 2004 erfolgte Aufnahme in die Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina und die Wahl zu deren Senator für den Bereich Pathologie und Rechtsmedizin von 2016 bis 2020 unterstreichen darüber hinaus noch einmal mehr seine herausragende wissenschaftliche Reputation.

Lieber Thomas, ich kenne Dich aus der Schülerperspektive als fachlichen und wissenschaftlichen Förderer und Ideengeber,

ständigen Ansprechpartner für so gut wie alle Kolleginnen und Kollegen am Institut bei diagnostisch komplexen Fällen und als herausragenden Hochschullehrer, bestbenotet durch unsere Studenten. Aber hier besonders relevant sind Deine über den lokalen Rahmen hinausgehenden fachlichen und berufspolitischen Engagements und Errungenschaften, von denen ich beispielhaft einige nennen möchte. Als Vizepräsident des Medizinischen Fakultätentages hat Thomas Kirchner federführend an der ärztlichen Approbationsordnung 2002 mitgewirkt, deren aktualisierte Fassung bis heute gültig ist, die Pathologie in der Medizinerbildung fest verankert und somit zu unserem Nachwuchs ganz wesentlich beiträgt. Die Struktur unserer Molekularpathologie, bei der die histopathologische Diagnostik mit der molekularen Analytik vereint in der Hand des Pathologen liegt, ist über die RAS-Mutationsanalytik beim Darmkrebs maßgeblich von ihm mitkonzipiert und durchgesetzt worden und findet sich heute in dieser Form – für inzwischen breite molekulare Charakterisierungen – in so gut wie allen unseren Instituten wieder. Außerdem markiert die Aufnahme molekularpathologischer Leistungen in den einheitlichen Bewertungsmaßstab im Jahr 2016, die er im Vorstand des Bundesverbandes Deutscher Pathologen mitgestaltet und verhandelt hat, ebenfalls einen dieser durch ihn geprägten Meilensteine, die unser Fach wesentlich vorangebracht haben und von denen wir heute alle profitieren.

Von zahlreichen weiteren herausfordernden Aufgaben und Funktionen, die Thomas Kirchner in Gremien der Universität, in der Ausbildung von Pathologinnen und Pathologen, in übergreifenden Einrichtungen zur Forschungsförderung wie der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Deutschen Krebshilfe und in nationalen Vernetzungsstrukturen wahrgenommen hat, ist hier explizit noch sein langjähriges Engagement für die Deutsche Gesellschaft für Pathologie hervorzuheben. Mehr als 10 Jahre lang begleitete er die Ausrichtung unserer Gesellschaft als Mitglied des DGP-Vorstands, engagierte sich über lange Zeit als deren Schriftführer und übernahm von 2006 bis 2007 den DGP-Vorstandsvorsitz. Außerdem richtete er 2007 als Präsident die Jahrestagung in

Magdeburg aus und war langjähriger Vorsitzender des Preiskomitees der Rudolf-Virchow-Stiftung. Für den wissenschaftlichen Austausch in der Pathologie, die akademische Profilierung unseres Fachs und die Förderung des wissenschaftlichen und fachlichen Nachwuchses sind diese Aktivitäten von unschätzbarem Wert.

Thomas Kirchner hat sich mit all diesen unermüdlichen Leistungen, die nur als herausragend beschrieben werden können, um die Entwicklung der Deutschen Pathologie besonders verdient gemacht und diese geprägt. Die durch ihn vermittelten Werte und Kompetenzen werden u. a. durch die Besetzung mehrerer Lehrstühle und W3-Professuren aus seiner Schmiede in der Universitätslandschaft weitergetragen.

Lieber Thomas, die deutsche Pathologie ist Dir zu großem Dank verpflichtet. Dies spiegelt sich in der heutigen Verleihung der Rudolf-Virchow-Medaille wider.

Zu dieser höchsten Auszeichnung ganz herzlichen Glückwunsch.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. David Horst
Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Deutschland
patho-chefsekretariat@charite.de

Interessenkonflikt. D. Horst gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S104–S108
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01280-8
Angenommen: 30. Oktober 2023
Online publiziert: 21. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Multistain Deep Learning zur Vorhersage von Prognose und Therapieansprechen im kolorektalen Karzinom

Stefan Schulz¹ · Moritz Jesinghaus² · Sebastian Foersch¹

¹ Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Mainz, Mainz, Deutschland

² Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Marburg, Marburg, Deutschland

Zusammenfassung

Der Tumorummunmikroumgebung („tumor immune microenvironment“, TIME) kommt bei soliden Tumorerkrankungen, wie z. B. Darmkrebs, eine entscheidende prognostische und prädiktive Rolle zu. Dennoch werden Scoringsysteme wie der Immunoscore (IS) oder die Quantifizierung intraepithelialer Lymphozyten nur zögerlich in der klinischen Praxis eingesetzt. Dies ist einerseits auf den zeitlichen Mehraufwand bei manueller Quantifizierung der tumorassoziierten Immunzellen und andererseits auf die mit proprietären/kommerziellen Lösungen verbundenen Kosten zurückzuführen. Um dies zu adressieren, entwickelten wir ein Multistain-Deep-Learning-Modell (MSDLM) und trainierten, validierten und testeten dies an immunhistochemischen Bilddaten verschiedener Immunzellsubtypen von über 1000 Patient*innen mit kolorektalem Karzinom (KRK). Unser Modell zeigte eine hohe prognostische Genauigkeit und übertraf andere klinische molekular- und immunzellbasierte Parameter. Es könnte auch dazu verwendet werden, das Ansprechen auf neoadjuvante Therapien bei Rektumkarzinompatient*innen vorherzusagen. Durch KI-Erklärbarkeit bestätigten wir, dass die Vorhersagen des MSDLM auf etablierten Mustern der Antitumorimmunantwort basiert. Der sog. Almmunoscore (AIS) könnte somit ein wertvolles Entscheidungsinstrument für Kliniker*innen basierend auf der TIME darstellen.

Schlüsselwörter

Pathologie · Künstliche Intelligenz · Maschinelles Lernen · Dickdarmkrebs · Tumorummunologie

Hintergrund

Das kolorektale Karzinom (KRK) zählt mit 1,9 Mio. Neuerkrankungen und 930.000 Todesfällen allein im Jahr 2020 weltweit zu den häufigsten Krebsarten. Aufgrund steigender lebensstilassoziierter Risikofaktoren wie Übergewicht, körperlicher Inaktivität und westlicher Ernährungsformen wird erwartet, dass die KRK-assoziierte Krankheitslast weiter zunimmt [1]. Eine präzise Vorhersage von Prognose und Therapieansprechen ist daher von zentraler Bedeutung, um sowohl Überals auch Untertherapien zu vermeiden. Zu den etablierten Prognosefaktoren gehören

das TNM-Stadium, die Tumorlokalisierung und -eindringtiefe, die Ausbildung von Satellitenknoten, eine Serosabeteiligung, die Anzahl und der Befall der resezierten Lymphknoten, eine (Lymph-)Gefäß- und Perineuralscheideninfiltration (VELIPI) sowie das jeweilige spezifische Wuchsmuster [2–4]. Daneben können auch molekulare Marker wie etwa der Nachweis einer aktivierenden *BRAF*-V600E-Mutation oder einer Mikrosatelliteninstabilität zur Abschätzung der Prognose beitragen [5, 6]. Die prognostische und prädiktive Bedeutung der Tumorummunmikroumgebung (TIME) im kolorektalen Karzinom wurde bereits vor knapp 2 Jahrzehnten beschrie-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

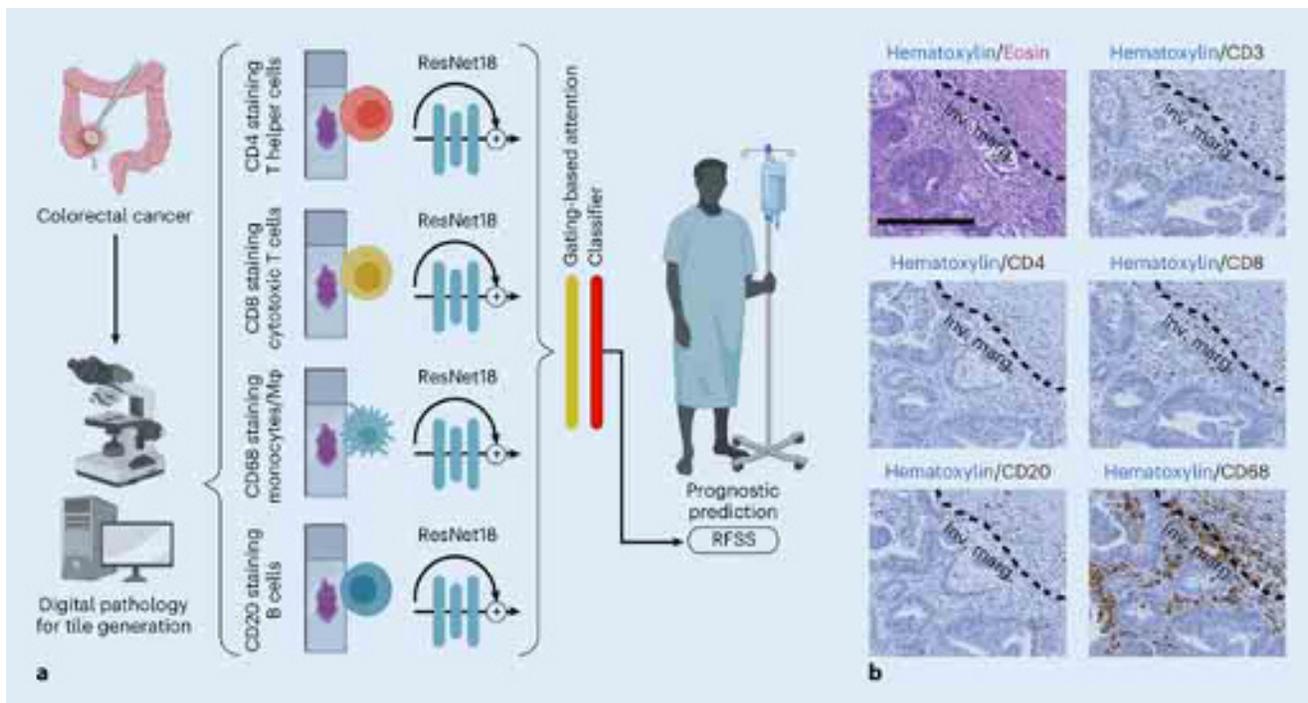


Abb. 1 **a** Schematischer Aufbau des Multistain-Deep-Learning-Modell(MSDLM)-Ansatzes. **b** Beispiel eines kolorektalen Karzinoms in der HE-Färbung sowie verschiedene Immunzellfärbungen, welche in der Studie verwendet wurden. Skalenbalken 250 µm. (Einzelne Diagramme wurden mit BioRender.com erstellt. Abbildung entnommen von Foersch et al. [13])

ben [7]. Insbesondere sind bestimmte Immunzellen wie T- und B-Zellen mit einer günstigeren Prognose assoziiert [5, 8]. So wurde ein auf CD3- und CD8-positiven Lymphozyten basierender Immunoscore (IS) entwickelt, dessen Vorhersagekraft in mehreren Studien bestätigt werden konnte [9–11]. Nichtsdestotrotz wird er in der Praxis aufgrund von Zeit- und Kostenerwägungen nur selten angewendet. Es wird angenommen, dass die Einbeziehung weiterer Immunzellfärbungen die Vorhersagekraft dieses Scores sogar noch erhöhen könnte [5, 12]. Vor diesem Hintergrund haben wir ein KI-Modell entwickelt, welches auf verschiedenen Immunzellfärbungen basiert und dieses auf die Vorhersage der Prognose sowie des neoadjuvanten Therapieansprechens von kolorektalen Karzinomen aller Stadien hin trainiert (Abb. 1; [13]). Darüber hinaus erfolgte der Vergleich mit dem „klassischen“ Immunoscore sowie anderen prognostischen Parametern. KI-Methoden haben in den verschiedensten medizinischen Bereichen bereits beeindruckende Ergebnisse gezeigt und auch für histopathologische Daten existieren zahlreiche Anwendungsbeispiele [14, 15]. Multimo-

dale KI-Ansätze sind im medizinischen Kontext jedoch noch selten und bisher wurde kein solches KI-Modell speziell zur Charakterisierung der TIME verwendet.

Material und Methoden

Für unsere Studie verwendeten wir insgesamt 4 unterschiedliche Patientenkohorten. Die ersten 3 Kohorten stammten aus München, Mainz und Erlangen und umfassten Patient*innen aller UICC-Stadien mit kolorektalem Adenokarzinom. Die Münchner und Erlangerer Daten wurden kombiniert und dienten als Grundlage für das Training und die Validierung unseres Multistain-Deep-Learning-Modells (MSDLM). Die Mainzer Daten wurden als externes Testset verwendet, um die Effektivität und Genauigkeit des MSDLM im Vergleich zu anderen klinischen, pathologischen, molekularen und immunologischen Parametern zu überprüfen. Eine vierte Kohorte aus Mainz bestand aus neoadjuvant behandelten Patient*innen mit Rektumkarzinomen, von denen sowohl prätherapeutische Biopsien als auch postoperative Gewebeschnitte zur Bestimmung der Tumorregression nach

neoadjuvanter Therapie herangezogen werden konnten. Für die KI-Experimente erstellten wir Tissue Microarrays (TMA) aus formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebelblöcken. Diese TMAs wurden anschließend mit einer Reihe von immunohistochemischen Markern gefärbt, darunter CD3, CD4, CD8, CD20 und CD68, um verschiedene Immunzellsubtypen zu identifizieren. Nach der Färbung wurden die TMAs mit einem Objektträgerscanner digitalisiert. Mithilfe der QuPath-Software [16] wurden die digitalisierten TMAs automatisiert segmentiert und in Bildkacheln von 512×512 Pixel exportiert. Im Anschluss daran wurden die Daten präprozessiert, einschließlich einer Normalisierung der Färbungsintensität und einer Augmentation, um die Datenvariabilität zu erhöhen. Das MSDLM wurde in der Programmiersprache Python implementiert und basierte auf dem Pathomic-Fusion-Ansatz von Chen et al. [17, 18]. Ein wichtiger Teil unserer Studie war der Vergleich des MSDLM mit dem etablierten Immunoscore. Hierzu verwendeten wir 3 verschiedene Methoden, den IS zu berechnen. Diese basierten auf der durchschnittlichen Zelldichte von CD3-positiven

und CD8-positiven T-Zellen pro mm² Tumorgewebe – je nach Methode wurden unterschiedliche Grenzwerte verwendet, um verschiedene Scoringssysteme zu definieren und einen umfassenden Vergleich mit unserem KI-basierten Almmunoscore (AIS) zu ermöglichen.

Ergebnisse

Um die Vorhersagekraft unseres KI-Modells zu überprüfen, wendeten wir es auf die Mainzer Testkohorte an, welche zuvor nicht für Training und Validierung des MSDLM verwendet worden war. Hierzu benutzten wir die Modelle der 11-Fold-Cross-Validation, um den dreistufigen AIS zu ermitteln. Eine einheitliche Vorhersage von „Rezidivfreiheit“ („no relapse“) aller 11 Modelle führte hierbei zur Einstufung als „AIS-high“, also einem hohen Almmunoscore. Waren sich alle Modelle einig, dass ein „Rezidiv“ zu erwarten ist, bezeichneten wir dies als „AIS-low“. In allen anderen Fällen uneinheitlicher Einordnung durch die Modelle wurde ein intermediärer AIS „AIS-im“ vergeben. Ein Konsens der Modelle wurde in 141 Fällen erreicht (70 AIS-high und 71 AIS-low), während die restlichen 198 Fälle der Testkohorte als AIS-im eingeordnet wurden. Hierbei korrelierte der AIS statistisch signifikant mit dem tatsächlichen Rezidivstatus. In den Überlebensanalysen zeigte sich im Log-Rang-Test ein signifikanter Unterschied des Überlebens aller konventioneller Immunoscorevarianten IS-2 ($P=0,0156$), IS-3 ($P\leq 0,0001$) und IS-Best ($P\leq 0,0001$). Jedoch zeigte der AIS ($P\leq 0,0001$) im Vergleich hierzu die ausgeprägtesten Unterschiede hinsichtlich des rezidivfreien Überlebens (RFS) mit einem medianen RFS von 1,42 Jahren (17 Monate) für AIS-low und 6,92 Jahren (83 Monate) für die AIS-im-Gruppe. Die Mehrheit der Patient*innen der AIS-high-Gruppe überlebte für den Beobachtungszeitraum so lange rezidivfrei, dass das mediane Überleben gar nicht erst erreicht wurde. Hierbei ergab sich eine Hazard Ratio von 6,24 (95%-Konfidenzintervall: 3,78–10,3) beim Vergleich der AIS-low- vs. AIS-high-Gruppen. Des Weiteren untersuchten wir, wie der AIS im Vergleich mit anderen etablierten und behandlungsrelevanten prognostischen Parametern

abschneiden würde. Hierzu wendeten wir eine Cox-Regressionsanalyse an unter Einschluss aller Hauptparameter wie dem UICC-Stadium, dem R-Status, VELIPI (venöse Embolie – Lymphangioinvasion – Perineuralscheideninfiltration), histopathologisches Grading, *BRAF*-Mutationsstatus und MMR-Status. Nach univariater Cox-Regression waren das UICC-Stadium, der R-Status, VELIPI, IS-2, IS-3, IS-Best sowie der AIS statistisch signifikante Prognosemarker, wobei ein hoher AIS oder höherer R-Status das niedrigste bzw. höchste Hazard Ratio von 0,36 (95%-CI: 0,27–0,48; $P\leq 0,001$) bzw. 2,77 (95%-CI: 2,08–3,18; $P\leq 0,001$) zeigten. Diese und weitere Analysen (für welche wir auf die Originalpublikation verweisen [13]) belegen, dass der AIS nicht nur den hier untersuchten bisherigen Immunoscorevarianten, sondern auch bzgl. den in der klinischen Entscheidungsfindung bei KRK-Therapien bislang etablierten prognostischen Faktoren überlegen ist (■ **Abb. 2**).

Um zu analysieren, auf welchen Bildeigenschaften das MSDLM seine Entscheidung basierte, verwendeten wir Erklärbarkeitsansätze für unser KI-Modell („explainable AI“ oder xIA). So implementierten wir sog. Grad-CAMs („[guided] gradient-weighted class activation maps“) zur Identifizierung besonders relevanter Bildareale in Form von farbskalierten Wärmekarten/Heatmaps. Diese bestätigten, dass die Überlebensvorhersage in der Tat vorrangig mit bekannten Prinzipien der Antitumorimmunantwort korrelierte. So konnte z. B. eine eher günstige prognostische Rolle von CD8-positiven zytotoxischen T-Zellen gefunden werden, wohingegen die Heatmaps auf eine eher ungünstige prognostische Rolle von tumorinfiltrierenden Makrophagen hinwiesen.

Basierend auf der Erkenntnis, dass der IS neben seiner prognostischen Rolle auch prädiktiven Wert bzgl. der Vorhersage des Ansprechens auf eine neoadjuvante Therapie beim Rektumkarzinom aufweist [19], trainierten wir ein weiteres MSDLM auf die Therapieantwort von 117 neoadjuvant therapierten Rektumkarzinompatient*innen. Hierbei konnte in der 11fachen Kreuzvalidierung eine durchschnittliche Genauigkeit der Vorhersage des Therapieansprechens von 73,5% mit einem positiven prädiktiven

Wert (für ein Therapieansprechen) von 67,9% und einem negativen prädiktiven Wert (für ein Nichtansprechen) von 78,1% erzielt werden. Das auf multiplen Immunhistochemie(IHC)-Färbungen basierende MSDLM zeigte eine signifikant bessere Genauigkeit der Vorhersage im Vergleich zu auf Einzelfärbungen basierenden Modellen. Diese Daten müssen allerdings noch an externen Kohorten bestätigt werden.

Schlussfolgerungen

Obgleich sich das TIME als sowohl prognostisch als auch prädiktiv relevant im kolorektalen Karzinom erwiesen hat, fehlt bisher eine flächendeckende Implementierung einer Quantifizierung in der Routinediagnostik. Einfache Ansätze, die sich nur auf Einzelaspekte, wie z. B. das PD-L1-Scoring, beschränken, werden der Komplexität der zellulären Immunlandschaft des Tumors wahrscheinlich nicht gerecht. Zudem können bisherige statistische Scoringssysteme die Zusammenhänge zwischen verschiedenen Markern möglicherweise nicht vollständig erfassen. Einige Studien haben bereits KI zur Analyse der Tumorummunität eingesetzt, jedoch wurden viele Aspekte nicht ausführlich untersucht. Zum Beispiel konzentrierte sich die Arbeit von Saltz et al. auf Muster tumorinfiltrierender Lymphozyten und stützte sich dabei überwiegend auf räumlich nichtaufgelöste Sequenzierungsdaten [20]. Reichling et al. verwendeten featurebasierte Analysen und setzten keinen umfassenden Deep-Learning-Ansatz ein, was möglicherweise zu niedrigeren Genauigkeitswerten führte [21].

Um diese Limitationen zu überwinden, entwickelten wir das MSDLM und eine entsprechende KI-Pipeline. Wir nutzten IHC-Bilddaten verschiedener Immunzellsubtypen und trainierten unsere Deep-Learning-Architektur auf die Prognosevorhersage und das Ansprechen auf eine neoadjuvante Therapie. Hieraus entstand ein leistungsstarkes KI-Modell, welches wir dann an einer externen Testkohorte evaluierten. Unsere Ergebnisse zeigten, dass unser MSDLM, welches auf Daten mehrerer Immunzellsubtypen basierte, im Vergleich zu Modellen, die nur an einzelnen Färbungen trainiert wurden, überlegen war. Ermittelten wir aus mehreren MSDLM den AIS

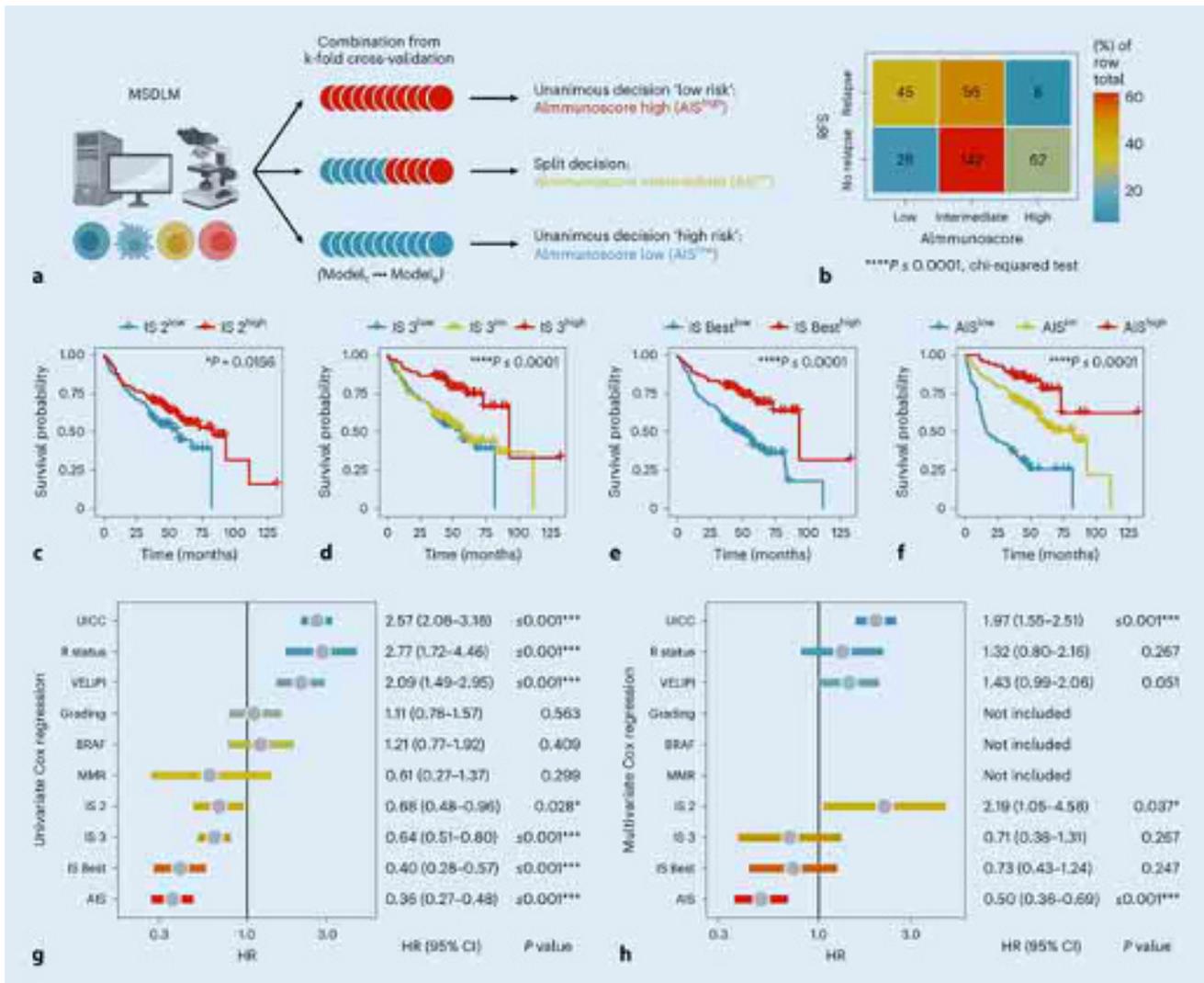


Abb. 2 **a** Bestimmung des Immunoscors (AIS) basierend auf dem Multistain-Deep-Learning-Modell (MSDLM). **b** Kreuztabelle der AIS-Vorhersage der Rezidivfreiheit. **c-e** Kaplan-Meier-Kurven verschiedener Arten der Bestimmung des Immunoscors (IS). **f** Kaplan-Meier-Kurve des AIS. **g** Univariate Cox-Regression. **h** Multivariate Cox-Regression. (Einzelne Diagramme wurden mit BioRender.com erstellt. Abbildung entnommen von Foersch et al. [13])

übertraf dieser andere klinisch relevante Parameter und war einer der stärksten unabhängigen Prognosefaktoren. Durch den Einsatz von Erklärbarkeitsansätzen konnten wir den Beitrag jedes Immunzellsubtyps zur Überlebensvorhersage identifizieren. CD8-positive T-Zellen und CD20-positive B-Zellen waren stark mit Rezidivfreiheit assoziiert, während Monozyten/Makrophagen eher mit Tumorprogression in Verbindung gebracht wurden. Dies entspricht unserem aktuellen Verständnis der Rollen dieser Zellen in der Antitumorimmunantwort. Es gibt jedoch auch Einschränkungen unseres Ansatzes. Obwohl wir unser Modell validiert und getestet haben, sind unsere Ergebnisse immer noch

ein erster Proof of Concept. Weitere prospektive, multizentrische Studien sind erforderlich, um unsere Ergebnisse zu bestätigen. Dann könnte unser Ansatz eine wertvolle Ergänzung oder Alternative zu kommerziellen Tools zur Charakterisierung des TIME beim kolorektalen Karzinom bieten. Die von uns verwendeten IHC-Färbungen sind kosteneffizient und weit verbreitet, und unser Algorithmus könnte leicht in bestehende digitale Pathologieworkflows integriert werden.

Fazit für die Praxis

- Die Tumorummunmikroumgebung hat in den letzten Jahren im Kontext des kolo-

rektalen Karzinoms (KRK) an Bedeutung gewonnen. Trotz des prognostischen Potenzials immunzellbasierter Scores haben sich diese noch nicht umfassend durchgesetzt.

- Unsere Studie hat die prognostische und prädiktive Vorhersagekraft eines Multistain-Deep-Learning-Modells evaluiert, das an Kombinationen von immunzellbezogenen Immunhistochemie(IHC)-Färbungen (CD4, CD8, CD68, CD20) trainiert wurde. Dieses Modell wurde sowohl für die Vorhersage des Überlebens von KRK-Patient*innen als auch für die Vorhersage der Tumorregression bei neoadjuvanter Therapie des Rektumkarzinoms eingesetzt.
- Insgesamt bietet unser Ansatz eine potenzielle Ergänzung oder Alternative zu bestehenden kommerziellen Tools zur

Charakterisierung der Tumorummunumkroumgebung im KRK. Die von uns eingesetzten IHC-Färbungen sind kosteneffizient und weit verbreitet. Unser Algorithmus ist so konzipiert, dass er in digitale Pathologieworkflows integriert werden kann. Dies könnte die personalisierte Behandlung von KRK-Patientinnen weiter vorantreiben.

Korrespondenzadresse

Dr. Sebastian Foersch

Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Mainz
Langenbeckstr. 1, Mainz, Deutschland
sebastian.foersch@unimedizin-mainz.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. S. Schulz, M. Jesinghaus und S. Foersch geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diese Zusammenfassung wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

- Morgan E, Arnold M, Gini A, Lorenzoni V, Cabasag CJ, Laversanne M et al (2023) Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Gut* 72(2):338–344
- Jesinghaus M, Schmitt M, Lang C, Reiser M, Scheiter A, Konukiewicz B et al (2021) Morphology matters: a critical reappraisal of the clinical relevance of morphologic criteria from the 2019 WHO classification in a large colorectal cancer cohort comprising 1004 cases. *Am J Surg Pathol* 45(7):969–978
- Marzouk O, Schofield J (2011) Review of histopathological and molecular prognostic features in colorectal cancer. *Cancers (Basel)* 3(2):2767–2810
- Quaas A (2023) Prognostische histologische Marker bei kolorektalen Karzinomen. *Die Pathol* 44(5):287–293
- Berntsson J, Nodin B, Eberhard J, Micke P, Jirstrom K (2016) Prognostic impact of tumour-infiltrating B cells and plasma cells in colorectal cancer. *Int J Cancer* 139(5):1129–1139
- Safaei Ardekani G, Jafarnejad SM, Tan L, Saeedi A, Li G (2012) The prognostic value of BRAF mutation in colorectal cancer and melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Plos One* 7(10):e47054
- Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pages C et al (2006) Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 313(5795):1960–1964
- Bindea G, Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Waldner M, Obenauf AC et al (2013) Spatiotemporal

Multistain deep learning as a prognostic and predictive biomarker in colorectal cancer

The tumor immune microenvironment (TIME) plays a crucial prognostic and predictive role in solid malignancies such as colorectal cancer (CRC). Nevertheless, scoring systems based on TIME such as the Immunoscore (IS) are rarely used in clinical practice. Among other reasons, this might be due to the additional time required for manual quantification of tumor-associated immune cells or costs associated with proprietary/commercial solutions. To address these issues, we developed a multistain deep learning model (MSDLM) and trained, validated, and tested it on immunohistochemical image data of different immune cell subtypes from over 1000 patients with CRC. Our model showed high prognostic accuracy and outperformed other clinical, molecular, and immune cell-based parameters. It might also be used for therapy response prediction in rectal cancer patients undergoing neoadjuvant therapy. Leveraging artificial intelligence interpretability/explainability methods, we ascertained that the MSDLM's predictions align with recognized antitumor immune response patterns. Consequently, the Almmunoscore (AIS) could emerge as a potential TIME-based decision-making tool for clinicians.

Keywords

Pathology · Artificial intelligence · Machine learning · Colorectal cancer · Tumor immunology

- dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer. *Immunity* 39(4):782–795
- Pages F, Mlecnik B, Marliot F, Bindea G, Ou FS, Bifulco C et al (2018) International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet* 391(10135):2128–2139
 - Mlecnik B, Torigoe T, Bindea G, Popivanova B, Xu M, Fujita T et al (2022) Clinical performance of the consensus Immunoscore in colon cancer in the asian population from the multicenter international SITC study. *Cancers (Basel)* 14(18)
 - Zhang X, Yang J, Du L, Zhou Y, Li K (2020) The prognostic value of Immunoscore in patients with cancer: a pooled analysis of 10,328 patients. *Int J Biol Markers* 35(3):3–13
 - Sorrentino C, D'Antonio L, Fieni C, Ciummo SL, Di Carlo E (2021) Colorectal cancer-associated immune exhaustion involves T and B lymphocytes and conventional NK cells and correlates with a shorter overall survival. *Front Immunol* 12:778329
 - Foersch S, Glasner C, Woerl AC, Eckstein M, Wagner DC, Schulz S et al (2023) Multistain deep learning for prediction of prognosis and therapy response in colorectal cancer. *Nat Med* 29(2):430–439
 - Foersch S, Eckstein M, Wagner DC, Gach F, Woerl AC, Geiger J et al (2021) Deep learning for diagnosis and survival prediction in soft tissue sarcoma. *Ann Oncol* 32(9):1178–1187
 - Woerl AC, Eckstein M, Geiger J, Wagner DC, Daher T, Stenzel P et al (2020) Deep learning predicts molecular subtype of muscle-invasive bladder cancer from conventional histopathological slides. *Eur Urol* 78(2):256–264
 - Bankhead P, Loughrey MB, Fernandez JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD et al (2017) Qupath: open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep* 7(1):16878
 - Chen RJ, Lu MY, Wang J, Williamson DFK, Rodig SJ, Lindeman NI et al (2022) Pathomic fusion: an integrated framework for fusing histopathology and genomic features for cancer diagnosis and prognosis. *IEEE Trans Med Imaging* 41(4):757–770

- Chen RJ, Lu MY, Williamson DFK, Chen TY, Lipkova J, Noor Z et al (2022) Pan-cancer integrative histology-genomic analysis via multimodal deep learning. *Cancer Cell* 40(8):865–78 e6
- ElSissy C, Kirilovsky A, Van den Eynde M, Musina AM, Anitei MG, Romero A et al (2020) A diagnostic biopsy-adapted Immunoscore predicts response to neoadjuvant treatment and selects patients with rectal cancer eligible for a watch-and-wait strategy. *Clin Cancer Res* 26(19):5198–5207
- Saltz J, Gupta R, Hou L, Kurc T, Singh P, Nguyen V et al (2018) Spatial organization and molecular correlation of tumor-infiltrating lymphocytes using deep learning on pathology images. *Cell Rep* 23(1):181–93 e7
- Reichling C, Taieb J, Derangere V, Klopfenstein Q, Le Malicot K, Gornet JM et al (2020) Artificial intelligence-guided tissue analysis combined with immune infiltrate assessment predicts stage III colon cancer outcomes in PETACC08 study. *Gut* 69(4):681–690

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S109–S112
 https://doi.org/10.1007/s00292-023-01282-6
 Angenommen: 30. Oktober 2023
 Online publiziert: 4. Dezember 2023
 © The Author(s), under exclusive licence to
 Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
 Springer Nature 2023

Somatische Malignitäten des Hodens

Analysen zur Charakterisierung der Mutationslast, der DNS-Methylierung und des Proteoms

F. Bremmer

Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Göttingen, Göttingen, Deutschland

Die Keimzelltumoren des Hodens sind die häufigste Tumorerkrankung des jungen Mannes und werden in die Gruppen der Seminome und Nichtseminome unterteilt [4, 15]. Alle postpubertalen Keimzelltumoren entstehen aus einer gemeinsamen Vorläuferläsion, der Keimzellneoplasie in situ („germ cell neoplasia in situ“, GCNIS). Nichtseminome entstehen dabei aus der Reprogrammierung der GCNIS in ein pluripoten-

tes embryonales Karzinom (■ Abb. 1A). Dieses embryonale Karzinom kann sich dann weiter in Gewebe aller 3 Keimblätter, ein Teratom, oder aber in extraembryonales Gewebe, einen Dottersacktumor (DST) oder Chorionkarzinom, differenzieren ([4, 14, 15]; ■ Abb. 1B).

In seltenen Fällen kann ein Teratom eine sog. somatische Malignität („somatic type malignancy“, STM) ausbilden. Ein Te-

Ausführliche Informationen

Bremmer F, Pongratanakul P, Skowron M, Che Y, Richter A, Küffer S, Reuter-Jessen K, Bohnenberger H, Pauls S, Kresbach C, Schüller U, Stühler K, Ströbel P, Albers P, Nettersheim D (2023) *Characterizing the mutational burden, DNA methylation landscape, and proteome of germ cell tumor-related somatic-type malignancies to identify the tissue-of-origin, mechanisms of therapy resistance, and druggable targets.* Br J Cancer



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

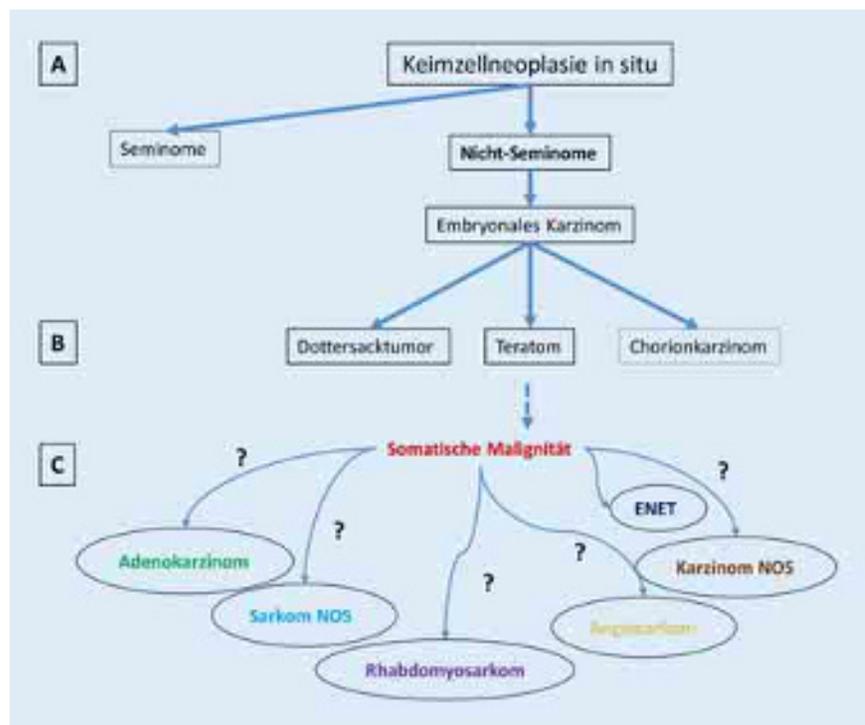


Abb. 1 ▲ Aktuelles Konzept der Keimzelltumorentwicklung und Differenzierungswege der Keimzelltumorentitäten: Aus einer Keimzellneoplasie in situ entstehen Seminome und Nicht-Seminome (A). Aus einem pluripotenten embryonalem Karzinom können sich verschiedene Subtypen der Nicht-Seminome entwickeln (B). Die Mechanismen wie sich eine somatische Malignität aus einem Teratom entwickelt sind noch nicht vollständig verstanden (C)

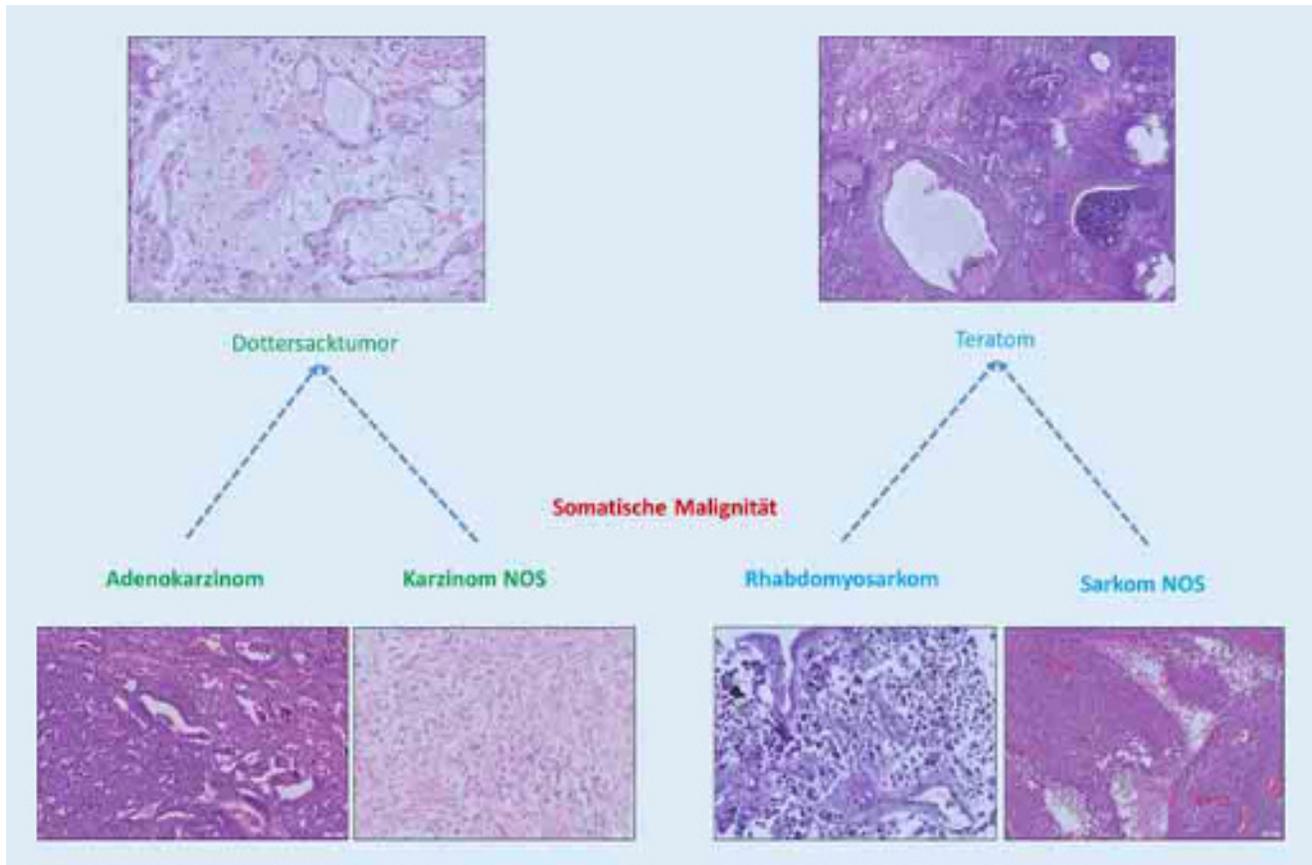


Abb. 2 ▲ Zusammenfassung der Differenzierungswege somatischer Malignitäten des Hodens

ratom (TER) mit Ausbildung einer STM ist ein Teratom, das eine bestimmte Komponente entwickelt, die morphologisch einem Tumor (z. B. Sarkom, Karzinom) ähnelt, wie er in anderen Organen und Geweben auftritt [1, 3, 5, 16]. Diese STM umfassen eine Vielzahl von Tumoren, darunter Rhabdomyosarkome, Adenokarzinome und neuroektodermale Tumoren des embryonalen Typs (ENET). STM können zu jedem Zeitpunkt auftreten, sind aber hauptsächlich in Metastasen nach Chemotherapie zu finden [8]. Es ist äußerst wichtig, dass somatische Malignitäten von anderen Keimzelltumoren unterschieden werden, da ihr Vorhandensein die Prognose und das Gesamtüberleben dramatisch beeinflusst. Das Rhabdomyosarkom ist das am häufigsten diagnostizierte Sarkom bei Resektionen nach Chemotherapie [7, 9, 10, 13] und macht mehr als die Hälfte aller Sarkome aus [7, 10]. Im Falle einer Metastase oder eines Rezidivs ist das Mortalitätsrisiko deutlich erhöht [7, 13], da Patienten mit einer somatischen Malignität auf die Platin-basierte Chemotherapie, die bei kon-

ventionellen Keimzelltumoren eingesetzt wird, schlecht oder nicht mehr ansprechen [5, 13].

Die molekularen Mechanismen, die zur Entstehung einer somatischen Malignität führen, sind noch nicht vollständig verstanden (Abb. 1C). Da es immer noch an spezifischen Behandlungsmöglichkeiten für diese Tumoren mangelt, sind weitere Untersuchungen erforderlich, um die Pathogenese von STM zu verstehen und potenzielle therapeutische Zielstrukturen zu finden. Dazu wurden Mutations-, Methylierungs- und Proteomanalysen durchgeführt. Die Ergebnisse der Studie haben wir im Journal *British Journal of Cancer* publiziert [2]. Die folgenden Abschnitte sind eine Zusammenfassung dieser Arbeit.

Untersucht wurden die molekularen und (epi-)genetischen Merkmale einer Kohorte von STM, bestehend aus 13 Adenokarzinomen, 7 Rhabdomyosarkomen, 4 Karzinomen nicht weiter spezifiziert („not otherwise specified“, NOS), 2 Angiosarkomen, 2 Sarkomen NOS, und 2 ENET (insgesamt $n = 30$). Wir haben 10 TER und

5 DST ohne STM als Kontrollen miteinbezogen. Die detaillierten klinischen Daten lagen von 21 STM-Patienten vor. Das Alter lag zwischen 20 und 68 Jahren (Mittelwert 34 Jahre). Die Mehrheit der Patienten (20/21; 95%), die eine STM entwickelten, zeigten Metastasen: 5% im klinischen Stadium I (1), 28% im klinischen Stadium II (6) und 67% im klinischen Stadium III (14).

Die STM manifestierte sich hauptsächlich an retroperitonealen Lymphknoten und retrokrural. Morphologisch zeigten die STM-Tumoren große Ähnlichkeiten zu den Pendants außerhalb eines Keimzelltumors. In den ausführlichen immunhistochemischen Analysen wiesen die STM ein nahezu identisches Markerprofil zu den Tumoren in anderen Organen auf. Eine Besonderheit zeigte das Protein SALL-4, das (als sehr spezifischer Keimzelltumormarker) in einem Großteil der STM negativ oder allenfalls schwach positiv war. Diagnostisch von großer Bedeutung war die Analyse zum Nachweis eines Isochromosoms 12p (i12p; durchgeführt nach der zuvor beschriebenen Methode [6]). Ein

i12p war in allen STM nachweisbar. Somit lässt sich festhalten, dass bei Verdacht auf das Vorliegen einer STM die Analyse zum Nachweis eines i12p indiziert ist.

Durch TSO-Analysen, durchgeführt mit dem Illumina TruSight Oncology 500 (Illumina, San Diego, CA, USA), haben wir die Mutationslast der STM-Proben analysiert. Wie für einen Keimzelltumor zu erwarten, waren die Tumormutationslast („tumor mutational burden“, TMB; durchschnittlich 2,75 Mutationen/Megabase) und der Mikrosatelliteninstabilitäts(MSI)-Score (durchschnittlich 2,45% instabile Stellen) in allen STM recht niedrig. Es wurde keine Korrelation zwischen TMB- und MSI-Score gefunden. Bei Adenokarzinomen waren die Gene *ASXL2* und *TP53* häufig alteriert. Bei Karzinomen NOS gehörten zu den häufigen mutierten Genen *FGF23*, *FGF6*, *GEN1*, *KRAS*, *MST1*, *PTPRD* und *TP53*. Unter den Rhabdomyosarkomen wurden Veränderungen im *FGFR1*-, *KRAS*- und *MYC*-Gen festgestellt. Nimmt man alle STM-Proben zusammen, waren *FGF6*, *KRAS* und *TP53* in mindestens 70% der Proben mutiert, während zusätzlich *FGF23*, *FGFR1*, *FGFR4*, *MST1* und *MYC* in mindestens 50% mutiert waren.

Mittels massenspektrometrischer Analysen (LC-MS) analysierten wir das Proteom von STM-Adenokarzinomen ($n=7$), Karzinomen NOS ($n=5$), Angiosarkomen ($n=5$), ENET ($n=2$), Rhabdomyosarkomen ($n=11$), Sarkomen NOS ($n=3$), YST ($n=9$) und TER ($n=20$) dienten als Kontrollen. Alle Proben zeigten eine vergleichbare Häufigkeit nachgewiesener Proteine (insgesamt 3025). Wie anfangs beschrieben, wird angenommen, dass sowohl TER als auch YST der Ursprung von STM sind [1, 5, 9, 11, 12, 16, 17]. Um diese Frage zu beantworten, verglichen wir STM mit YST- und TER-Stichproben durch hierarchisches Clustering und in einer Pearson-Korrelationsma-

trix. Hier gruppieren sich Adenokarzinome und Karzinome NOS (karzinombedingte Entitäten) zu YST, während Rhabdomyosarkome, Sarkome und Angiosarkome (sarkombedingte Entitäten) zu TER gruppieren. ENET-Fälle unterschieden sich erheblich von den anderen Entitäten, ähnelten jedoch eher YST als TER.

Um Unterschiede in der DNA-Methylierung (5mC) zu analysieren, haben wir Illumina 850k DNA-Methylierungs-Arrays durchgeführt. Wir schlossen die beiden häufigsten STM-Subtypen ein, d.h. Adenokarzinome ($n=5$) und Rhabdomyosarkom ($n=5$), während YST ($n=5$) und TER ($n=5$) als Kontrollen dienten. Auf globaler Ebene zeigten TER und Rhabdomyosarkome im Vergleich zu YST und Adenokarzinomen eine höhere Menge an hypermethylierten (>80%) Stellen, während YST und Adenokarzinome einen höheren Anteil an CpG-Dinukleotiden mit mittleren (20–80%) 5mC-Werten aufwiesen. Die durchschnittlichen 5mC-Werte waren bei TER und Rhabdomyosarkomen ähnlich (49,4 und 48,4%), gefolgt von YST und Adenokarzinomen mit etwas niedrigeren Werten (44,7 und 44,4%). Durch die Durchführung einer hierarchischen Clusterbildung und eines PCM haben wir gezeigt, dass YST und Adenokarzinome zueinander gruppiert sind, während TER zu Rhabdomyosarkomen gruppiert ist.

Zusammenfassung und Ausblick

Wir zeigen in unserer Studie die molekularen und (epi-)genetischen Merkmale von STM in einer einzigartigen Patientenkohorte und liefern umfassende Mutations-, Proteom- und DNS-Methylierungsdaten als Ausgangspunkt für zukünftige Studien. Zum ersten Mal zeigen wir, dass auf molekularer Ebene Karzinom-STM eher Dottersacktumoren ähneln, während Sar-

kom-STM Teratomen ähneln (Abb. 2). Darüber hinaus haben wir häufige Mutationen sowie molekulare und epigenetische Mechanismen identifiziert, die zur Therapieresistenz von STM beitragen. Schließlich haben wir neue STM-Biomarker und Therapieoptionen zur Behandlung von STM-Patienten identifiziert, die in klinische Tests umgesetzt werden sollten.

Korrespondenzadresse



© Felix Bremmer

PD Dr. F. Bremmer

Institut für Pathologie, Universitätsmedizin
Göttingen
Robert-Koch-Str. 40, 37075 Göttingen,
Deutschland
felix.bremmer@med.uni-goettingen.de

Danksagung. Prof. Dr. D. Nettersheim mit Team und Prof. Dr. P. Ströbel für die stetige Unterstützung. Olga Dschun für die Durchführung der Untersuchungen.

Förderung. Ein großer Dank an die Wilhelm Sander-Stiftung für die finanzielle Förderung des Projektes (2016.041.1/2/3).

**Dr. K. Hollborn
& Söhne GmbH & Co KG**



Seit 1880

Brahestraße 13 • 04347 Leipzig
Tel.: 0341 / 2 33 44 05 Fax. 2 33 44 06
Internet: <http://www.hollborn.de>
E-mail: Medizinchemie@hollborn.de

Reagenz- und Farbstofflösungen

• für die Mikroskopie und Zelldiagnostik • für naturwissenschaftliche Bereiche

Auch Sonderanfertigungen

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. F. Bremmer gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. Ahmed T, Bosl GJ, Hajdu SI (1985) Teratoma with malignant transformation in germ cell tumors in men. *Cancer* 56:860–863
2. Bremmer F, Pongratanakul P, Skowron M et al (2023) Characterizing the mutational burden, DNA methylation landscape, and proteome of germ cell tumor-related somatic-type malignancies to identify the tissue-of-origin, mechanisms of therapy resistance, and druggable targets. *Br J Cancer*
3. Carver BS, Shayegan B, Serio A et al (2007) Long-term clinical outcome after postchemotherapy retroperitoneal lymph node dissection in men with residual teratoma. *J Clin Oncol* 25:1033–1037
4. Cheng L, Albers P, Berney DM et al (2018) Testicular cancer. *Nat Rev Dis Primers* 4:29
5. Colecchia M, Necchi A, Paolini B et al (2011) Teratoma with somatic-type malignant components in germ cell tumors of the testis: a clinicopathologic analysis of 40 cases with outcome correlation. *Int J Surg Pathol* 19:321–327
6. Fichtner A, Richter A, Filmar S et al (2021) The detection of isochromosome i(12p) in malignant germ cell tumours and tumours with somatic malignant transformation by the use of quantitative real-time polymerase chain reaction. *Histopathology* 78:593–606
7. Guo CC, Punar M, Contreras AL et al (2009) Testicular germ cell tumors with sarcomatous components: an analysis of 33 cases. *Am J Surg Pathol* 33:1173–1178
8. Little JS Jr., Foster RS, Ulbright TM et al (1994) Unusual neoplasms detected in testis cancer patients undergoing post-chemotherapy retroperitoneal lymphadenectomy. *J Urol* 152:1144–1149
9. Magers MJ, Kao CS, Cole CD et al (2014) “Somatic-type” malignancies arising from testicular germ cell tumors: a clinicopathologic study of 124 cases with emphasis on glandular tumors supporting frequent yolk sac tumor origin. *Am J Surg Pathol* 38:1396–1409
10. Malagon HD, Valdez AM, Moran CA et al (2007) Germ cell tumors with sarcomatous components: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 46 cases. *Am J Surg Pathol* 31:1356–1362
11. Michael H, Ulbright TM, Brodhecker CA (1989) The pluripotential nature of the mesenchyme-like component of yolk sac tumor. *Arch Pathol Lab Med* 113:1115–1119
12. Mikuz G, Colecchia M (2012) Teratoma with somatic-type malignant components of the testis. A review and an update. *Virchows Arch* 461:27–32
13. Motzer RJ, Amsterdam A, Prieto V et al (1998) Teratoma with malignant transformation: diverse malignant histologies arising in men with germ cell tumors. *J Urol* 159:133–138
14. Muller MR, Skowron MA, Albers P et al (2021) Molecular and epigenetic pathogenesis of germ cell tumors. *Asian J Urol* 8:144–154
15. Oosterhuis JW, Looijenga LH (2005) Testicular germ-cell tumours in a broader perspective. *Nat Rev Cancer* 5:210–222
16. Ulbright TM, Loehrer PJ, Roth LM et al (1984) The development of non-germ cell malignancies within germ cell tumors. A clinicopathologic study of 11 cases. *Cancer* 54:1824–1833
17. Ulbright TM, Roth LM (1987) Recent developments in the pathology of germ cell tumors. *Semin Diagn Pathol* 4:304–319

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S113–S120
<https://doi.org/10.1007/s00292-023-01267-5>
Angenommen: 19. Oktober 2023
Online publiziert: 1. Dezember 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Tumor-Immunezell-Interaktion und Seneszenz-assoziierte Moleküle im kolorektalen Karzinom

Franziska Kellers^{1,2}

¹ Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Mainz, Mainz, Deutschland

² Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Kiel, Deutschland

Zusammenfassung

Hintergrund: Ausgelöst durch potenziell protumorigene, zellschädigende Ereignisse stellt zelluläre Seneszenz eine Barriere gegen maligne Entartung dar. Seneszenzinduktion führt zu Veränderungen auf zellulärer Ebene (Chromatinstruktur, Metabolismus, Zellzyklusarrest) und alteriert die Interaktion der seneszenten (Tumor-)Zellen mit ihrer Mikroumgebung. Senescente Zellen modellieren die Tumor-Immuneüberwachung, induzieren aber durch das veränderte Sekretom auch promaligne Prozesse.

Ziel der Arbeit: In dieser Arbeit werden Nachweismethoden und prognostische Implikationen zellulärer Seneszenz im kolorektalen Karzinom (CRC) untersucht und es soll zum Verständnis der Interaktion seneszenten CRC-Zellen mit dem Immunsystem beigetragen werden.

Material und Methoden: Seneszenz-assoziierte Moleküle wurden immunhistochemisch an einem Tissue Microarray (TMA) von $n = 598$ CRC-Patienten untersucht. Eine Korrelation der Expression mit krankheitsspezifischem Überleben (DSS) und progressionsfreiem Überleben (PFS) wurde untersucht. An konsekutiven TMA-Schnitten wurde die räumliche Beziehung p21- und CD8-positiver Zellen untersucht. *In vitro* wurde Seneszenz an CRC-Zelllinien induziert und deren Interaktion in Ko-Kultur mit verschiedenen Immunezelllinien funktionell untersucht.

Ergebnisse: Die Expression Seneszenz-assoziiierter Moleküle und die räumliche Beziehung zwischen p21- und CD8-positiven Zellen korrelieren signifikant mit DSS und PFS. Sowohl die Abwesenheit als auch eine extrem hohe Expression Seneszenz-assoziiierter Moleküle sind mit einer negativen Prognose verknüpft. *In vitro* werden senescente CRC-Zellen dosisabhängig durch Immunezellen über direkten Zell-Zell-Kontakt und Apoptoseinduktion eliminiert.

Diskussion: Als Nachweis einer wichtigen Barrierefunktion gegen maligne Entartung haben Seneszenzmarker signifikante prognostische Relevanz im CRC. Unsere Ergebnisse verdeutlichen darüber hinaus den pleiotropen Effekt zellulärer Seneszenz *in vivo*. Die Auswirkungen zellulärer Seneszenz sind abhängig von der Mikroumgebung und der Immuneüberwachung seneszenten Zellen.

Schlüsselwörter

Zelluläre Seneszenz · Senolyse · Immuneüberwachung · Tumor-Mikroumgebung · Prognostische Biomarker

Die ausführliche Version dieses Artikels, der auch die Abbildungen entstammen, findet sich in der englischen Originalpublikation [18], welche Teil der medizinischen Doktorarbeit von Franziska Kellers (<https://doi.org/10.25358/openscience-9340>) ist: Kellers F, Fernandez A, Konukiewitz B, Schindeldecker M, Tagscherer KE, Heintz A, et al. (2022) *Senescence-Associated Molecules and Tumor-Immune-Interactions as Prognostic Biomarkers in Colorectal Cancer*. *Front Med* 9:865230.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

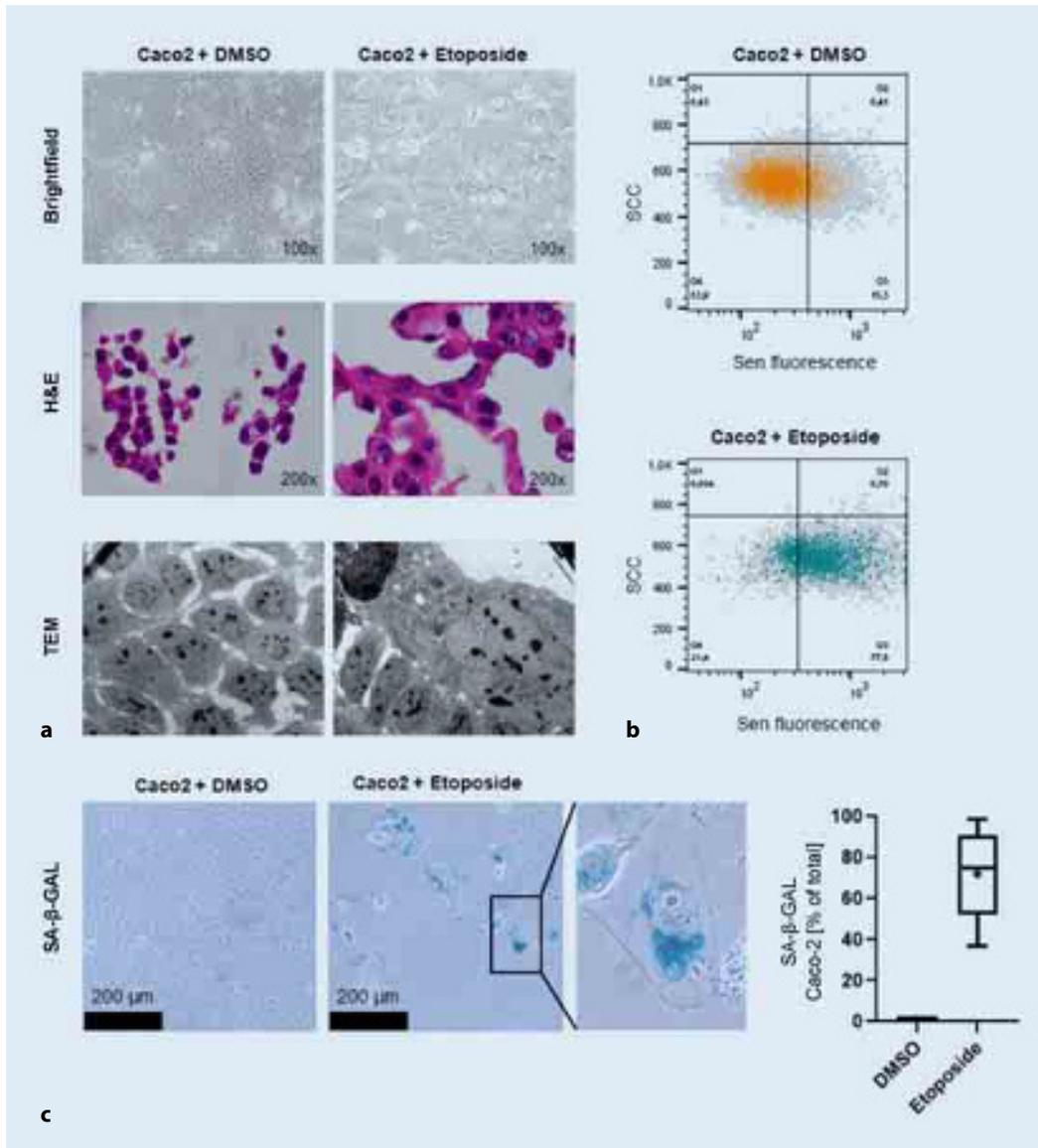


Abb. 1 ◀ Induktion zellulärer Seneszenz *in vitro* durch Behandlung mit 5 μM Etoposid (aus Kellers et al. [18]). **a** Morphologie von Kontrollzellen (DMSO) und Etoposid-behandelten Caco-2-Zellen in Hellfeldmikroskopie (*oben*), H&E-gefärbten Zytoblockschnitten (*Mitte*) und Transmissions-elektronenmikroskopie (TEM, *unten*). Senescente Zellen weisen die charakteristische „Spiegelemorphologie“ mit vergrößerten Zellleibern und Nuklei auf. **b** Gesteigerte Induktion von SA-β-GAL in Etoposid-behandelten Caco-2-Zellen induziert Seneszenzinduktion. **c** Fluorescence-activated-cell-sorting (FACS)-Analyse bestätigt die erfolgte Seneszenzinduktion in Etoposid-behandelten Caco-2-Zellen. (© 2022 Kellers, Fernandez, Konukiewicz, Schindeldecker, Tag-scherer, Heintz, Jesinghaus, Roth and Foersch. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY), <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Zelluläre Seneszenz gilt als zweischneidiges Schwert in der Tumorigenese, da die Initiation dieses irreversiblen Zellzyklusarrests einerseits die Proliferation prä-maligner Zellen verhindert, andererseits auch durch eine Alteration der Mikroumgebung von Tumoren die Tumorphprogression befördern kann. In dieser Studie [18] wurde das prognostische Potenzial von Markern zellulärer Seneszenz sowie die Interaktion seneszenten Zellen mit dem Immunsystem im kolorektalen Karzinom (CRC) *in vitro* und *in vivo* untersucht.

Potenziell onkogene, zellschädigende Ereignisse wie Telomerverkürzung durch repetitive Teilung, Onkogenaktivierung,

Strahlung oder Chemotherapien können zelluläre Seneszenz induzieren [27]. Unter Beteiligung verschiedener Tumorsuppressoren wie p53, p21 und p16 [5, 11, 26] kommt es zu einem irreversiblen Zellzyklusarrest, der weiterer maligner Progression entgegenwirkt [28], sowie zu Veränderungen von Genexpression, Morphologie und Metabolismus. Spezifische Veränderungen des Sekretoms seneszenten Zellen werden als „senescence-associated secretory phenotype“ (SASP) bezeichnet und bewirken eine veränderte Interaktion mit der Mikroumgebung [7]. Senescente Zellen sind so in der Lage, die Immunüberwachung einer (tumorösen) Läsion zu modellieren, indem sie Immunzellen des angeborenen

[14, 17, 29] und adaptiven [16] Immunsystems rekrutieren, welche wiederum senescente (Tumor-)Zellen eliminieren (sog. Clearance) [13]. Es gibt Hinweise, dass SASP und das in der Umgebung seneszenten Zellen entstehende Mikromilieu auch promaligne Effekte auslösen können, da Angiogenese, Proliferation, Dedifferenzierung und Metastasierung begünstigt werden können [7, 8, 10, 15, 22]. Die Ausprägung des SASP und die induzierte Immunantwort sind auch von Zellart und Kontext abhängig [13]. In der kolorektalen Karzinogenese kommt der Inhibierung zellulärer Seneszenz durch Inaktivierung von Tumorsuppressoren, die an deren Aufrechterhaltung beteiligt sind, eine zentrale Rolle zu [4, 9, 20]. Studien le-

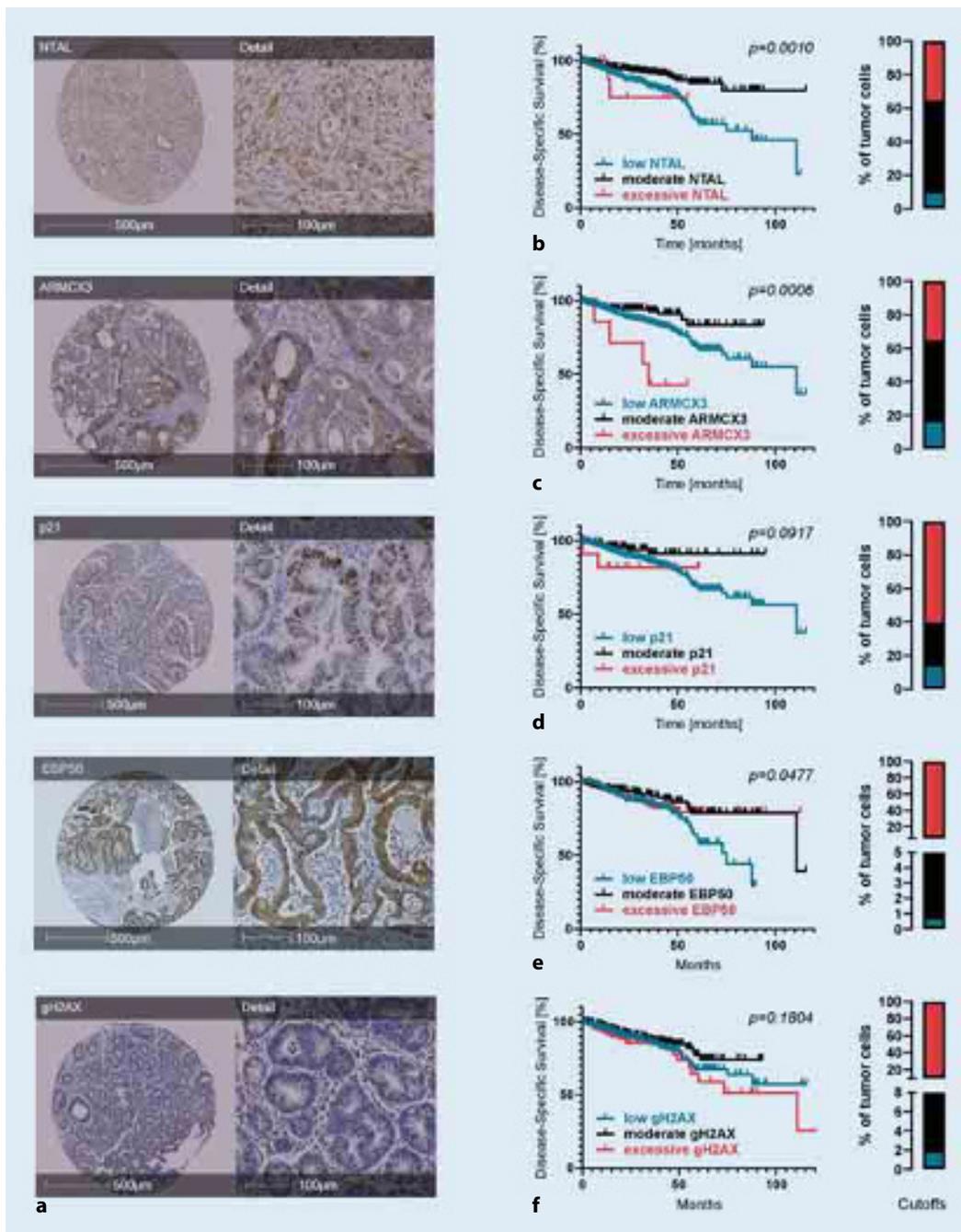


Abb. 2 ◀ Expression Seneszenz-assoziiierter Moleküle im kolorektalen Karzinom (CRC; aus Kellers et al. [18]). **a** Repräsentative, immunohistochemisch gefärbte Tissue-Microarray(TMA)-Cores. **b–f** Kaplan-Meier-Analysen bezogen auf das krankheitsspezifische Überleben (Disease-Specific Survival, DSS) bei einer dreistufigen Kohortenunterteilung: geringe Expression (*petrol*), moderate Expression (*schwarz*) und exzessive Expression (*rot*). **b** NTAL. **c** ARMCX3. **d** p21. **e** EBP50. **f** γ H2AX. Cutoffs (jeweils als Stufendiagramm rechts) wurden mit einer modifizierten Version des Charité Cutoff Finder (s. Budczies et al. [2]) berechnet. (© 2022 Kellers, Fernandez, Konukiewicz, Schindeldecker, Tagscherer, Heintz, Jesinghaus, Roth and Foersch. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY), <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

gen ein prädictives Potenzial von Markern zellulärer Seneszenz nahe [12]. Bislang wurde der klinisch-diagnostische Nutzen aber noch nicht in einem größeren Patientenkollektiv hinreichend untersucht. An formalinfixiertem, paraffineingebettetem (FFPE) Gewebe anwendbare Nachweismethoden sind derzeit weder in der histopathologischen Routinediagnostik noch in der klinisch-onkologischen Forschung etabliert.

Induktion zellulärer Seneszenz *in vitro*

An Zelllinien aus dem CRC (Caco-2) wurde Seneszenz *in vitro* mithilfe niedrig-dosierter Etoposid-Behandlung induziert. Dies wurde durch die lichtmikroskopische und transmissionselektronenmikroskopische Evaluation der Zytologie, den Nachweis von Seneszenz-assoziiierter β -Galactosidase (SA- β -GAL) und eine Fluorescence-activated-cell-sorting(FACS)-Analyse be-

stätigt (▣ Abb. 1). Zytomorphologisch weisen die seneszenten Zellen die typischen Charakteristika nach Seneszenzinduktion auf („fried egg morphology“ mit weitem Zytoplasma und vergrößertem Nukleus).

Expression Seneszenz-assoziiierter Moleküle im CRC

Um die prognostischen Effekte zellulärer Seneszenz *in vivo* im CRC zu untersuchen, haben wir die Expression in anderen Stu-

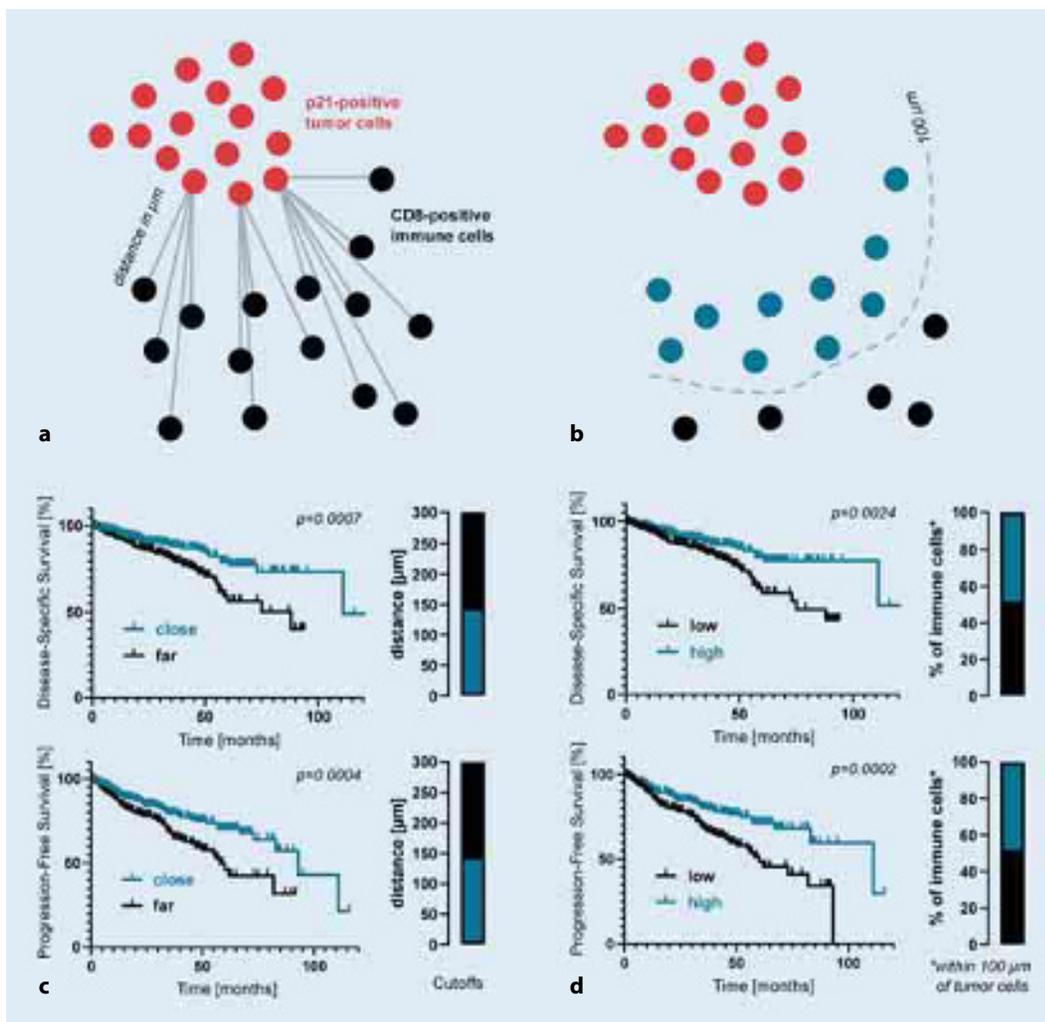


Abb. 3 ◀ Abstandsana-
lysen von Immunzellen
und seneszenten Zellen
im kolorektalen Karzinom
(CRC; aus Kellers et al. [18]).
a Schemazeichnung, wie
Abstand der beiden Zellpo-
pulationen berechnet wurde.
b Schemazeichnung
der Berechnung des Anteils
von Immunzellen in der
Nähe (innerhalb 100 µm)
seneszenten Tumorzellen.
c Kaplan-Meier-Analysen
des mittleren Abstands
CD8- und p21-positiver Zel-
len. **d** Kaplan-Meier-Analysen
bezogen auf den An-
teil CD8-positiver Zellen
innerhalb von 100 µm von
p21-positiven Zellen. Cut-
offs jeweils als Stufendia-
gramm rechts. (© 2022 Kel-
lers, Fernandez, Konukie-
witz, Schindeldecker, Tag-
scherer, Heintz, Jesinghaus,
Roth and Foersch. This is an
open-access article distri-
buted under the terms of
the Creative Commons At-
tribution License (CC BY)
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

dien [1, 19, 27] beschriebener Seneszenz-assoziierter Moleküle an einem Patientenkollektiv von 598 CRC-Patienten mithilfe eines Tissue Microarray (TMA) immunhistochemisch untersucht (Abb. 2a), mithilfe digitaler Bildanalyse (HALO™, Indica Labs, Albuquerque, NM, USA) in annotierten Tumorbereichen ausgewertet und den Anteil positiver Tumorzellen quantifiziert.

Hierbei korrelierte die Expression von NTAL, ARMCX3, p21 und EBP50 signifikant mit dem Überleben der untersuchten Patientenkohorte. Eine hohe Expression von NTAL korrelierte mit einem längeren progressionsfreien Überleben (PFS) und krankheitsspezifischen Überleben (DSS), eine hohe Expression des Tumorsuppressors p21 mit einem gesteigerten PFS. Bei Auswertung der Expression von ARMCX3 und EBP50 zeigte sich interessanterweise, dass eine hohe Expression mit einem geringeren DSS als bei Patien-

ten mit geringerer Expression korrelierte. Daraufhin wendeten wir eine dreistufige Subgruppenunterteilung (hohe, mäßige und niedrige Expression) an. So konnten wir zeigen, dass eine mäßige Expression mit der besten Prognose korrelierte, dagegen war im Vergleich zu mäßiger Expression neben einer niedrigen Expression von NTAL, ARMCX3 und EBP50 auch eine sehr hohe Expression mit einer negativen Prognose verbunden (Abb. 2b–e). Diese Ergebnisse passen zu der beschriebenen dualen Rolle zellulärer Seneszenz [3, 7, 21, 22]. Einerseits verdeutlicht der negative prognostische Effekt bei zu geringer intratumoraler Seneszenz die wichtige Barrierefunktion dieses Mechanismus zur Verhinderung maligner Progression und besonders den protektiven Effekt von p21-vermittelter Seneszenz [5, 23, 25]. Wie in anderen Studien bereits beschrieben [1], können auch wir einen negativen Einfluss

auf das Überleben bei sehr geringer Expression der Seneszenz-assozierten Moleküle nachweisen. Andererseits spiegelt der beobachtete prognostisch ungünstige Effekt bei sehr hoher Seneszenzmarkerexpression auch die pleiotropen Effekte seneszenten Tumorzellen wider. Eine Hypothese zur Erklärung der Korrelation von hoher Seneszenzmarkerexpression mit niedrigem Überleben ist eine Akkumulation seneszenten Zellen in Tumoren mit einer eingeschränkten Immunüberwachung [24]. Ein bei Akkumulation seneszenten Zellen entstehendes proinflammatorisches Mikromilieu und mögliche nachteilige Effekte des SASP können zur negativen prognostischen Auswirkung beitragen [7, 24].

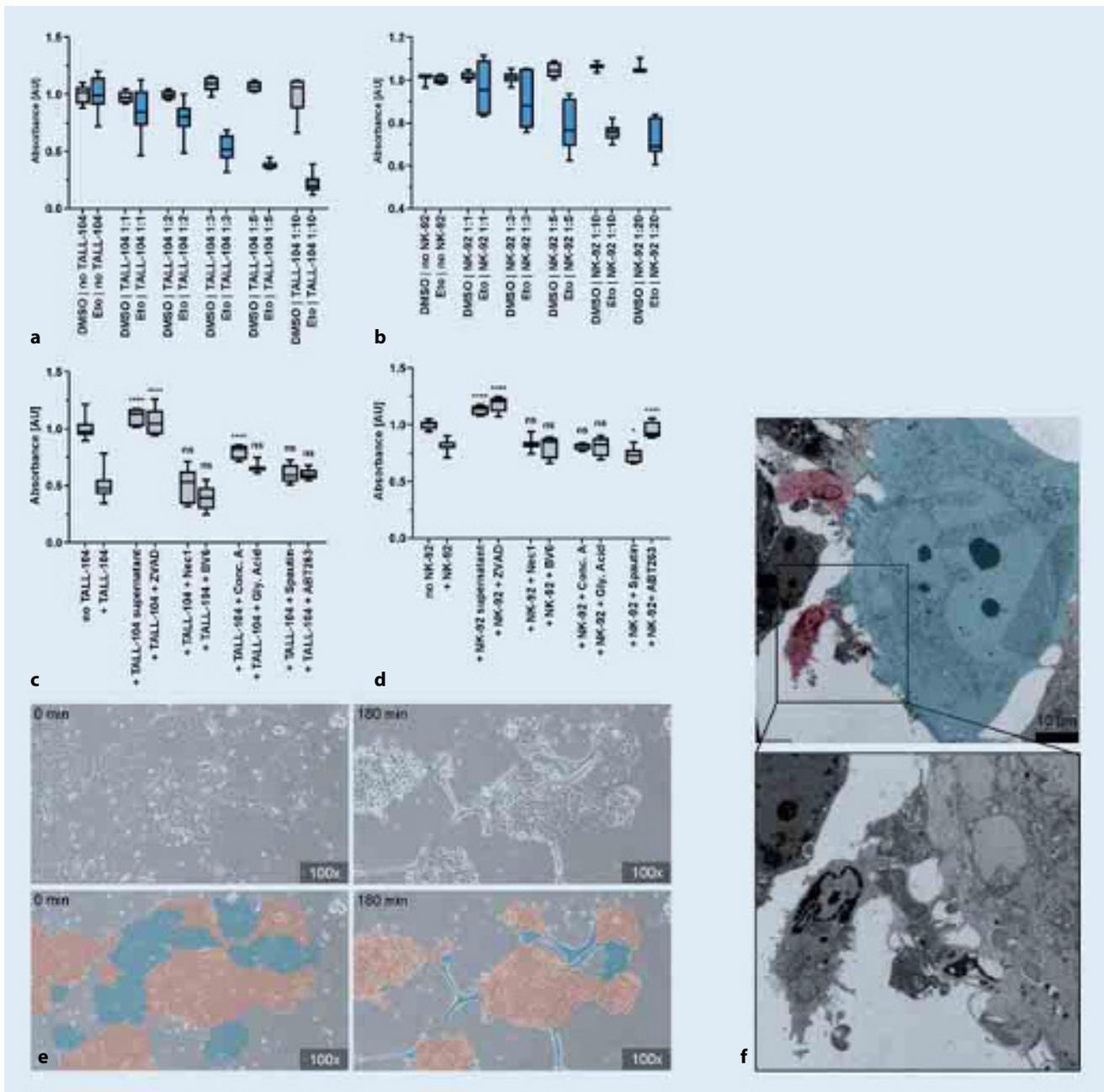


Abb. 4 ▲ Ko-Inkubation von seneszenten Zellen und Immunzellen (aus Kellers et al. [18]). **a, b** CRV-Analysen verbleibender, adhärenter (vitaler) seneszenten Caco-2-Zellen nach Ko-Inkubation mit Immunzellen. Ko-Inkubation mit TALL-104- (**a**) oder NK-92-Immungzellen (**b**) führt zu dosisabhängiger Elimination der seneszenten Zellen. **c, d** Elimination seneszenten Caco-2-Zellen bei Zugabe von konditioniertem Immunzellmedium (supernatant) und unter Zugabe verschiedener Zelltodmodulatoren (CRC). TALL-104 (**c**) und NK-92 (**d**). * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$, **** $p \leq 0,0001$, *ns* nicht signifikant. **e** Live Cell Imaging der Ko-Inkubation von seneszenten Zellen und Immunzellen. Spezifische Elimination seneszenten Zellen (*blau*) durch NK92-Zellen. Auf proliferierende Zellen (*orange*) ist dieser Effekt nicht gleichermaßen zu beobachten. **f** Transmissionselektronenmikroskopie der Ko-Inkubation von seneszenten Zellen und Immunzellen. Zell-Zell-Kontakt von TALL-104-Zellen (*rot*) und seneszenten Caco-2-Zellen (*blau*). © 2022 Kellers, Fernandez, Konukiewitz, Schindeldecker, Tagscherer, Heintz, Jesinghaus, Roth and Foersch. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY) <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Immunüberwachung seneszenten Zellen *in vivo*

Um die prognostischen Implikationen der Immunüberwachung seneszenten Zellen im CRC *in vivo* zu untersuchen, wurde die räumliche Beziehung seneszenten (p21-positiver) Zellen zu CD8-positiven zytotoxischen T-Zellen am TMA des CRC-Patientenkollektivs untersucht. Serielle Schnittstufen des TMAs wurden immunhistochemisch für p21 und CD8 gefärbt und digital (HALOTM, Indica Labs, Albuquerque, NM, USA) ko-registriert, um korrespondierende Gewebeareale auszuwerten und die räumliche Position der verschiedenen Zellpopulationen in Beziehung zueinander zu untersuchen und Abstandsanalysen durchzuführen (■ Abb. 3a, b). Die Ergebnisse wurden hinsichtlich einer Korrelation mit PFS und DSS ausgewertet (■ Abb. 3c, d). Sowohl ein geringerer Abstand zwischen diesen beiden Zellpopulationen (■ Abb. 3a) als auch ein höherer Prozentsatz CD8-positiver Zellen (■ Abb. 3b) innerhalb von 100 µm von p21-positiven Zellen waren mit einem signifikant höheren DSS und PFS verbunden, was auf eine bessere Prognose bei engerer Immunüberwachung von seneszenten Tumorzellen durch CD8-positive Zellen hindeutet. Diese Immunüberwachung wird unter anderem auch durch die Konstitution des SASP beeinflusst. Im CRC wurden sowohl proinflammatorische als auch Immunezellinfiltrationsverhindernde Effekte des SASP beobachtet. Choi et al. haben gezeigt, dass SASP im CRC protumorigen wirken kann, indem eine Infiltration des Tumors durch CD8-positive Zellen durch das Sekretom seneszenten Zellen gehemmt wird [6]. Aufgrund dieser heterogenen Effekte wäre es denkbar, dass die Tumoren mit gesteigerter Immunüberwachung seneszenten Zellen einen prognostisch günstigeren SASP aufweisen, wohingegen hemmende Effekte seneszenten Zellen auf das Immunsystem die Prognose verschlechtern und mit größerem Abstand und geringerem Anteil CD8-positiver Zellen in der Umgebung seneszenten Tumorzellen einhergehen. Weitere Analysen unter Beachtung verschiedener Immunezellpopulationen und weiterer Seneszenzmarker sind notwendig, um ein umfassenderes Verständnis der Interaktion seneszenten Zellen und ihrer Mikroum-

gebung zu erhalten. Eine Modulation des SASP bietet möglicherweise neue therapeutische Ansatzpunkte im CRC.

Spezifische Elimination seneszenten Zellen durch Immunezellen *in vitro*

Um die Interaktion seneszenten Zellen mit Immunezellen näher zu charakterisieren, haben wir seneszenten Caco-2-Zellen mit verschiedenen Immunezelllinien in Ko-Kultur untersucht. Nach Seneszenzinduktion wurden TALL-104-Zellen (mit Eigenschaften von zytotoxischen T-Zellen und NKT-Zellen) sowie NK-92-Zellen (mit Eigenschaften von NK-Zellen) mit seneszenten Caco-2-Zellen sowie proliferierenden Kontrollzellen für 2h ko-inkubiert und vitale verbleibende Zellen lichtmikroskopisch und mittels Kristallviolett-Essays ausgewertet. Für beide Immunezelllinien konnten wir eine dosisabhängige Zytotoxizität nachweisen (■ Abb. 4a, b). Seneszenten Caco-2-Zellen werden im Gegensatz zu proliferierenden Kontrollzellen in Abhängigkeit vom Verhältnis der zugegebenen Immunezellen eliminiert.

Mechanismen Immunezellvermittelter Zytotoxizität *in vitro*

Durch Versuche mit konditionierten Medien, Live Cell Imaging und Transmissionselektronenmikroskopie konnten wir nachweisen, dass diese Clearance seneszenten Zellen *in vitro* durch einen direkten Zell-Zell-Kontakt zwischen Immunezellen und seneszenten Zellen vermittelt wird (■ Abb. 4c–f). Um die spezifische Elimination seneszenten Zellen durch Immunezellen näher funktionell zu charakterisieren, haben wir darauf aufbauend die Ko-Kulturerperimente unter Zugabe von Inhibitoren verschiedener Zelltodmechanismen durchgeführt (■ Abb. 4c, d). So konnten wir zeigen, dass der in seneszenten Zellen induzierte Zelltod durch Inhibition von Apoptose mittels des Pan-Caspase-Inhibitors ZVAD gehemmt werden kann. Bei Versuchen mit TALL-104-Zellen führte weiterhin auch eine Inhibition von granulärer Exozytose zu einer verminderten Zytotoxizität gegenüber seneszenten Caco-2-Zellen. Die Inhibition von Autophagie und Nekroptose-assoziierten Zelltod-Si-

gnalwegen hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Clearance seneszenten Zellen.

Schlussfolgerung

Seneszenz-assoziierte Moleküle korrelieren signifikant mit progressionsfreiem und krankheitsspezifischem Überleben im CRC. Unsere Daten verdeutlichen die Wichtigkeit der Induktion zellulärer Seneszenz als Barriere gegen maligne Progression. Die Ergebnisse zeigen darüber hinaus erstmals den pleiotropen Effekt zellulärer Seneszenz im Kolonkarzinom *in vivo*, der auch abhängig von SASP und der Tumor-Immunüberwachung ist. Erstmals wurde an Zelllinien aus dem CRC die Interaktion seneszenten Zellen mit Immunezellen untersucht und ein spezifischer zytotoxischer Effekt der Immunezellen auf seneszenten Zellen nachgewiesen. Ergebnisse aus Ko-Inkubation, Transmissionselektronenmikroskopie, Live Cell Imaging und Zelltodinhibition zeigen, dass dieser Effekt auf durch direkten Zell-Zell-Kontakt vermittelter Apoptoseinduktion (und teilweise auf durch TALL-104-Zellen vermittelter Induktion granulärer Exozytose) beruht. Die räumliche Beziehung seneszenten Tumorzellen und Immunezellen wird durch den SASP moduliert und hat prognostisches Potenzial im CRC, was durch Analysen der räumlichen Beziehung dieser beiden Zellpopulationen reflektiert wird.

Fazit für die Praxis

- Seneszenz-assoziierte Moleküle haben signifikante prognostische Implikationen im kolorektalen Karzinom (CRC).
- Eine sehr geringe und extrem hohe Expression Seneszenz-assoziiierter Moleküle korreliert mit einer negativen Prognose im CRC.
- *In vitro* haben Ko-Kulturerperimente gezeigt, dass TALL-104-Zellen mit Eigenschaften von zytotoxischen T-Zellen und NKT-Zellen und NK92-Zellen mit Eigenschaften von NK-Zellen in der Lage sind, spezifisch und dosisabhängig seneszenten CRC-Zellen zu eliminieren.
- Diese immunezellvermittelte Senolyse wird vor allem über direkten Zell-Zell-Kontakt und durch Apoptoseinduktion ausgelöst.
- Die Analyse der räumlichen Beziehung seneszenten Zellen und Immunezellen an Gewebeschnitten eröffnet prognostisches Potenzial im CRC.

Korrespondenzadresse



Dr. med. Franziska Kellers

Institut für Pathologie, Universitätsmedizin
Mainz
Mainz, Deutschland
franziska.kellers@uksh.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. F. Kellers gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Die an Patientenmaterial durchgeführten Untersuchungen wurden von der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz geprüft (ref. no. 837.075.16 (10394)). Ein schriftliches Einverständnis der Studienteilnehmer war nicht notwendig.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

- Althubiti M, Lezina L, Carrera S et al (2014) Characterization of novel markers of senescence and their prognostic potential in cancer. *Cell Death Dis* 5:e1528
- Budczies J, Klauschen F, Sinn BV et al (2012) Cutoff finder: a comprehensive and straightforward web application enabling rapid biomarker cutoff optimization. *PLoS One* 7:e51862
- Campisi J, Kim SH, Lim CS et al (2001) Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. *Exp Gerontol* 36:1619–1637
- Carragher LA, Snell KR, Giblett SM et al (2010) V600EBrf induces gastrointestinal crypt senescence and promotes tumour progression through enhanced CpG methylation of p16INK4a. *EMBO Mol Med* 2:458–471
- Chen Z, Trotman LC, Shaffer D et al (2005) Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature* 436:725–730
- Choi YW, Kim YH, Oh SY et al (2021) Senescent tumor cells build a cytokine shield in colorectal cancer. *Adv Sci* 8:2002497
- Coppe JP, Desprez PY, Krtolica A et al (2010) The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol* 5:99–118
- Coppe JP, Kauser K, Campisi J et al (2006) Secretion of vascular endothelial growth factor by primary human fibroblasts at senescence. *J Biol Chem* 281:29568–29574
- Foersch S, Sperka T, Lindner C et al (2015) VEGFR2 signaling prevents colorectal cancer cell senescence to promote tumorigenesis in mice with colitis. *Gastroenterology* 149:177–189.e10
- Frey N, Venturulli S, Zender L et al (2018) Cellular senescence in gastrointestinal diseases: from pathogenesis to therapeutics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 15:81–95
- Hara E, Smith R, Parry D et al (1996) Regulation of p16CDKN2 expression and its implications for cell immortalization and senescence. *Mol Cell Biol* 16:859–867
- Haugstetter AM, Loddenkemper C, Lenze D et al (2010) Cellular senescence predicts treatment outcome in metastasised colorectal cancer. *Br J Cancer* 103:505–509
- Hoenicke L, Zender L (2012) Immune surveillance of senescent cells—biological significance in cancer- and non-cancer pathologies. *Carcinogenesis* 33:1123–1126
- Iannello A, Thompson TW, Ardolino M et al (2013) p53-dependent chemokine production by senescent tumor cells supports NKG2D-dependent tumor elimination by natural killer cells. *J Exp Med* 210:2057–2069
- Joyce JA, Pollard JW (2009) Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 9:239–252
- Kang TW, Yevsa T, Woller N et al (2011) Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development. *Nature* 479:547–551
- Kansara M, Leong HS, Lin DM et al (2013) Immune response to RB1-regulated senescence limits radiation-induced osteosarcoma formation. *J Clin Invest* 123:5351–5360
- Kellers F, Fernandez A, Konukiewicz B et al (2022) Senescence-associated molecules and tumor-immune-interactions as prognostic biomarkers in colorectal cancer. *Front Med* 9:865230
- Lawless C, Wang C, Jurk D et al (2010) Quantitative assessment of markers for cell senescence. *Exp Gerontol* 45:772–778
- Leggett B, Whitehall V (2010) Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 138:2088–2100
- Liu XL, Ding J, Meng LH (2018) Oncogene-induced senescence: a double edged sword in cancer. *Acta Pharmacol Sin* 39:1553–1558
- Lujambio A (2016) To clear, or not to clear (senescent cells)? That is the question. *Bioessays* 38(1):S56–64
- Martin-Caballero J, Flores JM, Garcia-Palencia P et al (2001) Tumor susceptibility of p21(Waf1/Cip1)-deficient mice. *Cancer Res* 61:6234–6238

Tumor-immune cell interaction and senescence-associated molecules in colorectal carcinoma

Background: Cellular senescence permanently arrests the cell cycle of premalignant cells following protumorigenic stimuli, counteracting tumor progression. Senescence induction leads to phenotypic and metabolic changes and alters the interaction with the cells' microenvironment. This mediates tumor immunosurveillance but bears promalignant potential and may contribute to disease progression.

Objectives: Our study aims to investigate the prognostic potential of senescence markers in colorectal carcinoma (CRC) and to understand the interaction of senescent tumor cells and immune cells.

Materials and methods: Immunohistochemical markers were studied on a tissue microarray (TMA) containing tumor tissue of $n = 598$ CRC patients and were evaluated using digital image analysis. Results were correlated with disease-specific survival (DSS) and progression-free survival (PFS). Consecutive TMA sections were stained for senescence markers and immune cell markers to analyze the spatial relation of those cell populations. Senescence was induced in CRC cell lines *in vitro* and co-cultures with various immune cell lines were established to study the interactions.

Results: Expression of different senescent-associated markers is associated with increased or decreased DSS and PFS. Close proximity of p21+ senescent tumor cells and CD8+ immune cells correlates with increased DSS and PFS. *In vitro*, senescent cells were dose-dependently eliminated by immune cells, which is facilitated via direct cell–cell contact and induction of apoptosis.

Conclusions: Depicting the initiation of this important anti-tumor mechanism, markers of cellular senescence are of significant prognostic relevance in CRC. Moreover, our results show the pleiotropic effect of senescence *in vivo*. Absence as well as exceeding expression of senescence markers are associated with a negative prognosis in CRC. The impact of cellular senescence depends on the tumor microenvironment and the immunosurveillance of senescent cells. Proximity analyses of senescent cells and tumor-infiltrating immune cells have significant prognostic relevance and reflect this.

Keywords

Cellular senescence · Tumor microenvironment · Senescence-associated secretory phenotype (SASP) · Prognostic biomarker · Senolysis

24. Ovadya Y, Landsberger T, Leins H et al (2018) Impaired immune surveillance accelerates accumulation of senescent cells and aging. *Nat Commun* 9:5435
25. Pribluda A, Elyada E, Wiener Z et al (2013) A senescence-inflammatory switch from cancer-inhibitory to cancer-promoting mechanism. *Cancer Cell* 24:242–256
26. Qian Y, Chen X (2010) Tumor suppression by p53: making cells senescent. *Histol Histopathol* 25:515–526
27. von Zglinicki T, Saretzki G, Ladhoff J et al (2005) Human cell senescence as a DNA damage response. *Mech Ageing Dev* 126:111–117
28. Wajapeyee N, Serra RW, Zhu X et al (2008) Oncogenic BRAF induces senescence and apoptosis through pathways mediated by the secreted protein IGFBP7. *Cell* 132:363–374
29. Xue W, Zender L, Miething C et al (2007) Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature* 445:656–660

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S121–S127
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01247-9
Accepted: 6 October 2023
Published online: 13 November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

The 2022 classifications of lymphoid neoplasms

Keynote

Elias Campo^{1,2}

¹Institute of Biomedical Research August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clinic of Barcelona, University of Barcelona, Barcelona, Spain

²Laboratory of Pathology, Clinic Barcelona Hospital, Barcelona, Spain

Abstract

Classification of hematological neoplasms in the past 25 years has been generated through international efforts to achieve broad consensus among professionals. In recent years, the understanding of lymphoid neoplasms has advanced notably, particularly with the impact of genomic studies. Two classifications of these neoplasms were produced in 2022. The International Consensus Classification (ICC) was generated following the same successful process used for the third, fourth, and updated fourth editions of the World Health Organization (WHO) Classification of Hematologic Neoplasms, coordinated by a steering committee approved by the Executive Committees of the European Association for Haematopathology and the Society of Hematopathology. The topics were prepared by different working groups and subsequently discussed in the clinical advisory committee (CAC) meeting with the participation of a large group of pathologists, clinicians, and scientists who all approved the classification after reaching consensus on all topics. Simultaneously, the International Agency for Cancer Research (IARC) of the WHO has produced the fifth edition of the classification of these neoplasms with a group of professionals appointed by the agency who discussed the proposed classification in different meetings. The definition and criteria for diagnosis of many entities have been refined in both proposals. Terminology for some diseases has been adapted to the current knowledge of their biology. Major findings from recent genomic studies have impacted the conceptual framework and diagnostic criteria for many entities. Although most categories are similar in both classifications, there are also conceptual differences and differences in the diagnostic criteria for some diseases.

Keywords

International Consensus Classification of Hematological neoplasms · WHO classification of lymphoid tumours · Lymphoid neoplasm diagnosis · Mature B cell neoplasms · Mature T cell neoplasms

The information of the WHO5 classification presented in the Keynote lecture and in this review was obtained from the publication in reference 1 [1]. Some aspects of different entities have been subsequently modified in the online beta version of the WHO5 classification.



Scan QR code & read article online

Introduction

Lymphoid neoplasms are a very heterogeneous group of diseases. The advance of molecular pathology and, more recently, large-scale genomic studies and their application to daily clinical practice constitute a new perspective that is improving the understanding of these diseases. For the past 20 years, the scientific community had adopted a common classification of these tumors generated

by the close collaboration of the Society of Hematopathology (SH), European Association for Haematopathology (EAHP), and the International Agency for Cancer Research (IARC) of the World Health Organization (WHO). Unfortunately, in 2021, the IARC decided to break this successful collaboration despite the reiterative requests of both societies to produce a new joint edition of the classification following the same process as in the three previous ones. This resulted in generation of two

classifications of hematological neoplasms in 2022, the International Consensus Classification (ICC) [5] and the WHO fifth edition (WHO5) [1]. This review will examine the historic evolution of lymphoma classification and the changes of the ICC and WHO5 to the 2017 WHO edition, highlighting the major differences.

Historic perspective

Classification of lymphoid neoplasms in the late 1980s was dominated by multiple proposals, some based on morphological and clinical features (working formulation), whereas others started considering functional aspects of the lymphoid system (Kiel, Lukes-Collins) [20]. However, the situation was confusing, with some categories having different names in different classifications and a specific disease often split into different categories in the same classification (e.g., follicular lymphoma in the working formulation). This situation was overcome by the publication of the Revised European American Lymphoma (REAL) classification by the International Lymphoma Study Group (ILSG) in 1994, which represented a change in the paradigm, focusing on the identification of “real” diseases rather than clinical aspects or cellular differentiation [14]. The recognition of specific diseases in the REAL proposal was based on morphology, immunophenotype, genetic alterations, and clinical features, with each of these elements having an different influence in each entity. This approach was subsequently validated by an international effort studying the reproducibility and clinical impact of the new classification around the world.

The conceptual and practical success of the REAL classification lead Paul Kleihus, Director of IARC (1994–2003), to invite SH and EAHP to provide the hematology classification for the third edition of the WHO classification of tumors. Pathologists from both societies worked together with hematologists, oncologists, and scientists in a clinical advisory committee (CAC) at which the subjects to be revised in the classification were presented and discussed. The final classification represented a broad consensus published by IARC in 2001. Subsequently, IARC extended this collaboration with SH and EAHP to the

fourth (2008) and updated fourth edition (2017) of the classification of hematopoietic tumors. The editors of these editions were proposed by SH and EAHP, and approved by IARC. The generation of these classifications followed the same process of preparatory work by different working groups, followed by CAC meetings in 2007 and 2014, at which the proposals were discussed and the classification subsequently approved with broad consensus. The delay between the CAC meeting and publication of the respective “Blue Books” was due to the resource limitations of IARC at that time.

In preparation for the fifth WHO edition of the classification, editors of previous editions together with representatives of the SH, EAHP, and other scientific societies and working groups asked Dr. Ian Cree, Head of the Evidence Synthesis and Classification Branch of the IARC in charge of the publication of the WHO Blue Books, to continue the successful collaboration of previous editions. Unfortunately, he notified that IARC would no longer follow the process described above. This break in the collaboration lead to the executive committees of the SH and EAHP, together with many leaders in the hemato-oncology community, to organize different multidisciplinary working groups that culminated in the CAC meeting held in Chicago 2021, which was followed by publication of the International Consensus Classification (ICC) of lymphoid neoplasms together with a manuscript on the genomic information for clinical practice [8]. This information has been expanded in a monographic issue, with a different manuscript on the main groups of entities [3]. On the other hand, IARC appointed a group of experts to the editorial board of the fifth WHO edition (WHO5) who met on different occasions in 2021 and 2022, generated the new classification that was subsequently discussed, and published in one manuscript and an IARC online beta version accessible to subscribers [1]. This online version is provisional, and the content is periodically revised and updated. This review will discuss the major changes in ICC and WHO5 in relation to the 2017 WHO edition based on the published articles, understanding that some of the WHO5 conclusions may

change in the final published Blue Book classification.

Mature B cell neoplasms

Chronic lymphocytic leukemia

The diagnostic criteria of chronic lymphocytic leukemia (CLL) and the precursor monoclonal B cell lymphocytosis (MBL) have not changed in the new classifications which essentially adopt those of the updated 2017 WHO [25]. Both proposals indicate the need of IGHV mutational status and *TP53* and/or 17p alterations before any treatment and highlight several novel parameters that may be of interest to establish a proper prognostic evaluation of the patients. These biomarkers include subclonal *TP53* mutations with low variant allelic frequency (< 10%), BCR stereotypes (e.g., stereotypes 2 and 8), IGLV3-21^{R110}, specific mutated genes (e.g. *NOTCH1*, *SF3B1*, and *BIRC3* or *BTK*, *PLCG2*, and *BCL2* in the context of targeted therapies), and complex karyotype defined as ≥ 5 aberrations. Regarding Richter transformation (RT), it is required to determine the clonal relationship with the preceding CLL, distinguish RT from accelerated CLL, and be cautious with large cell proliferations after BTKi interruption.

B-Prolymphocytic leukemia and leukemic neoplasms with splenic involvement

The 2022 ICC has retained the categories of B cell prolymphocytic leukemia (B-PLL) and the splenic B cell lymphoma/leukemia unclassifiable that includes splenic diffuse red pulp small B cell lymphoma (SDRL) and hairy cell leukemia variant (HCLV). The WHO5 considers that B-PLL does not exist as an entity and creates a new disease named “splenic B cell lymphoma/leukemia with prominent nucleoli” that includes previous HCLV plus CD5-negative B-PLL. The value of this new entity and its definition based on morphological features only has been independently questioned [4]. This entity is considered different from SDRL, also a distinct entity in WHO5.

The ICC emphasizes that the diagnosis of B-PLL needs to exclude other leukemic small B cell neoplasms. The decision of

the CAC to maintain B-PLL was based on published evidence showing different biological and genomic profiles of B-PLL and other leukemic splenic B cell lymphomas. B-PLL has frequent alterations of *MYC* and *TP53*, and mutations in *BCOR*, *MYD88*, and *SF3B1* [2, 6]. On the other hand, HCLV has frequent mutations in the MAPK pathway (*MAP2K1*) and cell cycle regulators (*CCND3* and *CDKN1B*) that are shared with SDRL but not seen in B-PLL [18, 21, 29].

Lymphoplasmacytic lymphoma and immunoglobulin M monoclonal gammopathy of undetermined significance

The ICC has supported the criteria of the second International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia, allowing the diagnosis of lymphoplasmacytic lymphoma (LPL) in the bone marrow, even with < 10% involvement, as long as the biopsy demonstrates neoplastic lymphoplasmacytic aggregates with evidence of clonal B cells and plasma cells. The WHO5 requires $\geq 10\%$ of neoplastic cells for the diagnosis. Both proposals indicate the study of *MYD88* and *CXCR4* mutations in this entity, recognizing cases that may be negative for *MYD88* mutations. A minority of cases may express IgG or IgA instead of IgM [12].

The ICC recognizes two types of immunoglobulin M monoclonal gammopathy of undetermined significance (IgM MGUS). One subtype of IgM MGUS, not otherwise classified (NOS), has the *MYD88* L265 mutation and is considered a precursor to Waldenström macroglobulinemia, whereas the IgM MGUS of plasma cell type is considered a precursor of multiple myeloma (MM). These cases may carry the translocations seen in MM.

Both classifications now recognize primary cold agglutinin disease as a distinct entity different from LPL or IgM MGUS, which lacks *MYD88* mutations and has recurrent trisomies of chromosome 3, 12, and 18, as well as *KMT2D* and *CARD11* mutations.

Plasma cell neoplasms

Clinical participants at the ICC CAC strongly preferred the term multiple myeloma over the former plasma cell myeloma. The ICC also requires cytogenetic analysis for subclassification of MM for clinical management. In addition to MM, two other groups of plasma cells are recognized: localized plasma cell tumors including solitary plasmacytoma of bone and primary extraosseous/extramedullary plasmacytoma, and disorders primarily characterized by the consequences of abnormal immunoglobulin deposition. The ICC emphasizes the need to study the presence of plasma cells in the bone marrow by flow cytometry in solitary plasmacytomas due to its adverse prognostic impact. Clinical complications due to high levels of Ig and paraneoplastic syndromes (e.g., POEMS, TEMPI) associated with plasma cell neoplasms are considered clinical manifestations of underlying plasma cell neoplasms in the ICC but, contrary to the WHO5, are not separate diseases. Monoclonal gammopathy of renal significance, or more broadly of clinical significance, may be detected as a complication of IgM and IgM MGUS [12].

Marginal zone lymphomas

No major changes in nodal, extranodal, and splenic marginal zone lymphomas are incorporated in either classification. Both proposals segregate what has been called "primary cutaneous marginal zone lymphoma" from other extranodal marginal zone lymphomas. The ICC distinguish two subtypes based on the presence of IgH class switched, essentially IgG vs. IgM, with different features. The ICC also names this lesion as primary cutaneous marginal zone lymphoproliferative disorder (LPD) rather than "lymphoma" because of its very indolent behavior, whereas the WHO5 maintains the term lymphoma. Pediatric marginal zone lymphoma, which is recognized as a provisional entity in the ICC and an entity in the WHO5, has been recently suggested to be related to the pediatric-type follicular lymphoma (FL) [24].

Follicular lymphoma

The ICC and WHO5 recognize follicular neoplasm in situ, FL, pediatric-type FL, and duodenal-type FL. The ICC approach to FL remains relatively similar to that of the 2017 WHO. This entity has been significantly revised in WHO5, in which most FL are now named classic FL (cFL) and grading is no longer required. cFL is distinguished from two related subtypes/groups: follicular large B cell lymphoma, which corresponds to grade 3B FL in the ICC and 2017 WHO, and a new category of "FL with uncommon features." The latter includes cases that either have blastoid or large centrocyte cytologic features or a predominantly small cell with diffuse growth pattern.

The ICC retains the grading of FL as in the 2017 WHO but advises that ancillary studies (FISH for *BCL2* rearrangement and immunohistochemistry) may assist in the recognition of grade 3A vs. 3B. The ICC also includes a new provisional entity named *BCL2*-rearrangement negative, CD23-positive follicle center lymphoma. These cases have *STAT6* mutations that correlate with CD23 expression, often have a predominantly diffuse pattern and localized disease, but a pure follicular pattern and disseminated disease can be seen [17, 19].

The ICC has included testicular FL as a distinct entity in young boys clinically and biologically related to pediatric-type FL [17]. Large B cell lymphoma with *IRF4* rearrangement is considered an entity of children and young adults in both classifications. However, it is listed together with other FL in the ICC because it frequently has a follicular component and its prognosis is favorable [23]. In the WHO5, it is listed together with other large B cell lymphomas.

Mantle cell lymphoma

This entity is considered similarly in both classifications, with the recognition of two molecular subtypes—conventional mantle cell lymphoma (MCL) and leukemic non-nodal MCL—which differ in the cell of origin (germinal center unexperienced and memory-like B cells, respectively), clinical presentation, molecular profiles, particularly *SOX11* expression, genomic al-

Table 1 Genomic subtypes of diffuse large B cell lymphoma

Wright, 2020 [30]	Chapuy, 2018 [7]	Lacy, 2020 [16]	Hallmark drivers	% of cases
MCD	C5	MYD88	<i>MYD88/CD79B</i>	14–21
BN2	C1	NOTCH2	<i>tBCL6/NOTCH2</i>	16–19
EZB-MYC–	C3	BCL2	<i>EZH2, tBCL2</i>	13–18
EZB-MYC+	–	–	<i>EZH2/tMYC</i>	–
A53	C2	–	<i>TP53, aneuploidy</i>	7–21
ST2	C4	SOCS1/TET/SGK1	<i>SOCS1/TET/SGK1</i>	5–17
N1	–	NEC	<i>NOTCH1</i>	3
UNCLASS	–	–	–	37

† Translocation

terations, and outcome. Both subtypes can progress to more aggressive forms with blastoid/pleomorphic cytologic features. Cyclin D1-negative MCL is considered the same entity with rearrangements of *CCND2* or *CCND3*.

Diffuse large B cell lymphomas

The ICC and WHO5 recognize multiple entities characterized by the proliferation of large B cells with some specific differences. The most common tumor is diffuse large B cell lymphoma (DLBCL), NOS. Both classifications recommend maintaining the cell-of-origin subtyping as germinal center B cell (GCB) and activated B cell (ABC) as a basic biological division with prognostic impact. The immunohistochemical algorithms are considered acceptable, although the binary classification of these methods (GCB vs. non-GCB) is very limited for capturing the molecular heterogeneity of these neoplasms.

Recent large-scale genomic studies of DLBCL have recognized 5 to 7 new molecular subtypes defined by a profile of mutations and structural alterations that are related to different functional and clinical features and outcome, and may be of future interest for the selection of targeted therapies (Table 1; [7, 16, 30]). Both classifications recognize the interest of these subtypes but consider it premature to recommend their study for routine clinical practice. The subtype that has received more attention is the MCD/C5/MYD88 subgroup in the Wright [30], Chapuy [7], and Lacy [16] studies (Table 1). This subtype has frequent mutations in *CD79B/MYD88*, an ABC cell of origin, and frequent extranodal involvement. These features are common to different previously recognized en-

tities including primary DLBCL of the central nervous system (CNS), primary DLBCL of the testis, primary cutaneous LBCL, leg type, and intravascular large B cell lymphoma, but also to lymphomas at other extranodal sites (breast, adrenal, uterus) as well as a small proportion of nodal DLBCL. Based on this information, the ICC recognized primary DLBCL of the testis as a distinct entity closely related to primary DLBCL of the CNS. The CAC considered grouping all these entities premature and recommended the recognition of specific diseases. The WHO5 grouped testicular, CNS, and vitreoretinal DLBCL together as “primary large B cell lymphoma of immune-privileged sites,” but this category does not include other lymphomas of the MCD/CD5/MYD88 genomic subtype.

The terminology and diagnostic criteria for most LBCL entities are similar in both classifications. However, there are also some differences, particularly in two entities considered provisional in the ICC. The name of the 2017 WHO Burkitt-like lymphoma (BLL) with 11q aberration has been changed to large B cell lymphoma with 11q aberration in the ICC and to high-grade B cell lymphoma with 11q aberration in the WHO5. This change is based on the recognition that the mutational profile of this lymphoma is different from that of BL and similar to other DLBCL, particularly of the GCB subtype [13, 28]. The WHO5 uses the term “high-grade” based on the morphological aspect of the tumor, whereas the ICC prefers the term large B cell lymphoma, since the biological behavior of these tumors is more similar to large B cell lymphomas than to the very aggressive phenotype of other high-grade lymphomas.

The other difference is found in the diagnostic criteria of the new entity “HHV8- and EBV-negative primary effusion-based lymphoma” (ICC) or “fluid overload-associated large B cell lymphoma” (WHO5). These tumors tend to present in elderly HIV-negative patients with conditions that lead to fluid overload. The tumor cells express a mature phenotype and the outcome is favorable. The WHO5 accepts that EBV may be positive in up to 30% of cases, as described in the previous literature. However, the CAC of the ICC considered that virtually all EBV-positive tumors were aggressive and that the patients had an underlying immunodeficiency, as recently reviewed in the 2022 EAHP workshop [9], and could be better diagnosed as other neoplasms, most commonly EBV-positive LBCL presenting as a cavity lymphoma.

High-grade B cell lymphoma

The 2017 WHO category of high-grade B cell lymphomas (HGBCL) has been reinterpreted in both the ICC and WHO5 classifications, with some differences in terminology and categorization. It is important to appreciate the different use of the term “high-grade” in both classifications to understand the rationale for the different names of similar categories. In the ICC, “high-grade” is used to identify a group of tumors with very aggressive biological behavior and poor response to current therapeutic strategies independently of the specific morphology of the tumor. In WHO5, the term “high-grade” is used to name tumors based on their cytology, either blastoid or intermediate between Burkitt lymphoma and DLBCL.

Thus, both proposals now distinguish tumors with *MYC* and *BCL2* rearrangements (with or without *BCL6* rearrangements) as a separate entity. This decision is supported by recent studies showing that these cases have a gene expression profiling related to the dark zone of the germinal centers and a distinctive genomic profile [10, 26]. The ICC denominates these tumors as “high-grade B cell lymphoma with *MYC* and *BCL2* rearrangements” independently of their cytology. The WHO5 uses two terms for this entity: DLBCL or HGBCL with *MYC* and *BCL2* rearrangements depending on the morphology of the cells.

The 2017 WHO category of HGBCL with *MYC* and *BCL6* rearrangements has been retained in the ICC as a provisional entity but not in the WHO5, which would include these cases as DLBCL NOS or HGBCL NOS, according to the cytology of the tumor. Both classifications maintain a category of HGBCL NOS for cases with blastoid/intermediate cytology without *MYC* and *BCL2* rearrangements, understanding that they are molecularly heterogeneous. The ICC modifies the 2017 WHO, now recognizing that some HGBCL may express TdT without necessitating the diagnosis of a B lymphoblastic neoplasm.

Hodgkin lymphoma

Classical Hodgkin lymphoma (CHL) has no changes in the two classifications. However, the ICC proposes the term nodular lymphocyte-predominant B cell lymphoma (NLPBCL) to replace the prior term of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma based on the well described differences in phenotype, molecular alterations, clinical behavior, and management strategies of this entity compared to CHL. The ICC considers that this entity is more properly included among the B cell lymphomas and more closely related to T cell/histiocyte-rich large B cell lymphoma [15].

Mediastinal gray zone lymphoma is recognized in both classifications. These tumors have features intermediate between nodular sclerosis CHL and primary mediastinal large B cell lymphoma. Genomic studies have shown that tumors with similar morphology outside this location are more closely related to DLBCL NOS.

Mature T and NK cell neoplasms

Most mature T and NK cell neoplasms are similarly considered in both classifications, with slight differences in terminology and some conceptual changes in relation to 2017 WHO.

EBV-related mature T and NK cell neoplasms

The diagnosis of EBV-positive T and NK cell LPD of children requires a close clinicopathologic correlation. They are separated

into four groups: hydroa vacciniforme (HV) LPD, severe mosquito bite allergy, chronic active EBV (CAEBV) disease, and systemic EBV-positive T cell lymphoma of childhood [22]. HV LPD may be classical (localized), affecting the skin of sun-exposed areas mainly in white patients, or systemic, in which T or NK cells may involve internal organs. CAEBV disease is a proliferation of T or NK cells that progresses for ≥ 3 months with increasing levels of EBV and organ infiltration without known immunodeficiency. EBV-positive T cell lymphoma of childhood shows atypical lymphocytes not observed in other entities. Genetic studies show that CAEBV disease may carry gene mutations similar to those of systemic EBV-positive lymphoma, suggesting a close relationship.

Extranodal NK/T cell lymphoma nasal type is maintained in both classifications but WHO5 has eliminated the term “nasal type,” recognizing presentation of the disease at various extranodal sites. The ICC has maintained the qualifier “nasal type” to stress that cases presenting outside the nasal region have the same morphological features, and the fact that more than 50% of patients presenting in extranasal sites have a nasal mass that may be occult or appear during evolution of the disease [27]. Both classifications include nodal (WHO5) or primary nodal (ICC) EBV-positive T/NK cell lymphoma as a new entity, provisional in the ICC. It is an aggressive tumor that affects elderly or immunodeficient patients, more common T than NK, and lacks nasal involvement.

Extranodal T cell lymphomas

The extranodal T cell lymphoma entities are similar in both classifications to the 2017 WHO, with slight differences in terminology. The ICC added type II refractory celiac disease to the classification as a precursor lesion for enteropathy-associated T cell lymphoma. Two new indolent entities derived from T or NK cells have been recognized. These disorders involve superficially the gastrointestinal tract and have an indolent behavior. The T cell-derived entity is called indolent clonal T cell LPD of the gastrointestinal (GI) tract (ICC) or indolent T cell lymphoma of the GI tract

(WHO), and indolent NK cell LPD of the GI tract.

Nodal T cell lymphomas

Both classifications have unified the group of T cell lymphomas derived from follicular helper T cells under the terms of follicular helper T cell lymphoma (ICC) or nodal follicular helper T cell lymphoma (TFH; WHO5). This entity includes three subtypes specified: 1) angioimmunoblastic-type, 2) follicular-type, and 3) NOS. These three subtypes have been unified based on their common cell of origin, similar genomic alterations, and clinical evidence of the evolution of one subtype to another in some patients [11].

Peripheral T cell lymphoma NOS remains a diagnosis of exclusion. Both classifications recognize the identification of molecular subtypes identified by the expression of the transcription factors GATA3 and TBX21 that have different genomic profiles and worse and better prognosis, respectively. A subset of cytotoxic PTCL NOS has been described, mainly in the TBX21 subset with more aggressive behavior. However, both classifications agree that the molecular subclassification of PTCL NOS requires further studies before recommendation for clinical use.

Anaplastic T cell lymphoma

The approach of both classifications for the definition of anaplastic T cell lymphoma (ALCL) is similar and with no major changes regarding 2017 WHO. *DUSP22* and *TP63* rearrangements are relevant to recognize different outcomes in ALK-negative ALCL, although further studies are needed to better understand these subtypes. Breast implant-associated ALCL is a well-defined entity in which pathological and clinical staging following the TNM scheme is important to establish the prognosis and define the need for chemotherapy.

Immunodeficiency disorders

The classification of immunodeficiency-related LPD has major differences between ICC and WHO5. The ICC approach is similar to that of the 2016 WHO classification, emphasizing the underlying cause of the

immunodeficiency, since this has a major impact on clinical management and the biology of the subsequent proliferation. In this sense, the ICC retains the category of posttransplant LPDs (PTLDs), with the suggestion to classify non-post-transplant iatrogenic immunodeficiency-associated LPDs using similar principles. In contrast, the WHO5 has eliminated the category of PTLD separately, refocusing the cause of the immune deficiency to a secondary element factor. These disorders are primarily diagnosed according to their histology, followed by viral status and the immune deficiency/dysregulation setting.

Practical conclusion

- The International Consensus Classification (ICC) and the World Health Organization fifth edition classification (WHO5) provide an updated framework for the diagnosis of lymphoid neoplasms incorporating recent multidisciplinary information.
- Most entities are similar in both proposals, but relevant differences exist in the definition and conceptual use of the terminology of some entities. In these situations, it may be useful to use the terminologies of both classifications in clinical practice, with a clarification of the differences.
- Further studies and broad discussion are required to clarify the divergences between the classifications and reach consensus, to apply homogeneous criteria and terminology around the world.

Corresponding address

Elias Campo

Laboratory of Pathology, Clinic Barcelona Hospital
Calle Villarroel 170, 08015 Barcelona, Spain
ecampo@clinic.cat

Declarations

Conflict of interest. E. Campo declares that he has no competing interests related to the content of this article. E. Campo has received honoraria for educational and consulting activities from GenMab, Takeda, Bristol Myers Squibb, EUSA Pharma, Janssen and Roche. E. Campo has received research support from AstraZeneca and he is an author in two patents licensed to naoString and Diagnostica longwood.

For this article no studies with human participants or animals were performed by any of the authors. All studies mentioned were in accordance with the ethical standards indicated in each case.

Klassifikationen lymphatischer Neoplasien des Jahres 2022. Keynote

Die Klassifikation der hämatologischen Neoplasien in den letzten 25 Jahren wurde auf der Basis internationaler Bemühungen zur Erzielung eines breiten Konsensus unter Fachleuten erstellt. In den letzten Jahren hat sich das Verständnis lymphatischer Neoplasien erheblich weiterentwickelt, insbesondere durch die Auswirkungen genomischer Studien. Im Jahr 2022 wurden 2 Klassifikationen dieser Neoplasien publiziert. Die International Consensus Classification (ICC) wurde nach dem gleichen erfolgreichen Prozess erstellt, der für die dritte, vierte und aktualisierte vierte Ausgabe der Klassifikation hämatologischer Neoplasien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) verwendet wurde, unter Koordination eines Lenkungsausschusses, der von den Exekutivkomitees der European Association for Haematopathology und der Society of Hematopathology genehmigt wurde. Die Themen wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen vorbereitet und anschließend in der Sitzung des Clinical Advisory Committee (CAC) unter Beteiligung einer großen Gruppe von Pathologen, Klinikern und Wissenschaftlern diskutiert, die alle der Klassifizierung zustimmten, nachdem sie in allen Themen einen Konsens erzielt hatten. Gleichzeitig hat die International Agency for Cancer Research (IARC) der WHO die 5. Auflage der Klassifikation dieser Neoplasien mit einer von der Agency ernannten Gruppe von Fachleuten erstellt, die die vorgeschlagene Klassifikation in verschiedenen Sitzungen diskutierten. Die Definition und Kriterien für die Diagnose vieler Entitäten wurden in beiden Vorschlägen verfeinert. Die Terminologie einiger Krankheiten wurde an den aktuellen Kenntnisstand ihrer Biologie angepasst. Wichtige Erkenntnisse aus jüngsten Genomstudien haben den konzeptionellen Rahmen und die diagnostischen Kriterien für viele Entitäten beeinflusst. Obwohl die meisten Kategorien in beiden Klassifikationen ähnlich sind, gibt es bei einigen Krankheiten auch konzeptionelle Unterschiede und Unterschiede in diagnostischen Kriterien.

Schlüsselwörter

International Consensus Classification hämatologischer Neoplasien · WHO-Klassifikation lymphoider Tumore · Diagnose lymphoider Neoplasien · Neoplasien reifer B-Zellen · Neoplasien reifer T-Zellen

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

References

1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I et al (2022) The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia* 36:1720–1748
2. Algrin C, Perol L, Chapiro E et al (2023) Retrospective analysis of a cohort of 41 de novo B-cell prolymphocytic leukemia patients: impact of genetics and targeted therapies (a FILO study). *Haematologica* 108:1691–1696
3. Arber DA, Campo E, Jaffe ES (2023) Advances in the classification of myeloid and lymphoid neoplasms. *Virchows Arch* 482:1–9
4. Aster JC (2023) What is in a name? Consequences of the classification schism in Hematopathology. *J Clin Oncol* 41:1523–1526
5. Campo E, Jaffe ES, Cook JR et al (2022) The international consensus classification of mature lymphoid neoplasms: a report from the clinical advisory committee. *Blood* 140:1229–1253
6. Chapiro E, Pramil E, Diop M et al (2019) Genetic characterization of B-cell prolymphocytic leukemia: a prognostic model involving MYC and TP53. *Blood* 134:1821–1831
7. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ et al (2018) Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med* 24:679–690
8. De Leval L, Alizadeh AA, Bergsagel PL et al (2022) Genomic profiling for clinical decision making in lymphoid neoplasms. *Blood* 140:2193–2227
9. Di Napoli A, Soma L, Quintanilla-Martinez L et al (2023) Cavity-based lymphomas: challenges and novel concepts. A report of the 2022 EA4HP/SH lymphoma workshop. *Virchows Arch* 483:299–316
10. Ennishi D, Jiang A, Boyle M et al (2019) Double-hit gene expression signature defines a distinct subgroup of germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 37:190–201
11. Feldman AL, Laurent C, Narbaitz M et al (2023) Classification and diagnostic evaluation of nodal T- and NK-cell lymphomas. *Virchows Arch* 482:265–279
12. Fend F, Dogan A, Cook JR (2023) Plasma cell neoplasms and related entities-evolution in diagnosis and classification. *Virchows Arch* 482:163–177
13. Gonzalez-Farre B, Ramis-Zaldivar JE, Salmeron-Villalobos J et al (2019) Burkitt-like lymphoma with 11q aberration: a germinal center-derived lymphoma genetically unrelated to Burkitt lymphoma. *Haematologica* 104:1822–1829
14. Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al (1994) A revised European-American classification of lymphoid

- neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 84:1361–1392
15. Hartmann S, Eichenauer DA (2020) Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma: pathology, clinical course and relation to T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma. *Pathology* 52:142–153
 16. Lacy SE, Barrans SL, Beer PA et al (2020) Targeted sequencing in DLBCL, molecular subtypes, and outcomes: a Haematological Malignancy Research Network report. *Blood* 135:1759–1771
 17. Laurent C, Cook JR, Yoshino T et al (2023) Follicular lymphoma and marginal zone lymphoma: how many diseases? *Virchows Arch* 482:149–162
 18. Martinez D, Navarro A, Martinez-Trillos A et al (2016) NOTCH1, TP53, and MAP2K1 mutations in splenic diffuse red pulp small B-cell Lymphoma are associated with progressive disease. *Am J Surg Pathol* 40:192–201
 19. Nann D, Ramis-Zaldivar JE, Müller I et al (2020) Follicular lymphoma t(14;18)-negative is genetically a heterogeneous disease. *Blood Adv* 4:5652–5665
 20. Nathwani BN (1979) A critical analysis of the classifications of non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer* 44:347–384
 21. Oscier D, Stamatopoulos K, Mirandari A, Strefford J (2022) The genomics of hairy cell leukaemia and splenic diffuse red pulp lymphoma. *Cancers (basel)* 14:
 22. Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Tousseyn T et al (2023) New concepts in EBV-associated B, T, and NK cell lymphoproliferative disorders. *Virchows Arch* 482:227–244
 23. Ramis-Zaldivar JE, Gonzalez-Farre B, Balague O et al (2020) Distinct molecular profile of IRF4-rearranged large B-cell lymphoma. *Blood* 135:274–286
 24. Salmeron-Villalobos J, Egan C, Borgmann V et al (2022) A unifying hypothesis for PNMZL and PTFL: morphological variants with a common molecular profile. *Blood Adv* 6:4661–4674
 25. Sander B, Campo E, Hsi ED (2023) Chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma and mantle cell lymphoma: from early lesions to transformation. *Virchows Arch* 482:131–145
 26. Sha C, Barrans S, Cucco F et al (2019) Molecular high-grade B-cell Lymphoma: defining a poor-risk group that requires different approaches to therapy. *J Clin Oncol* 37:202–212
 27. Shet T, Suryawanshi P, Epari S et al (2014) Extranodal natural killer/T cell lymphomas with extranasal disease in non-endemic regions are disseminated or have nasal primary: a study of 84 cases from India. *Leuk Lymphoma* 55:2748–2753
 28. Wagener R, Seufert J, Raimondi F et al (2019) The mutational landscape of Burkitt-like lymphoma with 11q aberration is distinct from that of Burkitt lymphoma. *Blood* 133:962–966
 29. Waterfall JJ, Arons E, Walker RL et al (2014) High prevalence of MAP2K1 mutations in variant and IGHV4-34-expressing hairy-cell leukemias. *Nat Genet* 46:8–10
 30. Wright GW, Huang DW, Phelan JD et al (2020) A Probabilistic Classification Tool for Genetic Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma with Therapeutic Implications. *Cancer Cell* 37:551–568 (e514)

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

What is new in the classification of peripheral T cell lymphomas?

Laurence de Leval  · Bettina Bisig 

Institute of Pathology, Department of Laboratory Medicine and Pathology, Lausanne University Hospital (CHUV) and Lausanne University, Lausanne, Switzerland

Abstract

In this review focus article, we highlight the main modifications introduced in the latest 2022 International Consensus Classification and World Health Organization classification (ICC and WHO-HAEM5) of mature T (and NK) cell neoplasms (PTCLs) and consequent implications for diagnostic practice. The changes result from recent advances in the genomic and molecular characterization of PTCLs and enhanced understanding of their pathobiology. Specifically, consideration is given to the following groups of diseases: Epstein–Barr virus (EBV)-associated neoplasms; follicular helper T cell lymphoma; anaplastic large cell lymphomas; primary intestinal T and NK cell lymphomas and lymphoproliferative disorders; and PTCL, not otherwise specified.

Keywords

Follicular helper T cell lymphoma · Anaplastic large cell lymphomas · Intestinal T and NK cell lymphomas · Mutations · Cell of origin

Neoplasms derived from mature NK or T cells (peripheral T cell lymphomas, PTCLs) are rare overall, but encompass diverse clinical presentations of diseases ranging from uncommonly indolent to usually aggressive. The two classifications of lymphoid neoplasms developed in 2022, namely the International Consensus Classification (ICC) [5] and the fifth edition of the World Health Organization (WHO) classification (WHO-HAEM5) [1], represent updates of the 2017 revised fourth WHO classification (WHO-HAEM4R) (■ Fig. 1), and rely on a multiparametric definition of lymphoma entities. Recent advances in refining the clinicopathologic features and molecular and genomic profiling of PTCLs have translated into adjustments and changes introduced in both proposals which are largely overlapping, overall reflecting similar conceptual shifts, with slight differences.

EBV-associated T cell and NK cell neoplasms

In the group of Epstein–Barr virus (EBV)-driven lymphoproliferative disorders of childhood [21], hydroa vacciniforme lym-

phoproliferative disorder (LPD) replaces what was previously designated hydroa vacciniforme-like LPD, because essentially all such lesions are associated with EBV infection. The ICC further recognizes two variants: a classic indolent form (limited to the skin) and a systemic aggressive form of the disease, more common in non-Caucasians. Chronic active EBV disease now replaces chronic active EBV infection to denote a pathologic disease condition, in line with the notion that pathogenic mutations indicating a neoplastic process are detected in a subset of patients.

The terminology, definition, and diagnostic criteria of extranodal NK/T cell lymphoma (ENKTCL) nasal type are unchanged in the ICC. Since this lymphoma is known to occur at various extranodal sites besides the nasal area which is involved in typical cases, “nasal type” was dropped in the WHO-HAEM5.

Cases of primary nodal EBV-positive T cell or NK cell lymphoma, formerly considered as a subtype of PTCL, not otherwise specified (NOS), are now categorized as a separate entity, namely primary nodal EBV+ T cell/NK cell lymphoma, provisional in the ICC, or nodal EBV+ T and NK cell



Scan QR code & read article online

WHO-HAEM4R-2017	ICC-2022	WHO-HAEM5-2022
T-cell prolymphocytic leukemia	T-cell prolymphocytic leukaemia	T-prolymphocytic leukemia
T-cell large granular lymphocytic leukaemia	T-cell large granular lymphocytic leukaemia	T-large granular lymphocytic leukaemia
<i>Chronic lymphoproliferative disorder of NK cells</i>	<i>Chronic lymphoproliferative disorder of NK cells</i>	NK-large granular lymphocytic leukaemia
Adult T-cell leukemia/lymphoma	Adult T-cell leukemia/lymphoma	Adult T-cell leukemia/lymphoma
<u>EBV-positive T-cell/NK-cell lymphoproliferative disorders of childhood</u>	<u>EBV-positive T-cell/NK-cell lymphoproliferative disorders of childhood</u>	<u>EBV-positive T- and NK-cell lymphoid proliferations and lymphomas of childhood</u>
Hydroa vacciniforme-like lymphoproliferative disorder	Hydroa vacciniforme lymphoproliferative disorder - Classic type and systemic type	Hydroa vacciniforme lymphoproliferative disorder
Severe mosquito bite allergy	Severe mosquito bite allergy	Severe mosquito bite allergy
Chronic active EBV infection of T- and NK-cell type, systemic form	Chronic active EBV disease, systemic (T-cell and NK-cell phenotype)	Systemic chronic active EBV disease
Systemic EBV-positive T-cell lymphoma of childhood	Systemic EBV-positive T-cell lymphoma of childhood	Systemic EBV-positive T-cell lymphoma of childhood
Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type	Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type	Extranodal NK/T-cell lymphoma
Aggressive NK-cell leukemia	Aggressive NK-cell leukemia	Aggressive NK-cell leukemia
Not listed as an entity, subtype of peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified (PTCL-NOS)	<i>Primary nodal EBV+ T-cell/NK-cell lymphoma</i>	EBV+ nodal T- and NK-cell lymphoma
Enteropathy-associated T-cell lymphoma	Enteropathy-associated T-cell lymphoma	Enteropathy-associated T-cell lymphoma
Not listed as an entity	Type II refractory celiac disease	Not listed as an entity
Monomorphic epitheliotropic intestinal T-cell lymphoma	Monomorphic epitheliotropic intestinal T-cell lymphoma	Monomorphic epitheliotropic intestinal T-cell lymphoma
Intestinal T-cell lymphoma, NOS	Intestinal T-cell lymphoma, NOS	Intestinal T-cell lymphoma, NOS
<i>Indolent T-cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract</i>	Indolent clonal T-cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract	Indolent T-cell lymphoma of the gastrointestinal tract
Not listed	Indolent NK-cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract	Indolent NK-cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract
Hepatosplenic T-cell lymphoma	Hepatosplenic T-cell lymphoma	Hepatosplenic T-cell lymphoma
Mycosis fungoides	Mycosis fungoides	Mycosis fungoides
Sezary syndrome	Sezary syndrome	Sezary syndrome
Primary cutaneous CD30+ T-cell lymphoproliferative disorders - Lymphomatoid papulosis - Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma	Primary cutaneous CD30+ T-cell lymphoproliferative disorders - Lymphomatoid papulosis - Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma	Primary cutaneous CD30+ T-cell lymphoproliferative disorder: Lymphomatoid papulosis Primary cutaneous CD30+ T-cell lymphoproliferative disorder: Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma

Fig. 1 ◀ Classification of mature T and NK cell neoplasms in the ICC [5] and WHO-HAEM5 [1] proposals (2022) with reference to the WHO-HAEM4R classification (2017). The entities are listed according to the order in which they appear in the ICC-2022. Colors denote groups of entities. Italics indicate the entities provisional in the WHO-HAEM4R and ICC-2022

<i>Primary cutaneous CD4+ small/medium T-cell lymphoproliferative disorder</i>	Primary cutaneous CD4+ small/medium T-cell lymphoproliferative disorder	Primary cutaneous small/medium CD4+ T-cell lymphoproliferative disorder
Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma	Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma	Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma
Primary cutaneous gamma-delta T-cell lymphoma	Primary cutaneous gamma-delta T-cell lymphoma	Primary cutaneous gamma-delta T-cell lymphoma
<i>Primary cutaneous acral CD8+ T-cell lymphoma</i>	Primary cutaneous acral CD8+ T-cell lymphoproliferative disorder	Primary cutaneous acral CD8+ T-cell lymphoproliferative disorder
<i>Primary cutaneous CD8+ aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma</i>	Primary cutaneous CD8+ aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma	Primary cutaneous CD8+ aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma
Not listed	Not listed	Primary cutaneous peripheral T-cell lymphoma, NOS
Peripheral T-cell lymphoma, NOS	Peripheral T-cell lymphoma, NOS	Peripheral T-cell lymphoma, NOS
<u>Nodal lymphomas of T follicular helper origin</u>	<u>Follicular helper T-cell lymphoma</u>	<u>Nodal T-follicular helper (TFH) cell lymphoma</u>
Angioimmunoblastic T-cell lymphoma	Follicular helper T-cell lymphoma, angioimmunoblastic type (angioimmunoblastic T-cell lymphoma)	Nodal TFH cell lymphoma, angioimmunoblastic-type
Follicular T-cell lymphoma	Follicular helper T-cell lymphoma, follicular type	Nodal TFH cell lymphoma, follicular-type
Nodal peripheral T-cell lymphoma with T follicular helper phenotype	Follicular helper T-cell lymphoma, NOS	Nodal TFH cell lymphoma, NOS
Anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive	Anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive	ALK-positive anaplastic large cell lymphoma
Anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative	Anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative	ALK-negative anaplastic large cell lymphoma
<i>Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma</i>	Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma	Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma

Fig. 1 ◀ (Continued)

lymphoma in the WHO-HAEM5 [21]. This rare disease, most prevalent in East Asia, involves lymph nodes and is frequently disseminated but lacks nasal involvement and tends to occur in elderly adults, in association with HIV infection or immunodeficient conditions [14]. Pathological features distinct from ENKTCL include a monomorphic large cell morphology, less frequent necrosis, negativity for CD56, positivity for CD8, and more frequent derivation from T cells than from NK cells [14, 19]. The tumor is characterized by loss of 14q11.2, upregulation of immune pathways, low genomic instability and recurrent mutations involving the epigenetic modifiers, such as *TET2* and *DNMT3A*, and JAK-STAT pathway genes [27].

Follicular helper T cell lymphoma

In 2017, the developing concept that follicular helper derivation represents a unifying feature of a large group of nodal CD4+ T cell lymphomas was reflected by

the creation of an umbrella term “nodal T cell lymphoma of T follicular helper (TFH) origin” to encompass angioimmunoblastic T cell lymphoma, follicular T cell lymphoma, and nodal PTCL with T follicular helper phenotype. Since then, this notion has been reinforced by additional evidence indicating shared molecular and genetic features [10], and, importantly, clinical data suggest that this grouping might be relevant to treatment decisions, as TFH lymphoma appear more sensitive to epigenetic therapies than non-TFH PTCLs (■ Fig. 2a; [4]). Therefore, the ICC considers one single disease entity, namely follicular helper T cell lymphoma, comprising three subtypes, angioimmunoblastic, follicular, and NOS (■ Fig. 2b–d; [11]). This entity by definition excludes primary cutaneous CD4+ T cell lymphoproliferations which also feature a TFH phenotype. The WHO-HAEM5 proposal is more conservative, considering a family of three related entities of nodal T follicular helper cell lymphomas. The TFH immunophenotype is defined by

the expression of at least two and ideally three TFH markers out of a panel of at least five markers (*CD10*, *BCL6*, *PD1*, *ICOS*, *CXCL13*) that it is now recommended to test for routinely and systematically when a diagnosis of TFH lymphoma is considered or must be excluded [1, 5]. TFH lymphomas frequently carry mutations in *TET2*, *DNMT3A*, *RHOA*, and *IDH2*, which are rarely seen in combination in other PTCL entities; hence, mutational testing may be diagnostically useful [8, 12].

Anaplastic large cell lymphomas

The four entities of anaplastic large cell lymphomas (ALCLs) are identical in both proposals: ALK-positive (ALK+) and ALK-negative (ALK-) ALCL, primary cutaneous ALCL (within the spectrum of CD30-positive cutaneous T cell lymphoproliferative disorders), and breast implant-associated (BIA-)ALCL. Among ALK- ALCLs, those with *DUSP22* rearrangement (25–30% of cases; ■ Fig. 3a–d) differ from those

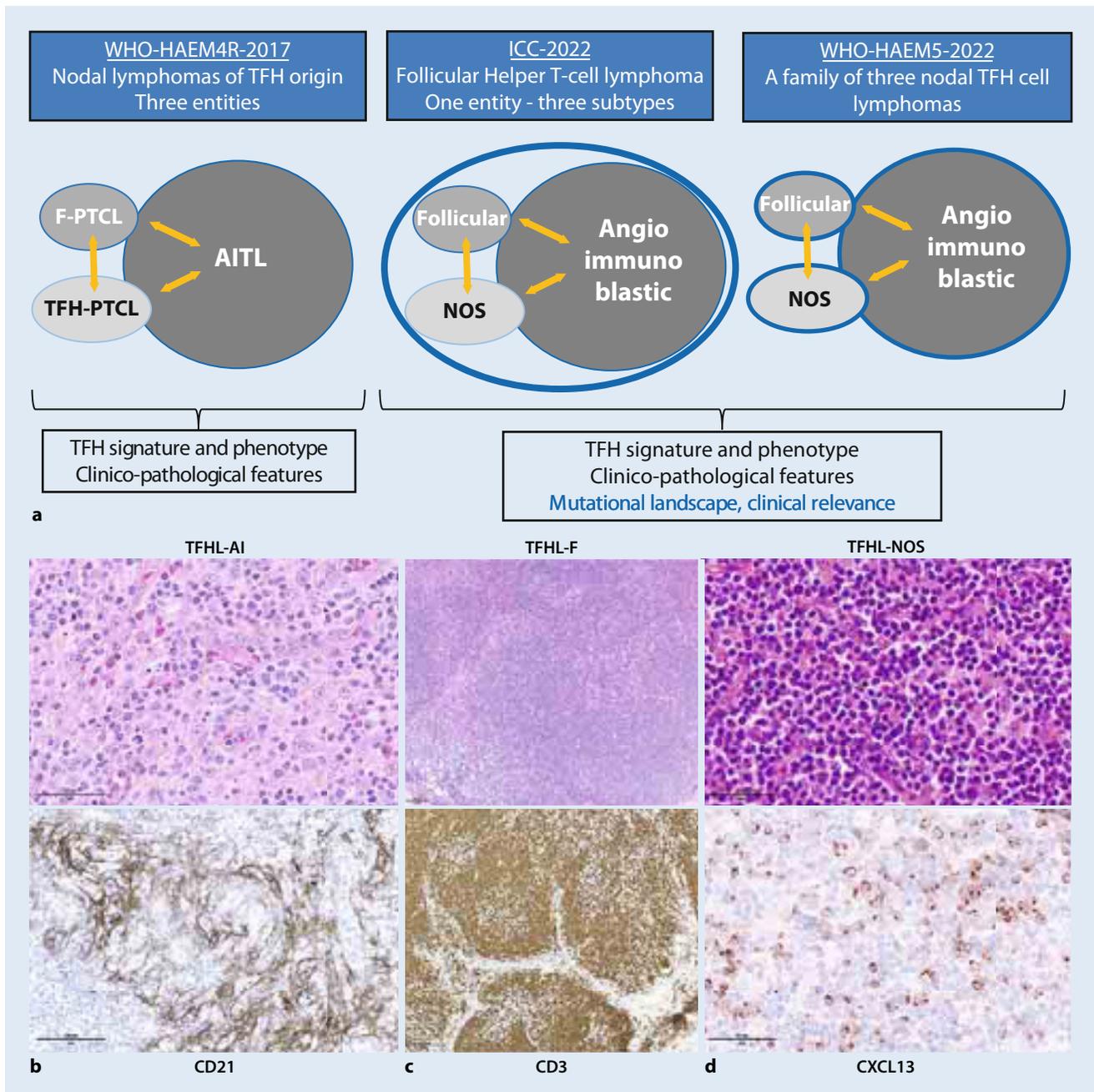


Fig. 2 ▲ Follicular helper T cell lymphoma. **a** Evolution of the classification of T cell lymphomas of follicular helper T cell (TFH cell) derivation in the successive classifications. **b** Follicular helper T cell lymphoma of the angioimmunoblastic type (TFHL-AI) comprising a polymorphous cellular infiltrate with prominent vessels and expansion of CD21+ follicular dendritic cells. **c** Follicular helper T cell lymphoma of the follicular type (TFHL-F) is exemplified here by a case showing a follicular lymphoma-like appearance, comprising nodules of CD3+ T cells also positive for several TFH markers (not shown). **d** Follicular helper T cell lymphoma, not otherwise specified (TFHL-NOS), consists of a diffuse lymphoproliferation of atypical CD4+ cells expressing two or more TFH markers, shown here is CXCL13 expression (**b–d** HE and immunoperoxidase)

devoid of this alteration, as they usually lack JAK-STAT3 activation and EMA expression, less frequently express cytotoxic molecules, harbor *MSC* mutations in about one third of cases, and have distinctive transcriptomic signature and methylation profiles [17, 18]. The clinical impact of

DUSP22 rearrangement remains controversial: the initially reported markedly superior prognosis of these cases was not confirmed in subsequent studies, while data from more recent cohorts still support an intermediate prognosis of *DUSP22*-rearranged ALK– ALCL, standing between

ALK+ ALCL and *DUSP22*-non rearranged ALK– ALCL [23, 24]. Taking into account its biological and prognostic peculiarities, the ICC recognizes *DUSP22*-rearranged ALCL as a genetically defined subtype of the disease and recommends systematic FISH testing for *DUSP22* in ALK– ALCL [8].

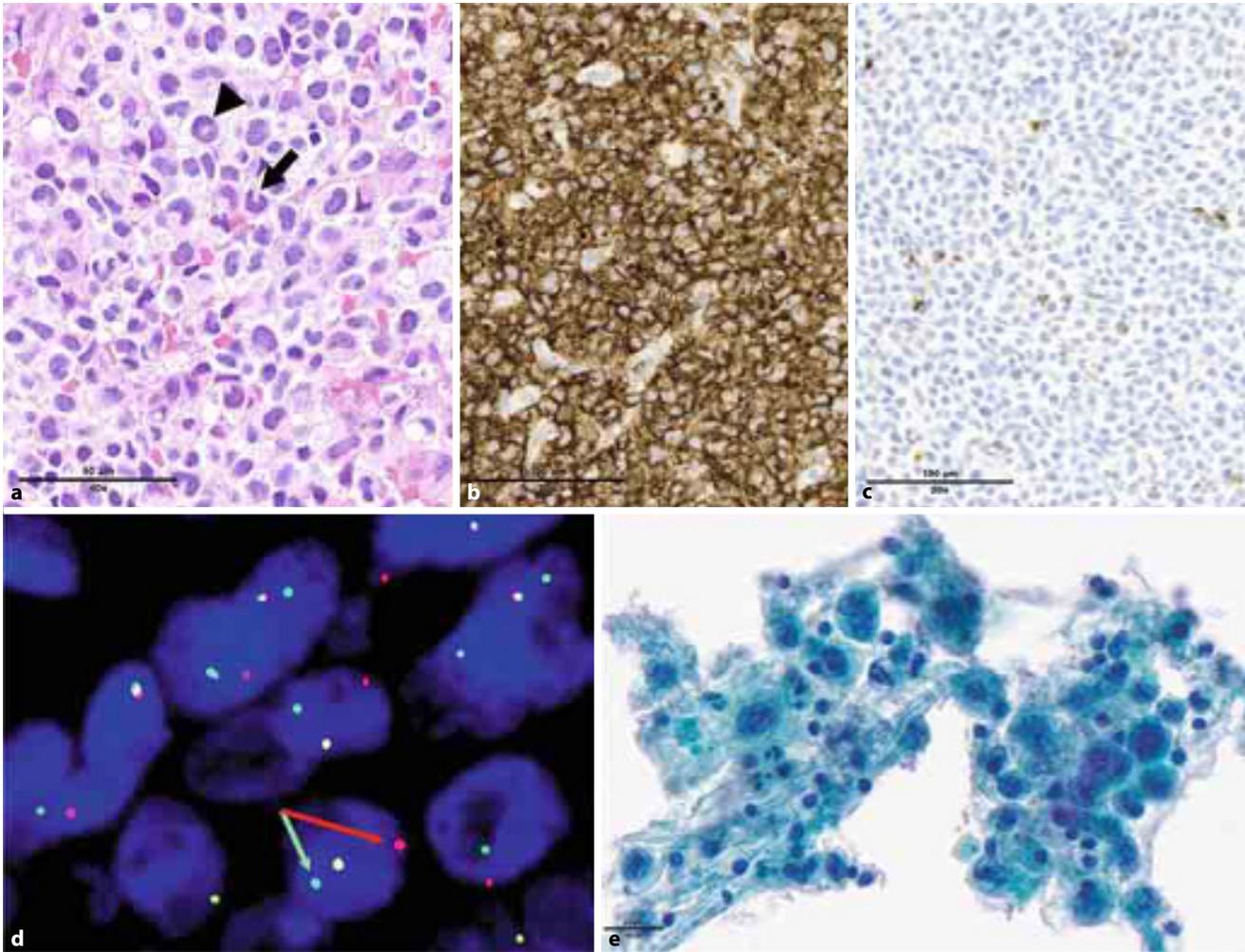


Fig. 3 ▲ Anaplastic large cell lymphomas. a–d ALK-negative *DUSP22*-rearranged anaplastic large cell lymphoma, showing a typical morphology including kidney-shaped (*arrow*) and doughnut-shaped (*arrowhead*) tumor cells (a), which are strongly and diffusely CD30 positive (b), and negative for ALK (not shown) and granzyme B (c). Break-apart FISH reveals *DUSP22* gene rearrangement (d *red* and *green* arrows point to split signals). e Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma diagnosed on a Papanicolaou-stained smear of a periprosthetic effusion, displaying large tumor cells with anaplastic nuclear features, admixed with inflammatory cells

Other structural aberrations are recurrent in ALK⁻ ALCL but less common. These include *TP63* rearrangements, associated with an adverse prognosis [23]; as well as fusion genes involving tyrosine kinases such as *JAK2*, *FRK*, *ROS1*, and *TYK2*, which may represent potential therapeutic targets [8].

BIA-ALCL (■ Fig. 3e) is recognized as a definitive entity both in the ICC and WHO-HAEM5. While histopathologically it largely overlaps with systemic ALK⁻ ALCL, the pathogenetic association of BIA-ALCL with the microenvironment of textured breast implants is unique. At the genetic level, a highly characteristic 20q13.13 loss has been reported in two thirds of cases

[7], and mutations in epigenetic modifiers such as *KMT2C*, *KMT2D*, and *CREBBP* are also frequently detected [16]. Similar to systemic ALCL, activation of the JAK-STAT3 pathway is a constant feature of BIA-ALCL, most commonly through mutations of *STAT3* and/or *JAK1* [16]. In contrast, rearrangements of *ALK*, *DUSP22*, or *TP63* associated with systemic ALCLs are not observed. The prognosis of BIA-ALCL is generally excellent after surgical removal of the periprosthetic fibrous capsule, but is less favorable in cases of infiltration of the adjacent breast parenchyma [15].

Primary intestinal T and NK cell lymphomas and lymphoproliferative disorders

The three main aggressive types of primary intestinal T cell lymphomas (enteropathy-associated T cell lymphoma [EATL], monomorphic epitheliotropic intestinal T cell lymphoma (MEITL), and intestinal T cell lymphoma, NOS) are unchanged [9]. EATL occurs in populations with a higher prevalence of HLA haplotypes predisposing to celiac disease, as a complication of celiac disease and refractory celiac disease, or de novo in individuals with no history of malabsorption. The tumors may be multiple and present as ul-

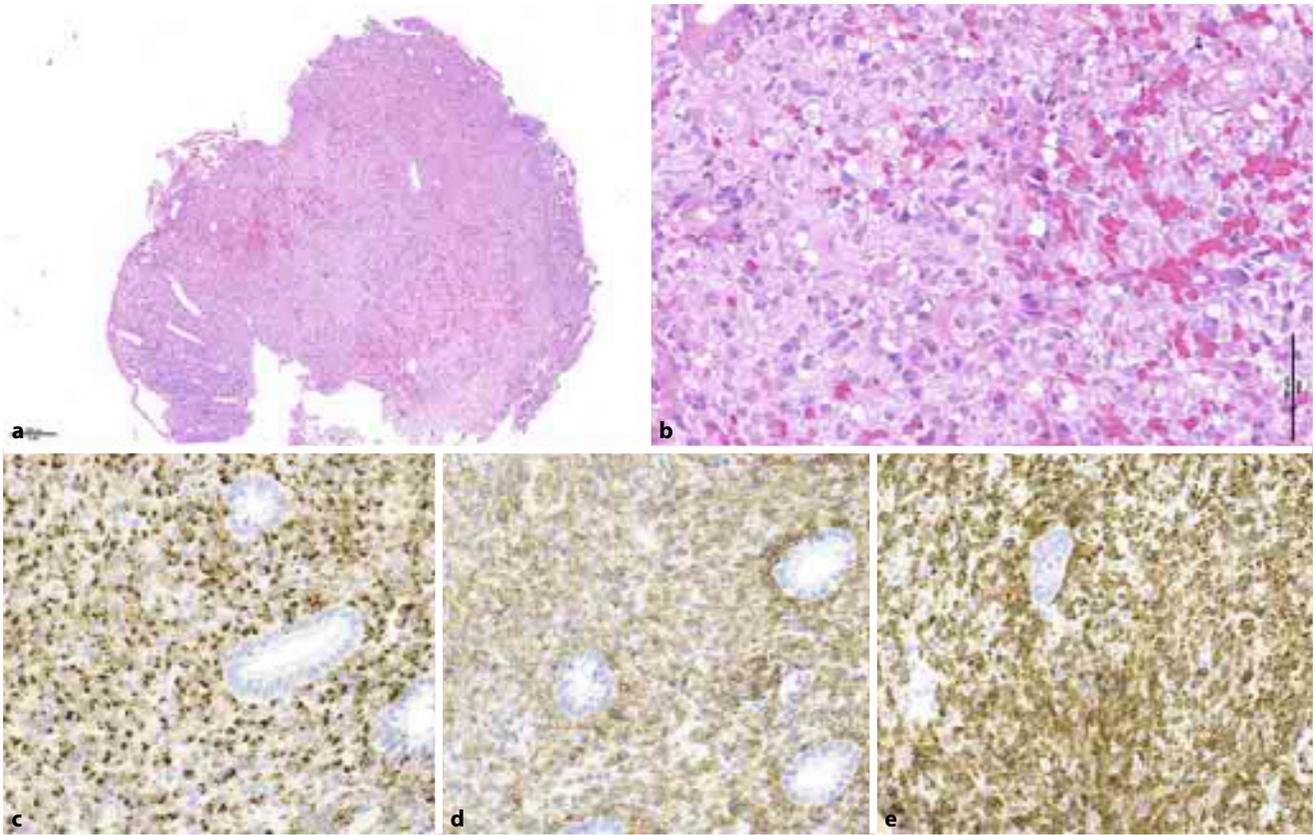


Fig. 4 ▲ Indolent NK cell lymphoproliferative disorder of the gastrointestinal tract. This colonic biopsy shows a diffuse mucosal infiltrate of atypical lymphoid cells with clear cytoplasm, partially obliterating the crypts (a and b). The cells are positive for TIA-1 (c), CD56 (d), and CD3 (e), and were negative for EBV (not shown)

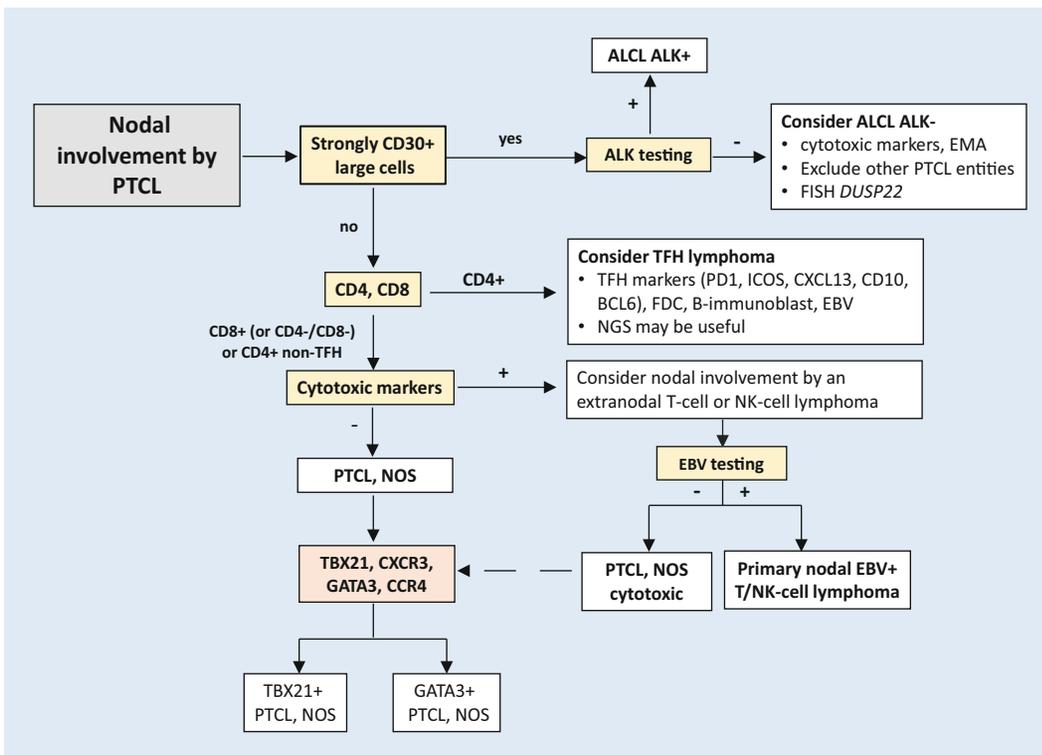


Fig. 5 ◀ Algorithm for the diagnosis of nodal peripheral T cell lymphomas (PTCLs). (Adapted from [5])

Table 1 Comparison of PTCL-GATA3 and PTCL-TBX21 subtypes of peripheral T cell lymphomas, not otherwise specified (PTCL, NOS) [3, 12]

	PTCL-GATA3 30–40%	PTCL-TBX21 50–60%
Gene expression signature	Th1 like MYC overexpression High proliferation PI3K activation	Th2 like Subset cytotoxic Enrichment of NF-kappa B pathway
Clinical	Poorer outcome	Better outcome Cytotoxic phenotype associated with poorer outcome
Morphology and phenotype	Less inflammatory background GATA3+ and/or CCR4+ (> 50%)	Inflammatory background TBX21+ and/or CXCR3+ (> 20%)
Genomics and gene expression	Higher genomic complexity Genomic aberrations include deletions of 17p (<i>TP53</i>), 9p (<i>CDKN2A</i>), and 10p (<i>PTE</i> N)	Fewer genomic aberrations, targeting cytotoxic effector genes Frequent mutations in epigenetic modulators (e.g., <i>TET2</i> , <i>DNMT3A</i>)

cers or, less commonly, masses, comprise a polymorphous infiltrate with admixed inflammation, and often pleomorphic to anaplastic lymphoma cells. The typical immunophenotype is CD3+ CD4– CD8– CD30+/- TCR-silent EBV-negative, with expression of cytotoxic molecules. MEITL presents as a tumor mass and spans a morphologic spectrum. While typical cases are monomorphic with little necrosis, other tumors exhibit pleomorphic cytology and/or other atypical features like necrosis, brisk mitotic activity, and angiocentricity [26]. In MEITL, the neoplastic cells are CD3+ CD4– CD8+ CD56+ TCR-positive (gamma-delta more commonly than alpha-beta) EBV-negative. Genomic features may be helpful in differentiating between EATL and MEITL: alterations in the *JAK/STAT* pathway genes target primarily *STAT3* and *JAK1* in EATL, and *STAT5B* and *JAK3* in MEITL. Deleterious alterations of the *SETD2* gene, translating into reduced H3K36 trimethylation, are almost constant and rather specific to MEITL [22]. Type II refractory celiac disease has been added to the list of entities in the ICC, as this represents an “in situ” neoplastic condition precursor to EATL, and recent works have shown that it often already harbors driving mutations in *JAK1* and/or *STAT3* similar to those present in EATL [6].

The formerly provisional “indolent T cell LPD of the gastrointestinal tract” is confirmed in the ICC with the addition of “clonal” to emphasize its neoplastic nature. Indeed a variety of somatic genetic alterations have been found in these cases, including a recurrent *JAK2::STAT3* fusion

in a subset of CD4+ cases [25]. In WHO-HAEM5, the name has been modified to “indolent T cell lymphoma,” given the fact that transformation into a high-grade PTCL has been described in some patients. Both proposals have created a new category to classify the indolent gastrointestinal LPD of NK cells (■ Fig. 4), which also carry a variety of genetic mutations, including a recurrent *JAK3* small in-frame deletion [28]. These T and NK LPDs of the gastrointestinal tract are in general restricted to the mucosa and represent a diagnostic challenge and should not be confused, on the one hand with inflammatory conditions, on the other hand with aggressive lymphomas, since their course is usually indolent despite possible relapses, multifocality, and chronicity, and they do not respond to chemotherapy.

Peripheral T cell lymphomas, not otherwise specified

The group of PTCLs, not otherwise specified (NOS), remains a diagnosis of exclusion (■ Fig. 5). Cases with a TFH immunophenotype must be excluded, since lymphomas with no morphologic specification but showing a TFH immunophenotype, defined by the expression of two or ideally three TFH markers, are classified as TFH lymphoma, NOS. Moreover, caution must be applied in this scenario to exclude primary cutaneous T cell lymphomas or human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated adult T leukemia/lymphoma, as these entities, which are often CD4+, may show expression of TFH markers [20].

Two biological subtypes of PTCL, NOS, namely PTCL-TBX21 and PTCL-GATA3, have been identified by gene expression profiling, and are characterized by overexpression of transcription factors TBX21 or GATA3 and corresponding target genes, with different prognoses and distinct oncogenic pathways ([12, 13]; ■ Table 1). An immunohistochemical algorithm using four markers applied sequentially (TBX21, CXCR3, GATA3, and CCR4) can provide surrogate information on the molecular subtypes [3], and a digital nanostring-based assay has recently been published [2]. However, it is acknowledged that there is currently too little evidence to recommend molecular subtyping of PTCL, NOS, in routine clinical use [3]. PTCL-GATA3 demonstrates high genomic complexity characterized by biallelic deletion/mutation of *TP53*, *CDKN2A/B*, or *RB1*, and carries a worse prognosis compared to PTCL-TBX21, which shows low genomic complexity and few recurrent specific genetic changes.

Conclusion

In conclusion, the updated classifications of T and NK cell neoplasms confirm the diversity and complexity of these disorders. Nevertheless, the accumulating knowledge of their biology is translated into more meaningful categories, and an increasing importance of molecular testing for precision diagnosis and tailored therapy.

Corresponding address

Prof. Laurence de Leval, MD PhD
Institute of Pathology, Department of Laboratory Medicine and Pathology, Lausanne University Hospital (CHUV) and Lausanne University
25 rue du Bugnon, 1011 Lausanne, Switzerland
laurence.deleval@chuv.ch

Funding. Open access funding provided by University of Lausanne

Declarations

Conflict of interest. L. de Leval and B. Bisig declare that they have no competing interests.

For this article no studies with human participants or animals were performed by any of the authors.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Open Access. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I et al (2022) The 5th edition of the world health organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia* 36:1720–1748
- Amador C, Bouska A, Wright G et al (2022) Gene expression signatures for the accurate diagnosis of peripheral T-cell lymphoma entities in the routine clinical practice. *J Clin Oncol* 40:4261–4275
- Amador C, Greiner TC, Heavican TB et al (2019) Reproducing the molecular subclassification of peripheral T-cell lymphoma-NOS by immunohistochemistry. *Blood* 134:2159–2170
- Bachy E, Camus V, Thieblemont C et al (2022) Romidepsin plus CHOP versus CHOP in patients with previously untreated peripheral T-cell lymphoma: results of the Ro-CHOP phase III study (conducted by LYSA). *J Clin Oncol* 40:242–251
- Campo E, Jaffe ES, Cook JR et al (2022) The international consensus classification of mature lymphoid neoplasms: a report from the clinical advisory committee. *Blood* 140:1229–1253
- Cording S, Lhermitte L, Malamut G et al (2022) Oncogenetic landscape of lymphomagenesis in coeliac disease. *Gut* 71:497–508
- de Leval L (2020) Chromosomes in breast lymphoma. *Blood* 136:2848–2849
- de Leval L, Alizadeh AA, Bergsagel PL et al (2022) Genomic profiling for clinical decision making in lymphoid neoplasms. *Blood* 140:2193–2227
- de Leval L, Feldman AL, Pileri S et al (2023) Extranodal T- and NK-cell lymphomas. *Virchows Arch* 482:245–264
- Dobay MP, Lemonnier F, Missiaglia E et al (2017) Integrative clinicopathological and molecular analyses of angioimmunoblastic T-cell lymphoma and other nodal lymphomas of follicular helper T-cell origin. *Haematologica* 102:e148–e151
- Feldman AL, Laurent C, Narbaitz M et al (2023) Classification and diagnostic evaluation of nodal T- and NK-cell lymphomas. *Virchows Arch* 482:265–279
- Heavican TB, Bouska A, Yu J et al (2019) Genetic drivers of oncogenic pathways in molecular subgroups of peripheral T-cell lymphoma. *Blood* 133:1664–1676
- Iqbal J, Wright G, Wang C et al (2014) Gene expression signatures delineate biological and prognostic subgroups in peripheral T-cell lymphoma. *Blood* 123:2915–2923
- Kato S, Yamashita D, Nakamura S (2020) Nodal EBV+ cytotoxic T-cell lymphoma: a literature review based on the 2017 WHO classification. *J Clin Exp Hematop* 60:30–36
- Laurent C, Delas A, Gaulard P et al (2016) Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma: two distinct clinicopathological variants with different outcomes. *Ann Oncol* 27:306–314
- Laurent C, Nicolae A, Laurent C et al (2020) Gene alterations in epigenetic modifiers and JAK-STAT signaling are frequent in breast implant-associated ALCL. *Blood* 135:360–370
- Luchtel RA, Dasari S, Oishi N et al (2018) Molecular profiling reveals immunogenic cues in anaplastic large cell lymphomas with DUSP22 rearrangements. *Blood* 132:1386–1398
- Luchtel RA, Zimmermann MT, Hu G et al (2019) Recurrent MSC (E116K) mutations in ALK-negative anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 133:2776–2789
- Nicolae A, Bouilly J, Lara D et al (2022) Nodal cytotoxic peripheral T-cell lymphoma occurs frequently in the clinical setting of immunodysregulation and is associated with recurrent epigenetic alterations. *Mod Pathol* 35:1126–1136
- Ondrejka SL, Amador C, Climent F et al (2023) Follicular helper T-cell lymphomas: disease spectrum, relationship with clonal hematopoiesis, and mimics—a report of the 2022 EA4HP/SH lymphoma workshop. *Virchows Arch* 483:349–365
- Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Tousseyn T et al (2023) New concepts in EBV-associated B, T, and NK cell lymphoproliferative disorders. *Virchows Arch* 482:227–244
- Roberti A, Dobay MP, Bisig B et al (2016) Type II enteropathy-associated T-cell lymphoma features a unique genomic profile with highly recurrent SETD2 alterations. *Nat Commun* 7:12602
- Savage KJ, Slack GW (2023) DUSP22-rearranged ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a pathogenetically distinct disease but can have variable clinical outcome. *Haematologica* 108:1463–1467
- Sibon D, Bisig B, Bonnet C et al (2023) ALK-negative anaplastic large cell lymphoma with DUSP22 rearrangement has distinctive disease characteristics with better progression-free survival: a LYSA study. *Haematologica* 108:1590–1603
- Soderquist CR, Patel N, Murty VV et al (2020) Genetic and phenotypic characterization of indolent T-cell lymphoproliferative disorders of the gastrointestinal tract. *Haematologica* 105:1895–1906
- Veloza L, Cavalieri D, Missiaglia E et al (2023) Monomorphic epitheliotropic intestinal T-cell lymphoma comprises morphologic and genomic heterogeneity impacting outcome. *Haematologica* 108:181–195
- Wai CMM, Chen S, Phyu T et al (2022) Immune pathway upregulation and lower genomic instability distinguish EBV-positive nodal T/NK-cell lymphoma from ENKTL and PTCL-NOS. *Haematologica* 107:1864–1879
- Xiao W, Gupta GK, Yao J et al (2019) Recurrent somatic JAK3 mutations in NK-cell enteropathy. *Blood* 134:986–991

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Was gibt es Neues bei der Klassifikation der peripheren T-Zell-Lymphomen?

In dem vorliegenden Übersichtsbeitrag liegt der Schwerpunkt auf den wesentlichen Modifikationen der aktuellen, 2022 eingeführten Klassifikation reifer T- (und NK-)Zell-Neoplasien, also peripherer T-Zell-Lymphome (PTCL) gemäß International Consensus Classification (ICC) und der Weltgesundheitsorganisation-Klassifikation (5. Auflage, WHO-HAEM5) sowie auf den daraus folgenden Auswirkungen auf die praktische Diagnostik. Die Veränderungen beruhen auf aktuellen Fortschritten in der genomischen und molekularen Charakterisierung der PTCL und einem vertieften Verständnis ihrer Pathobiologie. Insbesondere werden die folgenden Krankheitsgruppen berücksichtigt: Epstein-Barr-Virus (EBV)-assoziierte Neoplasien, follikuläres T-Helfer-Zell-Lymphom, anaplastische großzellige Lymphome, primäre intestinale T- und NK-Zell-Lymphome sowie lymphoproliferative Erkrankungen, außerdem nicht anderweitig spezifizierte PTCL.

Schlüsselwörter

Follikuläres T-Helfer-Zell-Lymphom · Anaplastische großzellige Lymphome · Intestinale T- und NK-Zell-Lymphome · Mutationen · Ursprungszelle

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S136–S139
 https://doi.org/10.1007/s00292-023-01258-6
 Accepted: 19 October 2023
 Published online: 27 November 2023
 © The Author(s), under exclusive licence to
 Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
 Springer Nature 2023

Primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders with *DUSP22* translocation

Santiago Montes-Moreno

Anatomic Pathology Service and Translational Hematopathology Lab, Hospital Universitario Marques de Valdecilla, Universidad de Cantabria, IDIVAL, Santander, Spain

Abstract

Primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders (LPD) encompass a broad category of clonal T cell proliferations with varied clinical presentations. Classically, lymphomatoid papulosis (LyP) and primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma (ALCL) have been recognized as distinct clinicopathological entities according to their differing clinical features. Recently, a subset of LyP and both cutaneous and systemic ALCL have been shown to carry a *DUSP22* translocation [1–3], a defining molecular feature for the novel entity “LyP with *DUSP22t*” [1]. In cutaneous biopsies, both primary cutaneous *DUSP22*-translocated ALCL and LyP with *DUSP22* rearrangements are characterized by a biphasic pattern with significant small cell epidermotropism. A distinct protein expression profile with preserved T Cell Receptor (TCR) expression, positivity for CD30, LEF1, HLA, and CD58, and negativity for cytotoxic marker expression as well as phospho-STAT3 protein is consistently found in these cases.

Keywords

CD30+ lymphoproliferative disorder · Cutaneous lymphoma · *DUSP22* · Anaplastic large T cell lymphoma · Lymphomatoid papulosis

Prevalence of *DUSP22* translocation in CD30+ LPD

Primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders (LPD) encompass a broad category of clonal T cell proliferations with varied clinical presentations. Classically, lymphomatoid papulosis (LyP) and primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma have been recognized as distinct clinicopathological entities according to

their differing clinical presentation and outcome. LyP cases are characterized by self-healing, but recurrent papular-nodular skin lesions and excellent prognosis. Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma (C-ALCL) is, however, characterized by solitary or localized nodular or rarely papular lesions. Multifocal lesions occur in 20% of cases and regional nodal dissemination in 10%. Importantly, systemic ALK-negative ALCL may secondarily involve



Scan QR code & read article online

Study	S-ALCL	C-ALCL	LyP
Parrilla Castellar et al. [4]	22/73	–	–
Feldman et al. [5]	0/1	8/14 (57%)	–
Pham-Ledard et al. [3]	–	6/23 (26%)	0/7
Wada et al. [2]	0/7	9/45 (20%)	1/32 (3%)
Karai et al. [1]	–	–	11/11 (100%)
Total	22/81 (27%)	23/82 (28%)	12/50 (24%)

S-ALCL systemic (ALK-negative) anaplastic large cell lymphoma, *C-ALCL* cutaneous anaplastic large cell lymphoma, *LyP* lymphomatoid papulosis

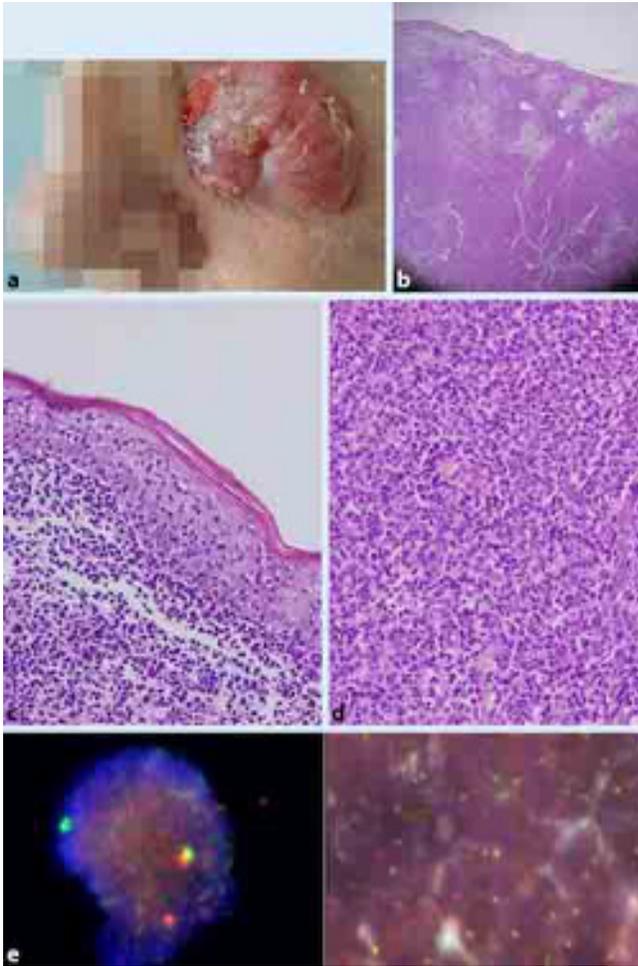


Fig. 1 ▲ *DUSP22*-rearranged cutaneous anaplastic large cell lymphoma (ALCL). **a** Macroscopic image showing a nodule in the cheek, **b** low-power hematoxylin & eosin (H&E) showing a dense dermal lymphoid infiltrate with epidermotropism. **c** H&E showing a pagetoid lymphoid infiltrate. **d** H&E showing a dense intermediate- to large-size lymphoid infiltration in the dermal component. **e** Fluorescent in situ hybridization (FISH) image showing a split signal using a break-apart probe against the 6p25 locus

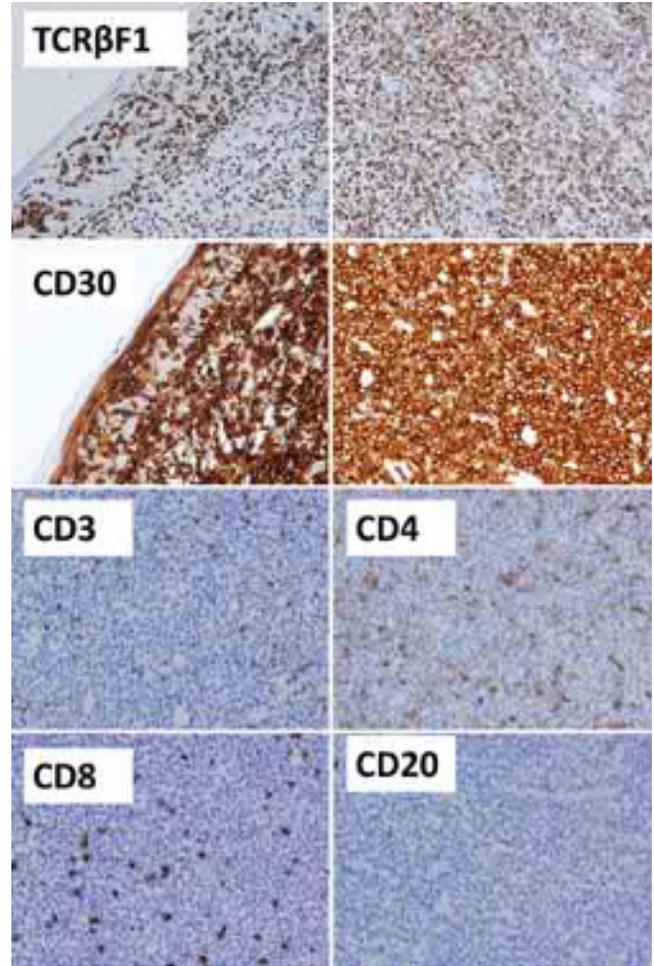


Fig. 2 ▲ Profile of *DUSP22*-rearranged cutaneous anaplastic large cell lymphoma (ALCL). Immunohistochemical analysis showing preserved T cell receptor (TCR) β 1 expression in both intraepidermal and dermal components with bright CD30 expression. Reduced/absent expression of CD3, CD4, CD8, and CD20 by the neoplastic cells

the skin and mimic the histopathological features of C-ALCL; therefore, PET/CT and bone marrow staging is required in cases with a histopathological diagnosis of anaplastic large cell lymphoma involving the skin to exclude systemic ALK-negative ALCL.

Recently, a subset of LyP and both cutaneous and systemic ALCL have been shown to carry a *DUSP22* translocation [1–3], a defining molecular feature for the novel entity “LyP with *DUSP22t*” [1]. The prevalence of *DUSP22* translocation varies little among systemic or cutaneous CD30+ LPD (~30%) (■ Table 1). In our institutional series, we found 4 out of 12 (33%) primary cutaneous ALCL cases with a *DUSP22* translocation (unpublished data).

Histopathological features of primary cutaneous CD30+ LPD with *DUSP22* translocation

Histopathological evaluation of cutaneous CD30+ LPD with a *DUSP22* translocation reveals, in most cases, a characteristic biphasic pattern with small yet atypical lymphoid cells with an epidermotropic pagetoid-reticulosis-like pattern and larger cells in the nodular dermal infiltrate. Dermal infiltration is characterized by intermediate- to large-size cells with intermingled frequent hallmark cells. High mitotic rate and abundant apoptotic bodies are commonly seen (■ Fig. 1).

Both components show bright CD30 expression and preserved TCR β 1 expres-

sion. Neoplastic cells are positive in all cases for at least one T cell antigen, including CD3 and/or the T cell receptor (TCR) β chain (TCR β F1), negative for ALK, and strongly and diffusely positive for CD30 [6, 7]. Expression of other T cell markers such as CD4 and CD8 is variable (■ Fig. 2).

This biphasic pattern is highly useful in the differential diagnosis, with systemic ALK-negative ALCL involving the skin that may show epidermotropism (■ Fig. 3). Importantly, however, cases of C-ALCL with *DUSP22* translocation with usual histopathological features (i.e., absence of biphasic pattern) have been described [8]. Cases with LyP with *DUSP22* translocation show this biphasic pattern consistently [1].

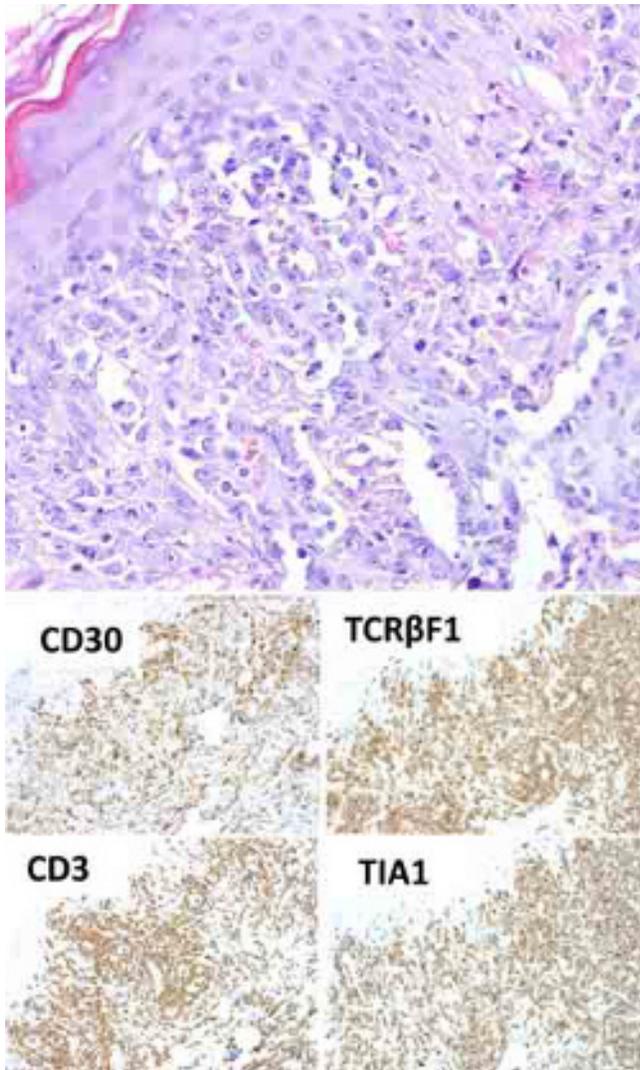


Fig. 3 ◀ Systemic anaplastic lymphoma kinase (ALK)-negative anaplastic large cell lymphoma (ALCL) with cutaneous involvement. The patient had multifocal nodules in the abdomen and legs and multiple lymphadenopathies. **a** Hematoxylin & eosin (H&E) showing a dermal large cell infiltrate with epidermal involvement by large cells. Immunohistochemical analysis showed expression of CD3, CD30, and T cell receptor (TCR) β F1, and preserved expression of cytotoxic markers such as TIA1. Clonal rearrangements of TCR were identified and *DUSP22/6p25* was not rearranged by fluorescent in situ hybridization (FISH, not shown)

Recently, expression of LEF1 without Wnt pathway activation markers as well as reduced/absent expression of phospho-STAT3 and cytotoxic markers with preserved HLA and CD58 expression have been also described in both systemic and cutaneous *DUSP22*-rearranged ALK-ALCL [9, 10]. Activation of the CD30-IRF4-MYC axis with overexpression of surrogate proteins is also a feature, particularly in cases with *MSCE116K* mutations [11].

Genetic and expression features of *DUSP22*-rearranged ALCL

Beyond *DUSP22* translocation, a variety of genetic and gene expression features have been described for *DUSP22*-translocated ALK-negative ALCL. Although most of the evidence in this regard derives from systemic ALK-negative ALCL, some cases of

C-ALCL have been analyzed with concordant results. Importantly, some of these molecular and expression features may be exploited for diagnostic purposes.

DUSP22-rearranged ALCL have been shown to lack STAT3 activation, in sharp contrast with ALK+ ALCL. *DUSP22*-translocated ALCL cases show a depletion in the expression of genes in the IL6-JAK-STAT3 pathway and reduced PD-L1 expression. These features, together with preserved CD58 and HLA expression, allow the immune recognition of tumor cells and may explain its partially favorable outcomes [10]. Immunohistochemical analysis of the expression of phospho-STAT3 protein, as well as other surrogate markers of pathway activation (phospho-STAT1, phospho-STAT5), shows a consistently reduced expression in tumor cells, in both systemic and C-ALCL with *DUSP22* translocations

[10]. Interestingly, these cases additionally show reduced/absent expression of the cytotoxic molecules TIA1, granzyme B, and perforin.

Recently, a recurrent somatic mutation in the musclin gene (*MSCE116K* mutation, COSV106414532) has been described to occur in 6% of T-NHL and largely confined to ALK-negative ALCL. Other somatic mutations in the gene have, however, been described in solid cancer of different histotypes. Importantly in the single case series published so far, 93% (14/15) of the cases harboring the *MSCE116K* mutation had coexisting *DUSP22* rearrangements [11].

Musclin is a basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factor that heterodimerizes with other bHLH proteins to regulate lymphocyte development. The E116K mutation localizes to the DNA-binding domain of musclin and was shown to reverse E2F2-induced cell cycle arrest and promote expression of the CD30-IRF4-MYC axis, with consistent MYC overexpression detected in tumor samples by IHC analysis [11].

In summary, available evidence demonstrates that CD30+ ALCL with *DUSP22* translocation shows uniform gene expression profile and genetic features common to systemic and cutaneous forms. A distinct protein expression profile with preserved TCR expression, positivity for CD30, LEF1, HLA, and CD58, and negativity for cytotoxic marker expression as well as phospho-STAT3 protein is consistently found in these cases. In cutaneous biopsies, both primary cutaneous *DUSP22*-translocated ALCL and LyP with *DUSP22* rearrangements are characterized by a biphasic pattern with significant small cell epidermotropism. This feature is highly characteristic of *DUSP22*-rearranged cutaneous CD30+ LPD but is not always present, and some cases of C-ALCL with *DUSP22* translocation may show usual ALCL features, without epidermotropism [8].

Corresponding address

Santiago Montes-Moreno, MD, PhD
Anatomic Pathology Service and Translational Hematopathology Lab, Hospital Universitario Marques de Valdecilla, Universidad de Cantabria, IDIVAL
Santander, Spain
santiago.montes@scsalud.es

Declarations

Conflict of interest. S. Montes-Moreno declares that he has no competing interests.

For this article no studies with human participants or animals were performed by any of the authors. All studies mentioned were in accordance with the ethical standards indicated in each case. Informed consent was obtained from all individual participants from whom identifying information is included in this article.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

References

- Karai LJ, Kadin ME, Hsi ED et al (2013) Chromosomal rearrangements of 6p25.3 define a new subtype of lymphomatoid papulosis. *Am J Surg Pathol* 37(8):1173–1181
- Wada DA, Law ME, Hsi ED et al (2011) Specificity of IRF4 translocations for primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma: a multicenter study of 204 skin biopsies. *Mod Pathol* 24(4):596–605
- Pham-Ledard A, Prochazkova-Carlotti M, Laharanne E et al (2010) IRF4 gene rearrangements define a subgroup of CD30-positive cutaneous T-cell lymphoma: a study of 54 cases. *J Invest Dermatol* 130(3):816–825
- Parrilla Castellar ER, Jaffe ES, Said JW et al (2014) ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood* 124(9):1473–1480
- Feldman AL, Law M, Remstein ED et al (2009) Recurrent translocations involving the IRF4 oncogene locus in peripheral T-cell lymphomas. *Leukemia* 23(3):574–580
- Onaindia A, de Villambrosia SG, Prieto-Torres L et al (2019) DUSP22-rearranged anaplastic lymphomas are characterized by specific morphological features and a lack of cytotoxic and JAK/STAT surrogate markers. *Haematologica* 104(4):E158–E162
- Onaindia A, Montes-Moreno S, Rodriguez-Pinilla SM et al (2015) Primary cutaneous anaplastic large cell lymphomas with 6p25.3 rearrangement exhibit particular histological features. *Histopathology* 66(6):846–855
- Oschlies I, King RL, Dotlic S et al (2020) The clinicopathological spectrum of primary cutaneous lymphoma other than mycosis fungoides/Sezary syndrome. *Virchows Arch* 476(5):683–699
- Ravindran A, Feldman AL, Ketterling RP et al (2021) Striking association of lymphoid enhancing factor (LEF1) overexpression and DUSP22 rearrangements in anaplastic large cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 45(4):550–557
- Luchtel RA, Dasari S, Oishi N et al (2018) Molecular profiling reveals immunogenic cues in anaplastic large cell lymphomas with. *Blood* 132(13):1386–1398
- Luchtel RA, Zimmermann MT, Hu G et al (2019) Recurrent MSC E116K mutations in ALK-negative anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 133(26):2776–2789

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Primär kutane CD30-positive lymphoproliferative Erkrankungen mit DUSP22-Translokation

Zu den primär kutanen CD30-positiven lymphoproliferativen Erkrankungen (LPD) gehört ein breites Spektrum von klonalen T-Zell-Proliferationen mit unterschiedlichen klinischen Symptomen. Als klassische verschiedene klinisch-pathologische Entitäten gemäß ihren unterschiedlichen klinischen Merkmalen sind die lymphomatoide Papulose (LyP) und das primär kutane anaplastische großzellige Lymphom (ALCL) anerkannt. Vor Kurzem wurde für eine Untergruppe von LyP und sowohl kutanen als auch systemischen ALCL nachgewiesen, dass die Patienten Träger einer DUSP22-Translokation sind [1–3], ein definierende molekulare Merkmal der neuen Entität „LyP mit DUSP22t“ [1]. In kutanen Biopsien zeichnen sich sowohl primär kutane DUSP22-translozierte ALCL und LyP mit DUSP22-Rearrangements durch ein biphasisches Muster mit deutlichem kleinzelligem Epidermotropismus aus. Ein klar abgrenzbares Proteinexpressionsprofil mit erhaltener T-Zell-Rezeptor(TCR)-Expression, Positivität für CD30, LEF1, HLA und CD58 sowie Negativität für die Expression zytotoxischer Marker und von Phospho-STAT3-Protein ist ein konsistenter Befund in diesen Fällen.

Schlüsselwörter

CD30-positive lymphoproliferative Erkrankung · Kutanes Lymphom · DUSP22 · Anaplastisches großzelliges Lymphom · Lymphomatoide Papulose

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S140–S143
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01265-7
Angenommen: 19. Oktober 2023
Online publiziert: 27. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

3D/4D strategische Lymphknotendiagnostik

Die 4D-Darstellung des humanen Lymphknotens ermöglicht die Beobachtung und Interpretation des Immunsystems in Raum und Zeit

Martin-Leo Hansmann^{1,2}

¹Goethe-Universität Frankfurt, Frankfurt, Deutschland

²Konsultations- und Referenzzentrum für Haematopathologie, Helios Universitätsklinikum Wuppertal, Wuppertal, Deutschland

Zusammenfassung

Hintergrund: Diagnosen im Lymphknoten werden an dünnen gefärbten Schnittpräparaten mithilfe von Immunhistochemie im Lichtmikroskop gestellt und molekularpathologisch ergänzt.

Fragestellung: Welche wissenschaftlichen und diagnostischen Möglichkeiten bieten 3D- und 4D-Lymphknotenuntersuchungen mit Laserscanning und Computertechnologien? Welchen Stellenwert hat das maschinelle Lernen bei der komplexen Datenanalyse.

Ergebnisse: In verschiedenen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Analyse in Raum und Zeit (3D/4D) von Lymphknotengewebe zahlreiche neue Informationen bezüglich Biologie und Diagnostik hervorbringt und exzellent für Auswertungen mit maschinellem Lernen geeignet ist.

Schlussfolgerung oder Diskussion: Die 3D- und 4D-Darstellung von humanem lymphatischem Gewebe erschließt neue Einblicke in immunologische Prozesse und maligne Lymphome. Eine Anwendung dieser Technologie in der Diagnostik erscheint nach ihrer Validierung auf klinische Relevanz realistisch.

Schlüsselwörter

Menschlicher Lymphknoten · Maligne Lymphome · Lymphknoten Diagnostik · Maschinelles Lernen

Lymphknotenerkrankungen werden am histologischen Schnitt im Mikroskop diagnostiziert. Für die Diagnose und die Unterscheidung zwischen gut und bösartig sind die Zytologie und die Anordnung der Zellen wichtig. Untersuchungen von fixiertem oder lebendem Lymphknotengewebe als Netzwerk in Raum und Zeit (3D/4D) haben bisher keine diagnostische Bedeutung. Mit neuen Möglichkeiten dieser Technologien beim Menschen beschäftigt sich diese Arbeit.

Das Immunsystem ist ein dezentrales System, welches beim Menschen ca. 600 Lymphknoten beinhaltet. Die Lymphknoten sind zwischen Lymphe und Blut

geschaltet und erfüllen eine Reihe von lebenswichtigen Aufgaben. Sie haben das Ziel, die Lymphflüssigkeit zu reinigen und bei dieser Reinigung Antigene herauszufiltern, die Konzentration der Antigene zu erhöhen und Reaktionen gegen bestimmte Antigene wie Bakterien, Viren, Tumorzellen und andere durchzuführen. Um diese Aufgaben effizient zu erfüllen, sind die Lymphknoten in getrennte Räume, sogenannte Kompartimente, eingeteilt. Diese sind: Sinus, B-Zell-Region (Keimzentrum), T-Zell-Region, Mantelzone, Marginalzone, Medulla. Die Kompartimente enthalten spezifische Systeme wie T-Zellen, B-Zellen, antigenpräsentierende Zellen, Makrophagen und andere, die die



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

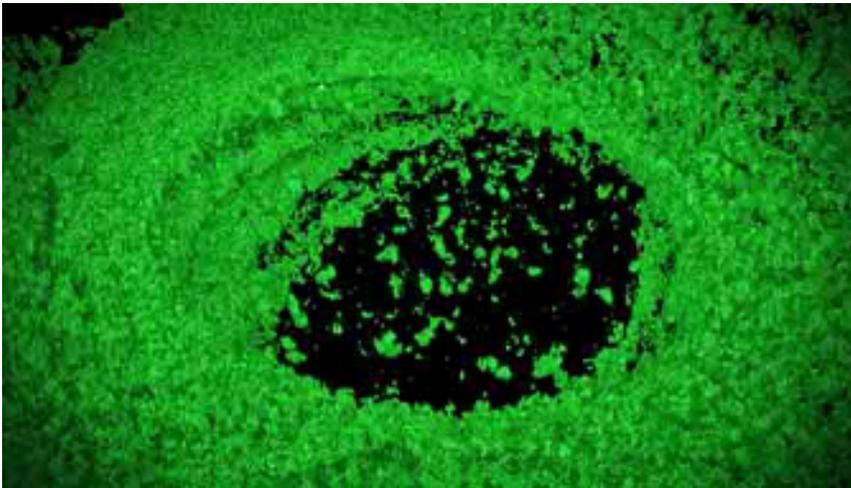


Abb. 1 ▲ 3D-Darstellung der Mantelzone eines humanen Keimzentrums (IgD-Immunfluoreszenz in grün, übereinander gelagerte Rekonstruktion von jeweils 18 µm dicken Paraffinschnitten)

Prozessierung der Antigene und die Effizienz der Immunreaktionen gewährleisten (■ Abb. 1).

Struktur bedeutet Funktion

Der Lymphknoten geht bei seinen Reaktionen schrittweise vor. Ist Antigen nicht oder in zu geringen Mengen vorhanden, besteht die Funktion des Immunsystems darin, dass naive Zellen in den jeweiligen Kompartimenten patrouillieren und der Lymphknoten somit ein relativ kleines Volumen hat. Entstehen größere Mengen von Antigenen, bspw. für den Menschen gefährliche Antigene, entwickelt sich im Lymphknoten eine Entzündungsreaktion. Hierbei nimmt der Lymphknoten an Volumen zu. Der Abfluss der efferenten Gefäße wird gedrosselt. Insgesamt wird die Zahl der immunkompetenten Zellen im Lymphknoten erhöht.

Ein für den Organismus gefährliches Antigen muss schnellstmöglich erkannt und in kurzer Zeit auf geringstem Raum eliminiert werden. Hier greift die Arbeitsteilung der verschiedenen Komponenten, die Antigene, je nach Größe, im Randsinus, in der T-Zone oder auch im Keimzentrum prozessiert. Je nach Art des Antigens werden die Immunreaktionen spezifiziert und stellen eine Interaktion zwischen T-Zellen, antigenpräsentierenden Zellen, B-Zellen und Makrophagen dar.

Die übliche Lymphknotendiagnostik beschränkt sich in der Regel auf die Untersuchung von Gewebeschnitten im

Lichtmikroskop in 2D und wird wesentlich ergänzt durch immunhistochemische Darstellungen der unterschiedlichen Zellarten. Bei immunologischen Prozessen ist es entscheidend, dass die Immunreaktion am richtigen Ort und zur richtigen Zeit erfolgt. Um den Ort exakt zu lokalisieren, bedarf es einer Darstellung des Gewebes im 3D.

Eine 3D-Darstellung des Gewebes ist möglich, indem man statt 2 µm dicke Schnitte deutlich dickere Schnitte von ca. 20 µm Dicke anfertigt und diese dann mit Antikörpern inkubiert. Die Darstellung erfolgt im Laser-Scanning-Mikroskop [4, 5, 10]. Die unterschiedlichen Ebenen der Visualisierung in Form fluoreszierender Antikörper werden im Computer zusammengefügt und in einer räumlichen Darstellung sichtbar gemacht. Der Vorteil dieser Vorgehensweise liegt unter anderem darin, dass man nun die Zellen auch in ihrer Oberflächenstruktur sichtbar machen, das Volumen berechnen [6, 7] und die Zellkontakte untereinander als Netzwerke [5] oder sogenannte Konnektome [4] räumlich gut erkennen kann. Diese 3D-Netzwerke können relativ einfach mit Computerprogrammen (z. B. Imaris [Oxford Instruments, Abingdon, UK]) berechnet werden und zuverlässige Aussagen über Zellinteraktionen erbringen, die mit konventionellen 2D-Verfahren so nicht möglich wären. Die 3D-Untersuchung ist daher im Lymphknoten und im Immunsystem eine Darstellung und Analyse von Netzwerken, die ein stati-

sches Bild von Interaktionen des T-Zell-Systems und des B-Zell-Systems oder der antigenpräsentierenden Zellen gestattet.

Von unserer Arbeitsgruppe wurden systematisch im humanen Lymphknoten 3D-Daten der Kompartimente wie Randsinus, Keimzentrum, T-Zone, Medulla und anderen erhoben. Die 3D-Untersuchungen des reaktiven Lymphknotens wurden um Daten von Lymphknotenneoplasien, speziell verschiedener maligner Lymphome [8] wie Hodgkin-Lymphom, follikuläres Lymphom, diffus großzellige Lymphome u. a., ergänzt.

4D-Darstellung des humanen Lymphknotens

Im 3D ist jedoch nicht berücksichtigt, dass alle immunologischen Prozesse dynamische Vorgänge sind, die ihre Abbildung nicht nur im Raum, sondern in Raum und Zeit finden. Somit ist es ein großer Vorzug und Fortschritt, den Lymphknoten und seine Komponenten in Raum und Zeit, also in 4D abzubilden. Hierbei wird so vorgegangen, dass das Gewebe noch am Leben ist und dicke (ca. 300 µm) Gewebeschnitte von Lebendgewebe hergestellt werden. Diese werden wiederum mit geeigneten fluoreszierenden Antikörpern inkubiert und dann im Laser-Scanning-Mikroskop sichtbar gemacht. Die hierzu notwendigen Schritte wurden von unserer Arbeitsgruppe in Kooperation mit einer französischen Arbeitsgruppe (Emmanuel Donnadieu) etabliert und publiziert [2].

Die 4D-Darstellung des Lymphknotens erlaubt ganz neue Einblicke nicht nur in immunologische reaktive Prozesse, sondern auch in die Funktionen des Lymphknotens einschließlich der unterschiedlichen Neoplasien, speziell der verschiedenen Arten von malignen Lymphomen ([3], ■ Abb. 2). So konnten wir zunächst am reaktiven Lymphknoten zeigen, dass PD1-positive T-Zellen im Keimzentrum unterschiedliche Geschwindigkeiten haben. Die Geschwindigkeiten sind umso höher, je peripherer in Keimzentrum die PD1-positiven Zellen lokalisiert sind. Zum Zentrum hin nehmen die Geschwindigkeiten ab [1].

Bisher wurde nur eine begrenzte Zahl maligner Lymphome im 4D untersucht. Hierbei zeigte sich, dass sich maligne Lymphome durch die Geschwindigkeiten ih-

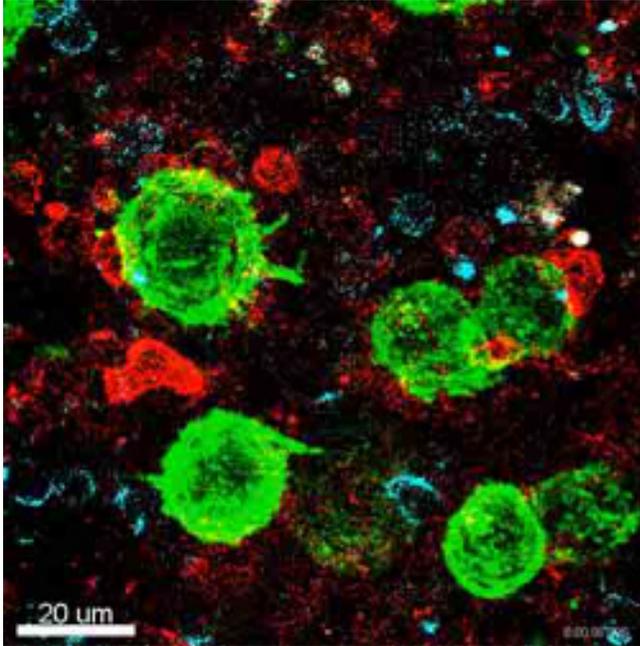


Abb. 2 ◀ Standbild einer 4D-Darstellung (Film) eines klassischen Hodgkin-Lymphoms. Immunfluoreszenz: grün Hodgkin-Zellen, rot PD1-positive Lymphozyten, blau B-Lymphozyten

re Zellkomponenten sowie die Tracks der einzelnen Zellen unterscheiden. Von besonderer Bedeutung stellten sich die interzellulären Kontakte und insbesondere die Kontaktzeiten heraus [3]. Mit den verschiedenen Kontaktzeiten war es möglich, unterschiedliche Lymphomtypen zu erkennen. Auch eine Unterscheidung zwischen Hodgkin- und Non-Hodgkin-Lymphom erscheint möglich, soweit die bisherigen Fallzahlen aussagekräftig sind. Die Hodgkin-Lymphome sind im Gegensatz zu den Non-Hodgkin-Lymphomen dadurch charakterisiert, dass sich die T-Zellen auf die Tumorzellen zubewegen und diese dann kreisförmig umfahren (Screening). Diese Prozesse erscheinen eher weniger typisch für Non-Hodgkin-Lymphome.

Lymphknotenmodelle

Um ein Lymphknotenmodell zu entwickeln, müssen genügend Daten, die den Lymphknoten beschreiben, vorliegen. Diese können genutzt werden, um ein Modell herzustellen, welches dann für bestimmte Zwecke zur Simulation definierter Vorgänge genutzt werden kann. Regeln können dann unter Umständen mit KI-Verfahren generiert werden.

Unsere Arbeitsgruppe hat den Versuch unternommen, ein Petri-Modell eines humanen Lymphknotens zu etablieren [9]. Das Petri-Modell beschreibt die Wande-

lung und Interaktion immunkompetenter Zellen zwischen verschiedenen Kompartimenten der Lymphknoten. Das Modell wurde mit einem kontinuierlichen Influx von Antigenen simuliert. Nun war es möglich, verschiedene Parameter wie Antigeninflux und Antikörperproduktion zu testen. Auf diese Weise konnte eine semiquantitative Dynamik des Modells und seiner Immunantwort in der Adaptation zum Antigen untersucht werden. Die ins Modell eingebrachten Daten wurden im Lymphknoten als 3D-Daten gewonnen und schließlich auf 2D-Daten reduziert.

KI-Generierung von Regeln in dynamischen zellulären Systemen humaner Lymphknoten

3D-Bilder wie auch bewegte Bildsequenzen (4D) sind häufig sehr komplex und mit dem menschlichen Auge schwer oder auch gar nicht auszuwerten. Das liegt u. a. daran, dass viele Zellen, die gleichzeitig in Raum und Zeit dargestellt werden, unterschiedliche Geschwindigkeiten und Morphologien sowie Wege haben.

Die Videosequenzen von humanem lymphatischem Gewebe wurden aus verschiedenen Kanälen extrahiert. Anschließend wurden die Tracks von unterschiedlichen Zellarten (B-Zellen, T-Zellen und antigenpräsentierenden Zellen) analysiert. Hierbei wurden bewegungsasso-

ziierte und morphologische Parameter herangezogen. Es konnten Korrelationen zwischen den Bewegungen von folliculären dendritischen Retikulumzellen und denen von B-Zellen im Keimzentrum dargestellt werden [11]. Auch erwies sich die Kombination zwischen Morphologie in verschiedenen Zeitzuständen und Bewegung als ein wichtiger Parameter in der Definition von Zellen in Bezug zu CD-Clustern. T-Zellen ließen sich von B-Zellen durch ihre höhere Geschwindigkeit unterscheiden. Mithilfe von maschinellem Lernen erscheint es möglich, über CD-Cluster hinaus neue Subgruppen von Lymphozyten zu identifizieren, die besondere Bewegungseigenschaften besitzen. Die Kombination von 4D-Darstellungen mit maschinellem Lernen eröffnet neue Möglichkeiten, Charakteristika von Lymphozyten herauszufinden, die in der 2D-Histologie nicht sichtbar sind.

Fazit für die Praxis

4D-Darstellungen vom Lymphknoten gestalten ein funktionelles Verständnis von Morphologie in Raum und Zeit.

Korrespondenzadresse



Prof. Dr. Martin-Leo Hansmann

Konsultations- und Referenzzentrum für Hämatopathologie, Helios Universitätsklinikum Wuppertal
Heusnerstr. 40, 42283 Wuppertal, Deutschland
m.l.hansmann@em.uni-frankfurt.de

Danksagung. Yvonne Steiner für die technische Hilfe, weiterhin Prof. Dr. Sylvia Hartmann, Patrick Wurzel, Dr. Hendrik Schäfer, Sonja Scharf und Wolfgang Steiger für die Zusammenarbeit und Diskussion.

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. M.-L. Hansmann gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Die Arbeiten an menschlichem Gewebe in den geschilderten Projekten sind durch entsprechende Ethikvoten abgedeckt.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

- Donnadieu E, Reisinger KB, Scharf S, Michel Y, Bein J, Hansen S, Loth AG, Flinner N, Hartmann S, Hansmann ML (2020) Landscape of T follicular helper cell dynamics in human germinal centers. *J Immunol* 205(5):1248–1255. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901475>
- Donnadieu E, Michel Y, Hansmann ML (2019) Live imaging of resident T-cell migration in human lymphoid tissue slices using confocal microscopy. *Methods Mol Biol* 1930:75–82. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9036-8_10
- Hartmann S, Scharf S, Steiner Y, Loth AG, Donnadieu E, Flinner N, Poeschel V, Angel S, Bewarder M, Bein J, Brunnberg U, Bozzato A, Schick B, Stilgenbauer S, Bohle RM, Thurner L, Hansmann ML (2021) Landscape of 4D Cell Interaction in Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphomas. *Cancers* 13(20):5208. <https://doi.org/10.3390/cancers13205208>
- Liebers J, Wurzel P, Reisinger KB, Hansmann ML (2019) 3D image analysis reveals differences of CD30 positive cells and network formation in reactive and malignant human lymphoid tissue (classical Hodgkin Lymphoma). *PLoS ONE* 14(10):e224156. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224156>
- Lumer L, Wurzel P, Scharf S, Schäfer H, Ackermann J, Koch I, Hansmann ML (2021) 3D connectomes of reactive and neoplastic CD30 positive lymphoid cells and surrounding cell types. *Acta Histochem* 123(5):151750. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2021.151750>
- Oswald MS, Wurzel P, Hansmann ML (2019) 3D analysis of morphological alterations of the fibroblastic reticular cells in reactive and neoplastic human lymph nodes. *Acta Histochem* 121(7):769–775. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2019.07.002>
- Oswald MS, Hansmann ML (2018) 3D approach visualizing cellular networks in human lymph nodes. *Acta Histochem* 120(8):720–727. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.08.001>
- Sadeghi Shoreh Deli A, Scharf S, Steiner Y, Bein J, Hansmann ML, Hartmann S (2022) 3D analyses reveal T cells with activated nuclear features in T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma. *Mod Pathol* 35(10):1431–1438. <https://doi.org/10.1038/s41379-022-01016-8>
- Scharf S, Ackermann J, Bender L, Wurzel P, Schäfer H, Hansmann ML, Koch I (2023) Holistic view on the structure of immune response: petri net model. *Biomedicines* 11(2):452. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020452>
- Thomos M, Wurzel P, Scharf S, Koch I, Hansmann ML (2020) 3D investigation shows walls and wall-like structures around human germinal centres, probably regulating T- and B-cell entry and exit. *PLoS ONE* 15(11):e242177. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242177>

3D/4D strategic lymph node diagnostics. The 4D representation of the human lymph node enables the observation and interpretation of the immune system in space and time

Background: Lymph-node diagnostics is performed using thin sections, with help of immunohistochemistry by light microscopy and supplemented by molecular pathology.

Objectives: Which are the scientific and diagnostic perspectives of 3D and 4D lymph node investigations, using laser, scanning, and computer technologies? What is the impact of machine learning in complex data analysis.

Results: It was shown in different investigations that the analysis in space and time (3D/4D) of lymph node tissue is able to provide a lot of new information concerning biology and diagnostics and enable excellent evaluations applying machine learning.

Conclusion or discussion: 3D and 4D analysis of human lymphoid tissue gives new insights into immunologic mechanisms and malignant lymphomas.

Keywords

Human lymph node · Malignant lymphomas · Lymph node diagnostics · Machine learning

- Wagner P, Strodthoff N, Wurzel P, Marban A, Scharf S, Schäfer H, Seegerer P, Loth A, Hartmann S, Klauschen F, Müller KR, Samek W, Hansmann ML (2022) New definitions of human lymphoid and follicular cell entities in lymphatic tissue by machine learning. *Sci Rep* 12(1):18991. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18097-9>

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Klonale Hämatopoese und Knochenmarkinfiltration bei Patienten mit einem nodalen Lymphom der T-follikulären Helferzellen

Dominik Nann^{1,2} · Falko Fend¹ · Leticia Quintanilla-Martinez¹

¹ Institut für Pathologie und Neuropathologie, Universitätsklinikum Tübingen und Comprehensive Cancer Center, Tübingen, Deutschland

² Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

Zusammenfassung

Das Lymphom der T-follikulären Helferzellen (TFH) ist ein Lymphom der reifen T-Zellen mit den Charakteristika von TFH-Zellen. Dieses Lymphom ist charakterisiert durch Mutationen u. a. in *RHOA*^{G17V}, *IDH2*^{R172}, *TET2* und *DNMT3A*. Während *RHOA* und *IDH2* nahezu exklusiv in dieser Entität gefunden werden, finden sich *TET2*- und *DNMT3A*-Mutationen in sehr vielen hämatologischen Neoplasien und sind die am häufigsten betroffenen Gene im Rahmen der klonalen Hämatopoese, welche eine Progressionsrate hin zu einer manifesten hämatologischen Neoplasie in ungefähr 0,5–1 % pro Jahr zeigt. Im Jahr 2018 wurde der erste Fall beschrieben, in dem gezeigt wurde, dass eine gemeinsame mutierte hämatopoetische Vorläuferzelle zu einer lymphatischen (TFH-Lymphom) und einer myeloischen (akute myeloische Leukämie) Erkrankung führen kann, jeweils mit zum einen gleichen und zum anderen aber auch individuellen Mutationen. Weitere Studien zeigten in den letzten Jahren, dass bis zu 70 % der Patienten mit einem TFH-Lymphom die gleichen Mutationen in *TET2* und *DNMT3A* in den myeloischen Zellen wie im Lymphom zeigen, unabhängig von einer Knochenmarkinfiltration, was eine prominente Rolle der klonalen Hämatopoese in der Pathogenese von TFH-Lymphomen unterstreicht. In bis zu 18 % dieser Patienten zeigen sich auch synchron oder metachron manifeste myeloische Neoplasien, häufig mit eigenen MDS-typischen Mutationen. Zusätzlich gibt es aktuell auch Hinweise, dass zwei verschiedene lymphatische Neoplasien von einer gemeinsamen mutierten Vorläuferzelle abstammen können. TFH-Lymphome, die assoziiert sind mit einer zusätzlichen hämatologischen Neoplasie, zeigen öfters hohe Allelfrequenzen von *TET2* und oft auch mehr als eine Mutation, was eine mögliche Rolle in der Überwachung dieser Patienten spielen könnte.

Schlüsselwörter

TFH-Zellen · CHIP-Mutation · Knochenmark · Myeloische Neoplasie · Klonale Evolution



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Fallpräsentation

Ein 81-jähriger Mann präsentierte sich mit einer disseminierten Lymphommanifestation in verschiedenen Lymphknoten, einer Hepatosplenomegalie sowie mit Pleuraergüssen, insgesamt passend zu einem klinischen Stadium IVA. Der zur

histopathologischen Aufarbeitung über-sandte axilläre Lymphknoten (■ **Abb. 1a**) zeigte zwar keine eindeutige Vergrößerung, jedoch eine komplett aufgehobene Lymphknotenarchitektur inklusive einer Infiltration des Fettgewebes. In der höheren Vergrößerung zeigte sich das typische Bild eines Lymphoms der T-follikulären

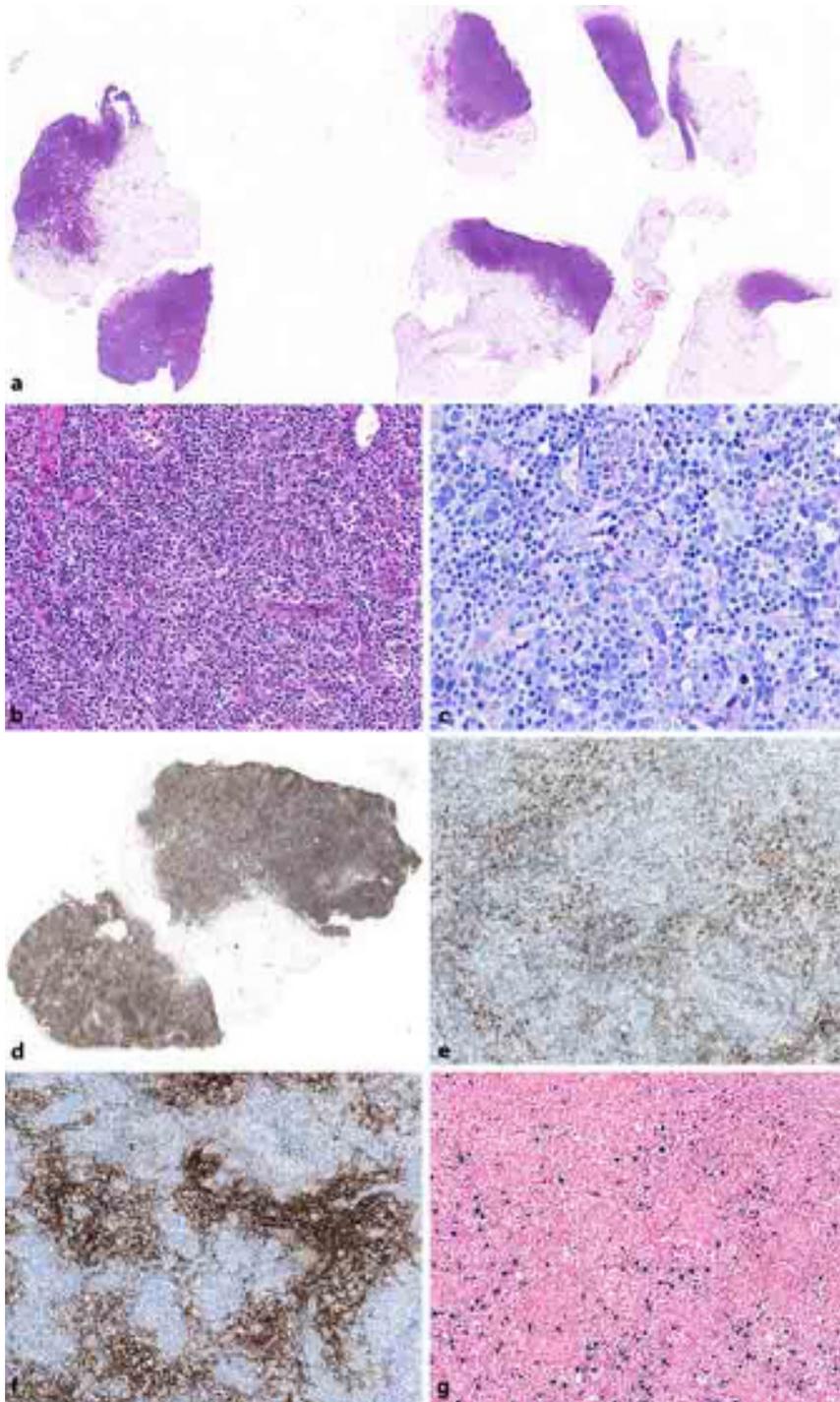


Abb. 1 ▲ Lymphknoten mit Infiltraten durch das TFH-Lymphom (T-follikuläre Helferzellen): a Der axilläre Lymphknoten zeigt zwar keine eindeutige Vergrößerung, jedoch eine komplett aufgehobene Lymphknotenarchitektur sowie eine Infiltration des Fettgewebes (Hämatoxylin- und Eosin-Färbung [HE], Übersicht). b, c In der höheren Vergrößerung findet sich das typische Bild eines TFH-Lymphoms mit einem relativ polymorphzelligen Infiltrat aus verschiedenen Zellarten sowie auch große prominente Gefäßstrukturen (b HE, Vergr. 200:1 [Originalvergrößerung], c Giemsa, Vergr. 400:1). d In der CD3-Immunhistochemie zeigt sich eine diffuse Positivität ohne eine regelrechte Verteilung in Follikelstrukturen und einen interfollikulären Bereich (CD3, Übersicht). e PD1 zeigt zahlreiche positive eingestreute Zellen mit kräftiger Positivität (PD1, Vergr. 80:1). f Es findet sich eine deutliche Proliferation von FDC-Netzwerken (CD21, Vergr. 80:1). g Nachweis von zahlreichen EBV-positiven Zellen (EBV In-situ-Hybridisierung, Vergr. 200:1)

Helferzellen (TFH) mit einem relativ bunten Bild an verschiedenen Zellen von kleinen Lymphozyten über mittelgroße bis hin zu großen blastär imponierenden Zellen (■ Abb. 1b, c). Eingestreut fanden sich immer wieder auch prominente Gefäßstrukturen. In der immunhistochemischen Aufarbeitung zeigt sich eine diffuse Positivität für CD3 ohne die typische Verteilung in Follikel und einen interfollikulären Bereich (■ Abb. 1d). Es zeigte sich eine diffuse Positivität für PD1 (■ Abb. 1e) und CD21 markierte eine deutliche Proliferation der follikulär dendritischen Zellen (FDC; ■ Abb. 1f). Eingestreut waren außerdem zahlreiche EBV-positive Zellen nachweisbar (■ Abb. 1g). Das parallel entnommene Knochenmarkbiopsat (■ Abb. 2a, b) zeigte kleinste Infiltrate durch das Lymphom mit einer immunhistochemischen Positivität für CD3 (■ Abb. 2c) und PD1 (■ Abb. 2d). Eine bereits 3 Jahre zuvor entnommene Knochenmarkbiopsie (■ Abb. 2e bis h) zeigte zwar keine Infiltrate durch ein Lymphom, das Knochenmarkbiopsat war jedoch hyperzellulär mit einer gesteigerten Megakaryopoese mit teils irregulären Zellformen (■ Abb. 2e). Außerdem fand sich eine gesteigerte und linksverschobene Erythropoese mit Zeichen der Dysplasie (■ Abb. 2f). Die Granulopoese war eher reduziert und linksverschoben (■ Abb. 2g). In der parallel durchgeführten Zytologie konnten 65% Ringsideroblasten nachgewiesen werden (■ Abb. 2h). Eine NGS-basierte Klonalitätsanalyse (OncoPrint™ TCR beta assay, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) bewies die Infiltration des zweiten, parallelen Knochenmarks mit dem gleichen Klon wie er im Lymphknoten zu detektieren war, wogegen das erste Knochenmarkbiopsat 3 Jahre vor der Lymphomdiagnose ein polyklonales Muster aufwies (■ Abb. 3). Die außerdem durchgeführte Mutationsanalyse zeigte im ersten Knochenmarkbiopsat eine *TET2*-, eine *DNMT3A*- und eine *SF3B1*-Mutation, was die Diagnose eines myelodysplastischen Syndroms mit *SF3B1*-Mutation (MDS-*SF3B1*) bestätigte. Das zweite Knochenmark sowie das Lymphom zeigten eine zusätzliche *TET2*-Mutation. Das Lymphom selbst zeigte zwar keine *SF3B1*-Mutation, jedoch eine zusätzliche *RHOA*-Mutation. Dieser Fall zeigt eindrücklich das Auftreten eines TFH-Lymphoms sowie

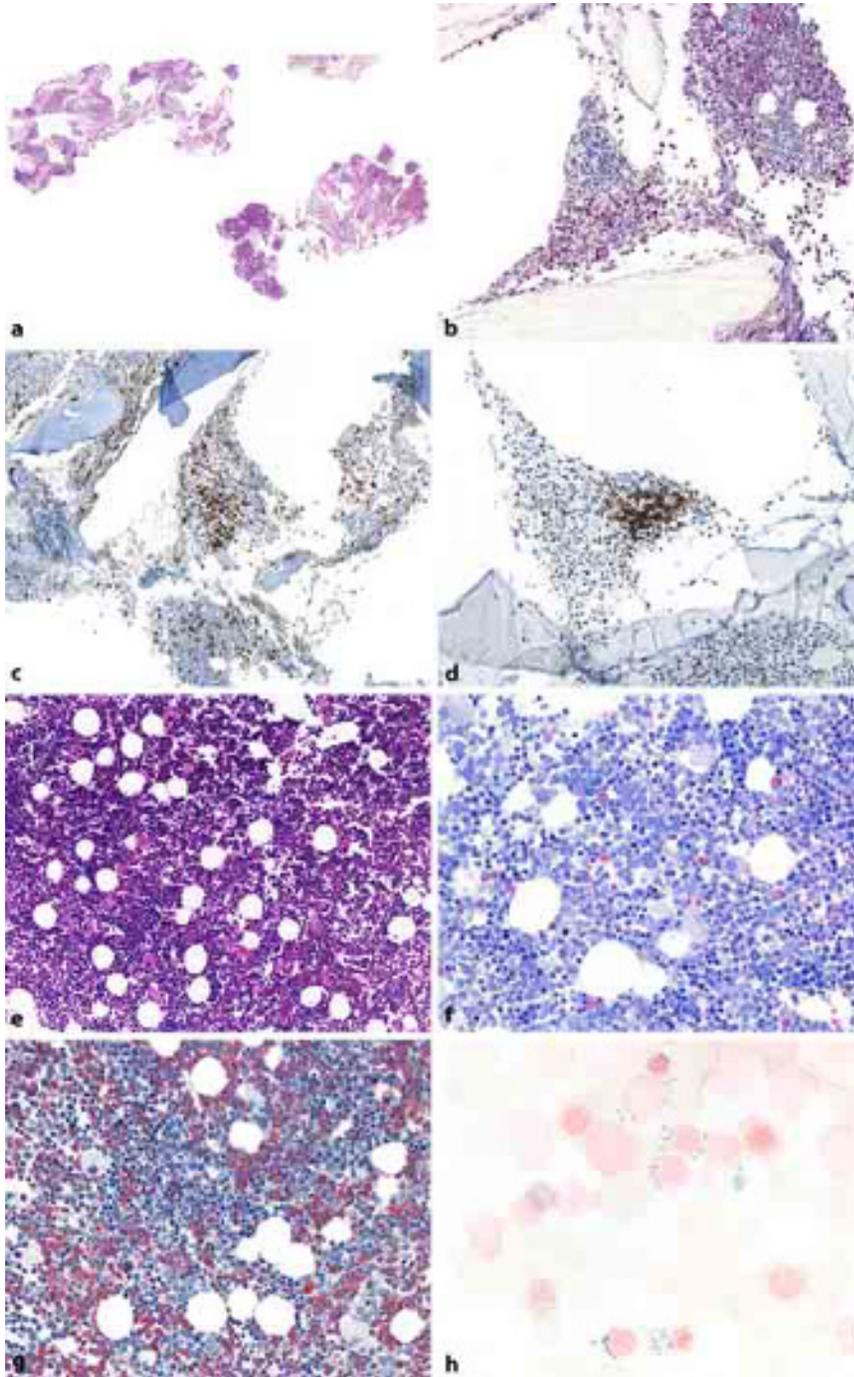


Abb. 2 ▲ Knochenmarkstanzen des Patienten an 2 verschiedenen Zeitpunkten: **a–d** Knochenmarkstanze parallel zur Diagnose des TFH-Lymphoms im Lymphknoten. **a** In der Übersicht Nachweis einer fragmentierten Knochenmarkbiopsie mit teils hyperzellulären Arealen (Hämatoxylin- und Eosin-Färbung [HE], Übersicht): **b** An einer Stelle auffallend ein kleines Aggregat von ASDCL-negativen lymphatischen Zellen (Naphthol-AS-D-Chloracetatesterase-Färbung (ASDCL), Vergr. 200:1 [Originalvergrößerung]). **c, d** Dieses Aggregat ist positiv für CD3 und PD1, was eine kleine Infiltration des TFH-Lymphoms bestätigt (**c** CD3, Vergr. 80:1; **d** PD1, Vergr. 80:1). **e–h** 3 Jahre vor der Lymphomdiagnose entnommene Knochenmarkstanzen. **e** In der HE-Färbung Nachweis eines sehr hyperzellulären Knochenmarks mit gesteigerter Megakaryopoese mit einigen irregulären Zellformen (HE, Vergr. 200:1). **f** Die Erythropoese ist gesteigert, linksverschoben und zeigt Zeichen der Dysplasie mit vakuolisierendem Zytoplasma (Giemsa, Vergr. 400:1). **g** Die Granulopoese ist eher reduziert und linksverschoben (ASDCL, Vergr. 400:1). **h** In der Eisenfärbung der Knochenmarksausstriche zeigen sich zahlreiche Ringsideroblasten (Eisenfärbung, freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Prof. Dr. W. Vogel, Medizinische Klinik, Innere Medizin II, Hämatologie, Onkologie, klinische Immunologie und Rheumatologie, Tübingen)

eines myelodysplastischen Syndroms zu unterschiedlichen Zeitpunkten in einer Person. Der Nachweis von zum einen gemeinsamen (*TET2* und *DNMT3A*) und zum anderen eigenständigen Mutationen (*RHOA* und *SF3B1*) unterstützt eine Evolution aus einer klonalen Hämatopoese.

TFH-Lymphom

Das nodale TFH-Lymphom ist eine neoplastische Läsion mit phänotypischen Charakteristika und dem Genexpressionsprofil der TFH-Zellen, die primär im Lymphknoten auftritt. Bei den TFH-Zellen handelt es sich um eine Untergruppe der T-Zellen, welche in sekundären Lymphfollikeln vorkommen und für die Keimzentrumsformation notwendig sind. Der immunhistochemische TFH-Phänotyp ist charakterisiert durch die Expression von 2 oder besser 3 TFH-Marker (*CD10*, *BCL6*, *PD1*, *CXCL13*, *ICOS*) und molekularpathologisch zeigt dieses Lymphom klassischerweise Mutationen in *TET2*, *DNMT3A*, *RHOA* und *IDH2* [1, 3]. Neben diesen klassischen Mutationen finden sich auch weniger häufig weitere Mutationen in zahlreichen Genen, zu den häufigsten zählen *PLCG1*, *CD28*, *CTNNB1*, *GTF2I*, *PIK3R1*, *PDPK1*, *VAV1*, *FYN*, *CARD11* und *KRAS* [12]. Während *RHOA* und *IDH2* nahezu exklusiv in dieser Entität gefunden werden, finden sich *TET2*- und *DNMT3A*-Mutationen in sehr vielen hämatologischen Neoplasien und sind die am häufigsten betroffenen Gene im Rahmen der klonalen Hämatopoese [2, 5, 7, 9, 10, 12]. In der WHO-Klassifikation von 2017 wurden drei Entitäten in der Gruppe der TFH-Lymphome definiert, namentlich das angioimmunoblastische T-Zell-Lymphom, das folliculäre periphere T-Zell-Lymphom und das periphere T-Zell-Lymphom mit TFH-Phänotyp [6]. Da alle 3 Entitäten gemeinsame klinische, immunhistochemische und genetische Merkmale zeigen, hat die internationale Konsensusklassifikation im Jahr 2022 diese drei Entitäten zu einer Entität – dem folliculären Helfer-T-Zell-Lymphom – mit drei morphologischen Varianten zusammengefasst: angioimmunoblastischer Typ, folliculärer Typ und „not otherwise specified“ (NOS; [3]). Die 5. Auflage der WHO-

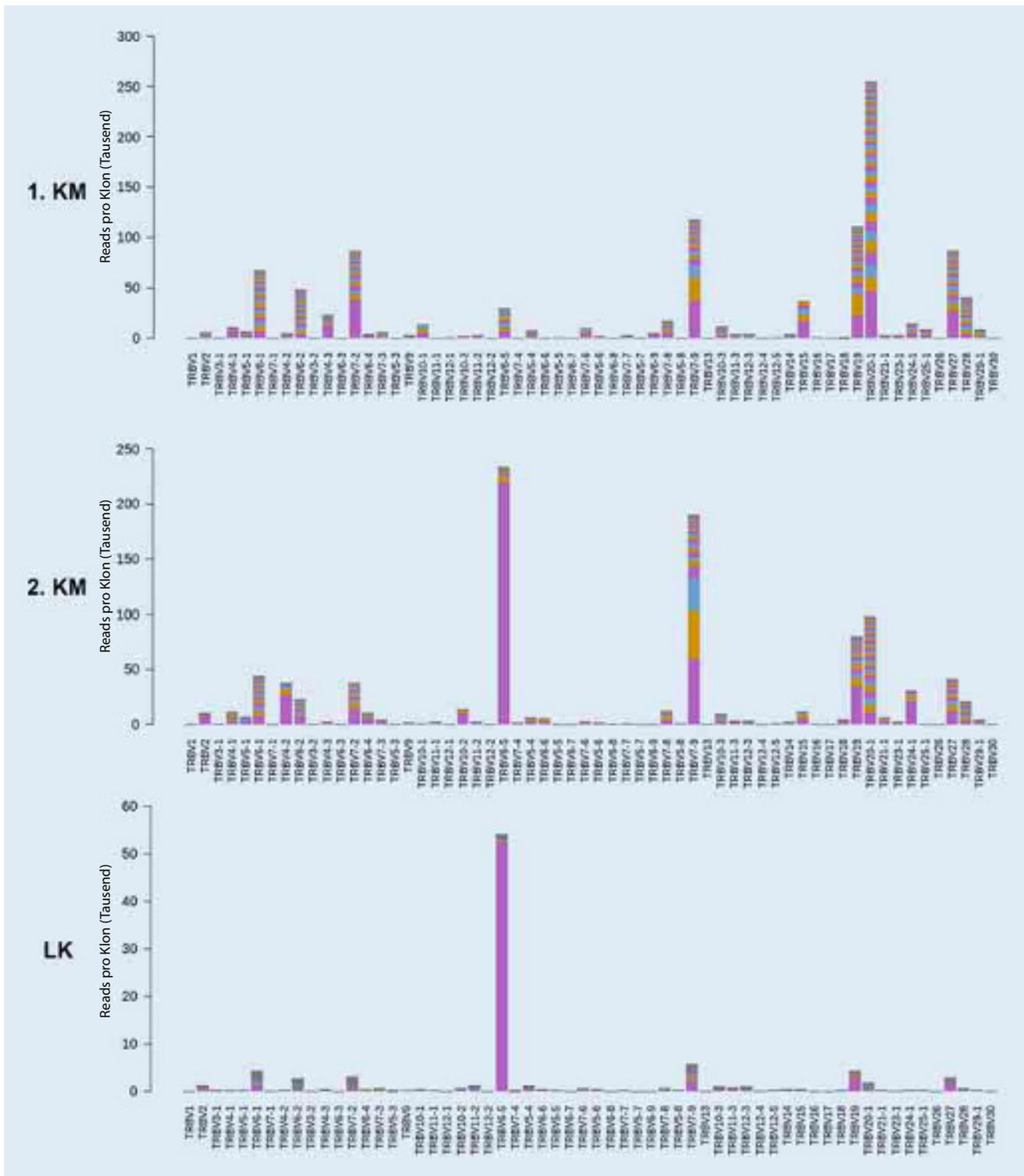


Abb. 3 ▲ NGS-basierte Klonalitätsanalyse (OncoPrint™TCR beta assay, ThermoFisher): Das 1. Knochenmark zeigt ein polyklonales Muster ohne Nachweis eines eindeutig klonalen Produktes. Das 2. Knochenmark zeigt eindeutig den gleichen Klon wie das Lymphom im Lymphknoten, sodass auch molekularpathologisch die Lymphominfiltration im Knochenmark bestätigt werden kann

Klassifikation hat das Konzept der drei verwandten Entitäten beibehalten [1].

TFH-Lymphom und klonale Hämatopoese

Eine klonale Hämatopoese unklaren Potenzials („clonal hematopoiesis of indetermined potential“, CHIP) beschreibt das Auftreten von typischen Mutationen in $\geq 2\%$ der kernhaltigen Blutzellen in einer Person mit normalen Blutwerten. Dabei zeigt sich eine Progressionsrate von ungefähr 0,5–1 % pro Jahr hin zu einer manifesten hämatologischen Neoplasie, abhängig der Klonegröße, der Mutationsanzahl und der betroffenen Gene. Die am meisten betroffenen Gene sind *DNMT3A*, *TET2* und *ASXL1* [7]. Im Jahr 2018 präsentierte Tiacci et al. im *New England Journal of Medicine* einen Fall, bei dem aus einer mutierten hämatopoetischen Stammzelle als Resultat einer klonalen Evolution zum einen ein TFH-Lymphom, angioimmunoblastischer Typ und zum anderen eine akute myeloische Leukämie entstanden ist. Dabei zeigte die gemeinsame mutierte Stammzelle Mutationen in *TET2* und *ASXL1*, das TFH-Lymphom eine eigenständige *RHOA*- und die akute myeloische Leukämie eine *NPM1*-Mutation [11]. Zwei Jahre später wurde in einer größeren Studie gezeigt, dass in 68 % der Fälle die identischen Mutationen in den neoplastischen T-Zellen und in den myeloischen Bereichen des Knochenmarks nachweisbar waren. Dabei zeigte sich auch, dass morphologisch eindeutig negatives Knochenmark immer wieder *TET2*- und *DNMT3A*-Mutationen aufwies, teilweise auch mit recht hohen Allelfrequenzen von bis zu knapp 50 %. Knochenmark, das eine klare Infiltration durch das Lymphom aufwies, zeigte teilweise auch sehr hohe Allelfrequenzen, welche immer mindestens das 4fache der prozentualen T-Zell-Population betrug [8]. Diese Ergebnisse unterstützen die Theorie, dass TFH-Lymphome in hohem Maße eine Progression im Rahmen der klonalen Evolution darstellen. Ferner konnte die Arbeit außerdem zeigen, dass 18 % der Patienten eine zusätzliche myeloische Neoplasie entwickelt haben. Eine weitere Studie aus dem Jahr 2021 zeigte in ihrer T-Zell-Lymphomkohorte (25 TFH-Lymphome und 2 periphere T-Zell-Lymphome, NOS), dass 70,4 %

der Fälle die identischen Mutationen sowohl im Lymphom als auch im Knochenmark aufgewiesen haben. Hierbei zeigte sich auch ein gehäuftes Auftreten einer Raucher-assoziierte Mutationssignatur in den Mutationen, was Rauchen als ein möglicher Risikofaktor für die Entstehung eines TFH-Lymphoms nahelegt. Knapp 15 % der Patienten hatten eine zusätzliche hämatologische Neoplasie, dabei zeigte sich, dass das Auftreten von zwei oder mehr pathogenen *TET2*-Varianten mit einer Allelfrequenz von $\geq 15\%$ mit einem signifikant höheren Risiko für eine begleitende hämatologische Neoplasie einhergeht [4]. Aktuell gibt es außerdem Hinweise darauf, dass aus einer gemeinsamen, mutierten hämatopoetischen Stammzelle zwei verschiedene lymphatische Neoplasien entstehen können. Attygalle et al. präsentierten 2022 zwei Fälle: Zum einen entstand neben einem TFH-Lymphom (angioimmunoblastischer Typ) mit einer eigenen *RHOA*-Mutation eine nodale Marginalzonenlymphom-ähnliche Proliferation mit einer eigenständigen *BRAF*-Mutation. In einem 2. Fall zeigten sich ein zytotoxisches T-Zell-Lymphom sowie eine okkulte TFH-Proliferation mit einer eigenen *RHOA*-Mutation.

Zusammenfassend zeigt sich bei TFH-Lymphomen eine hohe Assoziation mit einer klonalen Hämatopoese, was insbesondere dadurch demonstriert werden kann, dass die gleichen *TET2*- und *DNMT3A*-Mutationen auch in nicht-infiltriertem Knochenmark zu finden sind. Außerdem zeigt eine Gruppe der Lymphompatienten (von bis zu 18 %) eine divergente Evolution hin zu zusätzlichen myeloischen Neoplasien mit eigenständigen Mutationen. Insbesondere der Nachweis von ≥ 2 *TET2*-Mutationen mit hohen Allelfrequenzen scheint das Risiko für eine begleitende weitere hämatologische Neoplasie zu erhöhen, was eine mögliche Rolle in der Überwachung dieser Patienten darstellen könnte.

Fazit für die Praxis

- Lymphome der T-follikulären Helferzellen (TFH) zeigen eine hohe Assoziation mit der klonalen Hämatopoese.
- In einer Subgruppe der Patienten mit TFH-Lymphom (bis zu 18 %) manifestiert sich durch eine divergente Evolution eine zweite hämatologische Neoplasie.

- Der Nachweis von hohen Allelfrequenzen bei *TET2*-Alterationen sowie 2 oder mehr dieser Mutationen scheinen das Risiko für eine zweite hämatologische Neoplasie zu erhöhen.

Korrespondenzadresse

Dr. Dominik Nann

Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Tübingen

Liebermeisterstr. 8, 72076 Tübingen, Deutschland

dominik.nann@med.uni-tuebingen.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. D. Nann, F. Fend und L. Quintanilla-Martinez geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I et al (2022) The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia* 36:1720–1748
2. Cairns RA, Iqbal J, Lemonnier F et al (2012) IDH2 mutations are frequent in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood* 119:1901–1903
3. Campo E, Jaffe ES, Cook JR et al (2022) The international consensus classification of mature lymphoid neoplasms: a report from the clinical advisory committee. *Blood* 140:1229–1253
4. Cheng S, Zhang W, Inghirami G et al (2021) Mutation analysis links angioimmunoblastic T-cell lymphoma to clonal hematopoiesis and smoking. *Elife*. <https://doi.org/10.7554/eLife.66395>
5. Dobay MP, Lemonnier F, Missiaglia E et al (2017) Integrative clinicopathological and molecular analyses of angioimmunoblastic T-cell lymphoma and other nodal lymphomas of follicular helper T-cell origin. *Haematologica* 102:e148–e151
6. Dogan A, Gaulard P, Jaffe ES et al (2017) Angioimmunoblastic T-cell lymphoma and other nodal lymphomas of T follicular helper cell origin. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J (Hrsg) WHO classification of tumors of the haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon, S 407–412
7. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J et al (2014) Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med* 371:2488–2498
8. Lewis NE, Petrova-Drus K, Huet S et al (2020) Clonal hematopoiesis in angioimmunoblastic T-cell lymphoma with divergent evolution to myeloid neoplasms. *Blood Adv* 4:2261–2271

9. Odejide O, Weigert O, Lane AA et al (2014) A targeted mutational landscape of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Blood* 123:1293–1296
10. Steinhilber J, Mederake M, Bonzheim I et al (2019) The pathological features of angioimmunoblastic T-cell lymphomas with *IDH2*(R172) mutations. *ModPathol* 32:1123–1134
11. Tiacci E, Venanzi A, Ascani S et al (2018) High-risk clonal hematopoiesis as the origin of AITL and NPM1-mutated AML. *N Engl J Med* 379:981–984
12. Vallois D, Dobay MP, Morin RD et al (2016) Activating mutations in genes related to TCR signaling in angioimmunoblastic and other follicular helper T-cell-derived lymphomas. *Blood* 128:1490–1502

TFH lymphoma and associated clonal hematopoiesis

T-follicular helper (TFH) cell lymphoma (TFHL) is a lymphoma of mature T cells with phenotypic characteristics and gene expression signature of TFH cells. The lymphoma harbors recurrent mutations of *RHOA*^{G17V}, *IDH2*^{R172}, *TET2* and *DNMT3A*. Whereas *RHOA*^{G17V} and *IDH2*^{R172} are almost exclusively found in this entity, *TET2* and *DNMT3A* mutations occur in a broad variety of hematological neoplasms and are the most frequently affected genes in clonal hematopoiesis (CH). CH in humans shows a progression rate to overt hematologic neoplasia of about 0.5 to 1% per year, depending on clone size, number of mutations and affected genes. In 2018, the first case was described in which a lymphoid (TFHL) and myeloid (acute myeloid leukemia) neoplasm arose from a common mutated progenitor cell with shared mutations and additional private mutations. In recent years, further studies showed in up to 70% of patients with TFHL the occurrence of identical mutations of *TET2* and/or *DNMT3A* in the myeloid cells, irrespective of bone marrow involvement, indicating a prominent role of CH in the pathogenesis of TFHL. In up to 18%, these patients show also additional synchronous or metachronous overt myeloid neoplasms, often with private myelodysplastic-type mutations, most often myelodysplastic syndrome, chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia. Recently, there is also evidence for two distinct lymphoid neoplasms arising from CH. TFH lymphoma cases with antecedent or concomitant hematologic neoplasm often show high variant allelic frequencies of *TET2* and often more than one mutation, suggesting a role for surveillance in these patients.

Keywords

TFH cells · CHIP mutation · Bone marrow · Myeloid neoplasia · Clonal evolution

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S150–S154
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01251-z
Angenommen: 9. Oktober 2023
Online publiziert: 10. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Molekulare Diagnostik des vitreoretinalen Lymphoms

Irina Bonzheim¹ · Julia Salmerón-Villalobos² · Daniela Süsskind³ · Peter Szurman⁴ · Florian Gekeler^{3,5} · Martin S. Spitzer⁶ · Itziar Salaverria² · Elias Campo² · Sarah E. Coupland⁷ · Leticia Quintanilla-Martinez¹ · Falko Fend¹

¹ Institut für Pathologie und Neuropathologie, Abt. Allgemeine und Molekulare Pathologie, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

² Hematopathology Unit, Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona, Spanien

³ Department für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Deutschland

⁴ Augenklinik Sulzbach, Sulzbach, Deutschland

⁵ Augenklinik, Klinikum Stuttgart, Stuttgart, Deutschland

⁶ Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE), Hamburg, Deutschland

⁷ Department of Molecular and Clinical Cancer Medicine, Institute of Systems, Molecular and Integrative Biology, University of Liverpool, Liverpool, Großbritannien

Zusammenfassung

Das primäre vitreoretinale Lymphom (PVRL) stellt einen Subtyp der intraokularen Lymphome bzw. der malignen Lymphome des Auges dar. Das PVRL gilt als Sonderform des primären diffusen großzelligen Lymphoms (DLBCL) des zentralen Nervensystems (ZNS) (PCNSL) und entsteht primär oder sekundär bei einem ZNS-Lymphom. Nach der COO-Klassifikation („cell of origin“) des DLBCL gehören PVRL größtenteils zum aktivierten B-Zell-Typ (ABC) des DLBCL. Nach einer kürzlich erstellten genetisch-biologischen Klassifizierung von DLBCL gehören PCNSL und damit auch PVRL zu einer Gruppe von DLBCL des MCD- oder Cluster-5-Subtyps, der häufig extranodale Manifestationen und *MYD88*- und *CD79A*-Mutationen sowie *CDKN2A*-Deletionen aufweist.

Die PVRL-Diagnostik ist oft kompliziert, da es sich um ein klassisches Maskeradesyndrom handelt. Aufgrund des in der Regel geringen Materials mit oft großer Anzahl reaktiver Lymphozyten und/oder degenerativer Veränderungen der Zellen sind die Ergebnisse diagnostischer Tests schwer zu interpretieren. Zu den klassischen diagnostischen Tests gehören die Zytologie von Glaskörperaspiraten, die Immunzytochemie und die Klonalitätsanalyse.

Neue Erkenntnisse über das Spektrum der genetischen Veränderungen von vitreoretinalen Lymphomen (VRL) bestätigen die enge Verwandtschaft mit PCNSL und könnten die pathologische Diagnose erheblich verbessern. NGS-Panel-basierte Diagnostik ermöglicht die Bestätigung der VRL-Diagnose mit wenig DNA bei fast 100 % der Patienten in Fällen mit unzureichendem zytologischem Nachweis oder fehlendem Klonalitätsnachweis. PVRL sowie sekundäre vitreoretinale Lymphome nach PCNSL oder extrazerebralem DLBCL weisen hohe Mutationshäufigkeiten in charakteristisch mutierten Genen bei PCNSL oder MCD/Cluster-5-Typ-DLBCL auf. Zur Unterstützung der Diagnostik kann der Mutationsnachweis auch an zellfreier DNA aus dem Glaskörperüberstand erfolgen.

Schlüsselwörter

Intraokuläres Lymphom · Primäres diffus großzelliges Lymphom (DLBCL) des ZNS (PCNSL) · MCD/Cluster-5-Subtyp · Zellfreie DNA · Next Generation Sequencing (NGS)

Aufgrund der besseren Lesbarkeit wird im Text das generische Maskulinum verwendet. Gemeint sind jedoch immer alle Geschlechter.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

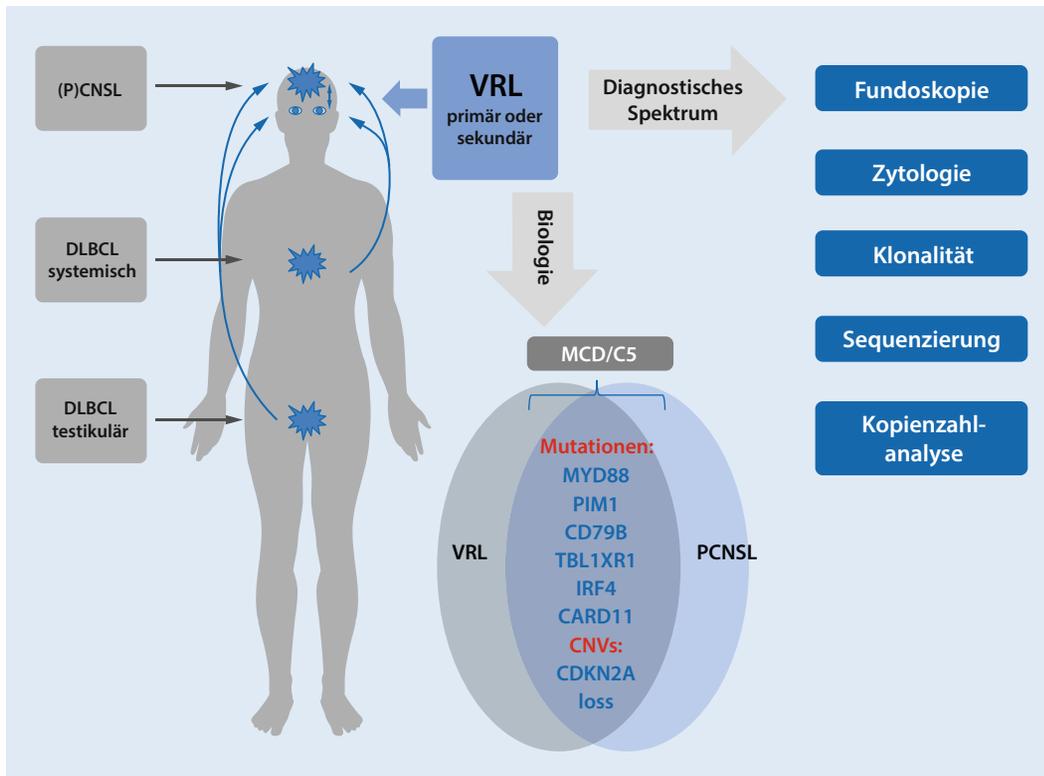


Abb. 1 ◀ Übersicht über die genetischen Eigenschaften und das diagnostische Spektrum des vitreoretinalen Lymphoms. Siehe auch Bonzheim et al. [10]. DLBCL diffus groß-zelliges B-Zell-Lymphom, PCNSL primäres Lymphom des zentralen Nervensystems, VRL vitreoretinales Lymphom. (© I. Bonzheim, Tübingen, mit freundl. Genehmigung)

Das Verständnis des molekularen Hintergrunds, der Tumorbiologie und der Pathogenese spielt eine immer größere Rolle in der Lymphomdiagnostik. Die Anwendung dieser Erkenntnisse in der molekularen Diagnostik ermöglicht eine präzisere Klassifikation vieler Entitäten. Neuere Untersuchungen zum Spektrum an genetischen Veränderungen der vitreoretinalen Lymphome (VRL) bestätigen die enge Verwandtschaft zum primären Lymphom des zentralen Nervensystems (PCNSL) und führen zu einer Verbesserung der pathologischen Diagnostik.

Vitreoretinale Lymphome

Maligne Lymphome des Auges und seiner Adnexenstrukturen repräsentieren ca. 5–15% der extranodalen Lymphome. Eine große Gruppe sind dabei die intraokulären Lymphome, deren bei weitem häufigste Form das primäre vitreoretinale Lymphom (PVRL) ist [1, 2]. Das PVRL befallt die Retina, den Glaskörper oder beide Strukturen und hat eine sehr schlechte Prognose. Die Erkrankung tritt in mittlerem und höherem Lebensalter mit Median von 63 Jahren auf. Das PVRL gilt als Sonderform des primären diffus großzelligen

Lymphoms (DLBCL) des zentralen Nervensystems (ZNS) (PCNSL) und entsteht primär oder sekundär zum PCNSL [3–5]. Etwa 15–35% der PVRL-Patienten zeigen bereits bei Primärdiagnose und 35–90% im Verlauf einen ZNS-Befall. Umgekehrt entwickeln 15–25% der PCNSL einen intraokulären Befall. Eine Dissemination außerhalb des ZNS ist selten.

Herausforderungen in der Diagnostik des vitreoretinalen Lymphoms

Das PVRL stellt ein klassisches Maskeradesyndrom dar, was die Diagnostik häufig erschwert, auch wenn ophthalmologische Untersuchungen öfter einen dringenden Verdacht auf das Vorliegen eines PVRL erbringen. Wichtige Differenzialdiagnosen wie infektiöse Ophthalmitis, Sarkoidose oder chronische Uveitis müssen ausgeschlossen werden. Die Diagnose wird üblicherweise durch Vitrektomie oder Glaskörperaspiration an zytologischem Material gestellt. Klassische Diagnostikuntersuchungen sind die Zytologie, die Immunzytochemie mit CD20-Färbung, die durchflusszytometrische Analyse sowie die Bestimmung der IL-10/IL-6-Ratio und die

Klonalitätsanalyse (Analyse klonaler IGH-Rearrangements) ([1, 2, 5, 6]; **Abb. 1**). Die Diagnostik ist durch verschiedene Faktoren erschwert, und Sensitivität und Spezifität liegen eher in einem unzufriedenstellenden mittleren Bereich. Das meist spärliche Material zeigt häufig eine Vielzahl an reaktiven Lymphozyten und/oder degenerative Veränderungen der Zellen [1, 5, 6]. Atypische Zellen können zudem auch bei intraokulären Virusinfekten auftreten. Aufgrund der Einschränkungen der Morphologie und des spärlichen Materials wird häufig auf die Unterstützung der Diagnose durch eine Klonalitätsanalyse gesetzt. Diese kann die Diagnose eines Lymphoms bestätigen, zeigt aber häufig pseudoklonale Ergebnisse oder oligoklonale Rearrangements aufgrund einer geringen Zahl oder reaktiver Expansion von B-Zellen, die zu falsch positiver Lymphomdiagnose führen können. Die bei PVRL biologisch besonders ausgeprägte somatische Hypermutation des IGH-Gens kann wiederum zu falsch negativen Ergebnissen führen [7, 8].

Biologie und Pathologie des vitreoretinalen Lymphoms

Das Verständnis der molekularen Grundlagen und der Biologie intra- und periokulärer Lymphome ist eine Grundvoraussetzung für eine präzise Diagnostik und für den Einsatz einer zielgerichteten Systemtherapie. Nach der langjährig gebräuchlichen Einteilung nach der COO („cell of origin“), basierend auf Genexpressionsprofilen, gehören PVRL großteils (80–90 %) zum aktivierten B-Zell(ABC)-Typ des DLBCL [9–13]. Dabei zeigt sich ein identischer Phänotyp mit Expression von Pan-B-Zellmarkern wie CD20, CD79a und PAX5, Positivität für MUM1/IRF4 und häufig für BCL6 und BCL2 [9–15]. Anhand wegweisender Studien der letzten Jahre hat sich durch umfangreiche molekulare Untersuchungen eine genetisch-biologische Eingruppierung von DLBCL etabliert, die mehr klinische Relevanz verspricht. Das PCNSL und damit auch das PVRL zählt hierbei zu einer Gruppe von DLBCL vom MCD- oder Cluster-5-Subtyp, der klinisch häufig extranodale Manifestationen zeigt (neben ZNS auch Hoden, Haut und Brust) und in einem hohen Prozentsatz *MYD88*- und *CD79A*-Mutationen sowie homozygote *CDKN2A*-Deletionen aufweist ([16, 17]; ■ **Abb. 1**). Neben einer konstitutiven Aktivierung des NF- κ B-Signalwegs aufgrund der oben genannten Mutationen im B-Zell-Rezeptor- sowie im TOLL-like-Rezeptor-Signalweg zeigen MCD/Cluster-5-DLBCL häufig eine Überexpression des antiapoptotischen Proteins BCL2 sowie eine reduzierte oder fehlende Expression von MHC-Klasse-I- und MHC-Klasse-II-Antigenen aufgrund eines Verlustes des HLA-Locus auf 6p21-32. Die daraus resultierende Störung der Antigenexpression wird als Basis für die Evasion vor der antitumoralen Immunüberwachung gewertet. Interessanterweise zeigen extrazerebrale DLBCL vom MCD-Typ, wie z. B. primäre DLBCL des Hodens, ein deutlich höheres Risiko für einen sekundären Befall des ZNS oder des Glaskörpers, was die Bedeutung der biologischen Subgruppen für das klinische Verhalten unterstreicht [7, 18].

Molekulare Diagnostik des vitreoretinalen Lymphoms

Zum PVRL existieren bislang sehr wenige genetische Studien [10, 13, 18–21]. Wir haben bereits vor einigen Jahren eine gezielte Mutationsdiagnostik an Glaskörperaspiraten etabliert, um bei problematischer Klonalitätsdiagnostik zusätzliche Evidenz für PVRL zu erhalten [7]. In einer retrospektiven Studie wurde basierend auf der hohen Frequenz von *MYD88*-Mutationen bei PCNSL und der bekannten Verwandtschaft der PCRL und PCNSL durch den Einsatz einer *MYD88*-Mutationsanalyse die Sensitivität für den Nachweis eines VRL von 62 auf 90 % gesteigert.

Um auch Fälle mit negativem *MYD88*-Mutationsstatus sicherer erfassen zu können, haben wir im weiteren Verlauf Analysen für ein breiteres Genspektrum etabliert. Wir konnten kürzlich mit einer Next-Generation-Sequencing(NGS)-basierten 12-Gen-Paneluntersuchung zeigen, dass PVRL, aber auch sekundäre vitreoretinale Lymphome nach PCNSL oder extrazerebrale DLBCL (v. a. Hoden) hohe Mutationsfrequenzen in *MYD88* (74%), *PIM1* (71%), *CD79B* (55%), *IGLL5* (52%), *TBL1XR1* (48%), *ETV6* (45%) sowie 9p21/*CDKN2A*-Deletionen (85%) aufweisen und damit wie PCNSL zur MCD/Cluster-5-Gruppe der DLBCL gehören ([10]; ■ **Abb. 1**). Dieses zum PCNSL sehr ähnliche Mutationsspektrum bestätigt die enge Verwandtschaft von PVRL und PCNSL. Die Fälle mit einer hohen Anzahl an Mutationen zeigten diese vor allem in Genen, die als Zielgene aberranter somatischer Hypermutation (aSHM) im systemischen DLBCL beschrieben sind und ebenfalls häufig in der MCD/Cluster-5-Subgruppe mutiert sind [19]. Mit dieser kombinierten Mutations- und *CDKN2A*-Kopienzahl-Analyse konnten alle primären und sekundären VRL zweifelsfrei identifiziert werden.

Auch wenn die Mutationsanalyse VRL zweifelsfrei identifizieren kann, ist eine klinisch-pathologische Korrelation erforderlich, da auch das seltene, eine andere Therapie erfordernde MALT-Lymphom der Choroidea wie auch andere MALT-Lymphome dieser Region gelegentlich eine *MYD88*-Mutation aufweisen können [20].

Molekulare Diagnostik an zellfreier DNA

Die Untersuchung zellfreier DNA (cfDNA) hat in verschiedenen Bereichen der Tumordiagnostik an Bedeutung gewonnen und hat auch für die Analyse aus Glaskörper- oder Vorderkammermikroaspiraten Potenzial [10, 21–23]. Wir konnten im direkten Vergleich der Zellpellets und der cfDNA von Glaskörperaspiraten jeweils die identischen Mutationen nachweisen, und die cfDNA-Variantenallelfrequenzen fallen sogar höher aus als an genomischer DNA der Zellen. Vermutlich ist erhöhter Zelltod in Lymphomzellen im Vergleich zu reaktiven inflammatorischen Zellen hierfür die Ursache [10]. Eine andere Studie zeigt, dass der Mutationsnachweis ähnlich an der cfDNA aus Glaskörper wie aus Kammerwasser gelingt [24]. In einer weiteren Studie zeigt sich dies ebenfalls, während sich die Ergebnisse am Liquor nur teilweise und mit niedrigerer Variantenallelfrequenz reproduzieren lassen [25]. Eine Studie, die Verlaufsuntersuchungen bei CNSL an cfDNA im Vergleich zu zytologischen und durchflusszytometrischen Analysen durchgeführt hat, lässt den Schluss zu, dass die cfDNA hauptsächlich auf das beteiligte Kompartiment beschränkt zu sein scheint. So war der cfDNA-Nachweis bei ZNS-beschränkten Lymphomen im Liquor besser als im Plasma, während die spezifischen Mutationen in systemischen DLBCL ohne ZNS-Beteiligung nur im Plasma und nicht im Liquor nachweisbar waren [26]. Aufgrund der benötigten geringen Materialmengen und der damit verbundenen geringen Invasivität ist die Untersuchung der cfDNA sowohl für die Diagnostik als auch für Verlaufsuntersuchungen sehr vielversprechend. Für das Screening eignet sich NGS und für Monitoring kann auch die hochsensitive „digitale PCR“ eingesetzt werden. Eine Validierung für einen breiten klinischen Einsatz muss aber noch erfolgen.

DECODE VRL

Für eine prospektive Analyse zur molekularen Diagnostik an einer größeren Fallkohorte mittels umfangreicherer genetischer Untersuchungen (DNA, cfDNA, RNA, miRNA) startet demnächst die DKH-geförderte Studie DECODE VRL. Kontakt:

klinische Belange: PD Dr. Vinodh Kakkasery, Lübeck, vinodh.kakkasery@uni-luebeck.de; Pathologie: Prof. Dr. Falko Fend, PD Dr. rer. nat. Irina Bonzheim, Tübingen, falko.fend@med.uni-tuebingen.de, irina.bonzheim@med.uni-tuebingen.de.

Fazit für die Praxis

- Primäre und sekundäre vitreoretinale Lymphome (VRL) weisen das gleiche genetische Profil auf und gehören zum MCD/C5-Cluster der diffus großzelligen B-Zell-Lymphome (DLBCL).
- Next-Generation-Sequencing-Panel-basierte Diagnostik ermöglicht die Bestätigung der VRL-Diagnose mit wenig DNA in fast 100% der Fälle bei unzureichendem zytologischem Nachweis oder fehlendem Klonalitätsnachweis.
- Der Mutationsnachweis kann auch an zellfreier DNA durchgeführt werden.

Korrespondenzadresse



PD Dr. rer. nat. Irina Bonzheim
 Institut für Pathologie und Neuropathologie,
 Abt. Allgemeine und Molekulare Pathologie,
 Universitätsklinikum Tübingen
 Liebermeisterstr. 8, 72076 Tübingen,
 Deutschland
 irina.bonzheim@med.uni-tuebingen.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. I. Bonzheim, J. Salmerón-Villalobos, D. Süßkind, P. Szurman, F. Gekeler, M.S. Spitzer, I. Salaverria, E. Campo, S.E. Coupland, L. Quintanilla-Martínez und F. Fend geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Molecular diagnostics for vitreoretinal lymphoma

Primary vitreoretinal lymphoma (PVRL) represents a subtype of intraocular lymphomas, which are a subgroup of malignant lymphomas of the eye. PVRL is considered a special form of primary diffuse large cell lymphoma (DLBCL) of the CNS (central nervous system) (PCNSL) and arises primary or secondary to PCNSL. According to the cell of origin (COO) classification of DLBCL, PVRL largely belongs to the activated B-cell (ABC) type of DLBCL. Based on a recently established genetic-biological classification of DLBCL, PCNSL and thus also PVRL belong to a group of DLBCL of the *MYD88/CD79B*-mutated (MCD) or cluster 5 subtype, which often shows extranodal manifestations and *MYD88* and *CD79A* mutations as well as *CDKN2A* deletions.

PVRL diagnostics is often complicated as it represents a classic masquerade syndrome. Due to the usually limited material with often large numbers of reactive lymphocytes and/or degenerative changes in the cells, the results of diagnostic tests are difficult to interpret. Classic diagnostic tests include cytology on vitreous aspirates, immunocytochemistry, and clonality analysis.

New insights into the spectrum of genetic alterations of vitreoretinal lymphomas (VRL) confirm the close relationship to PCNSL and could significantly improve pathological diagnosis. Next-generation sequencing panel-based diagnostics allow VRL diagnosis confirmation with little DNA in almost 100% of patients in cases with insufficient cytological evidence or lack of clonality detection. PVRL, as well as secondary vitreoretinal lymphomas after PCNSL or extracerebral DLBCL, have high mutation frequencies in characteristically mutated genes in PCNSL or MCD/cluster 5 type DLBCL. Supporting diagnostics, mutation detection can also be performed on cell-free DNA from the vitreous supernatant.

Keywords

Intraocular lymphoma · Primary diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) of the CNS (PCNSL) · MCD/cluster 5 subtype · Cell-free DNA · Next generation sequencing (NGS)

Literatur

1. Fend F, Ferreri AJ, Coupland SE (2016) How we diagnose and treat vitreoretinal lymphoma. *Br J Haematol* 173(5):680–692
2. Sobolewska B et al (2021) Vitreoretinal Lymphoma. *Cancers (basel)* 13(16)
3. Grimm SA et al (2007) Primary intraocular lymphoma: an international primary central nervous system Lymphoma collaborative group report. *Ann Oncol* 18(11):1851–1855
4. Swerdlow S et al (2017) WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4th ed. IARC, Lyon (ed. S. Swerdlow, et al.)
5. Soussain C, Malaise D, Cassoux N (2021) Primary vitreoretinal lymphoma: a diagnostic and management challenge. *Blood* 138(17):1519–1534
6. Coupland SE, Damato B (2008) Understanding intraocular lymphomas. *Clin Exp Ophthalmol* 36(6):564–578
7. Bonzheim I et al (2015) High frequency of MYD88 mutations in vitreoretinal B-cell lymphoma: a valuable tool to improve diagnostic yield of vitreous aspirates. *Blood* 126(1):76–79
8. Coupland SE et al (2005) Molecular analysis of immunoglobulin genes in primary intraocular lymphoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46(10):3507–3514
9. Bodor C et al (2020) Molecular subtypes and genomic profile of primary central nervous system Lymphoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 79(2):176–183
10. Bonzheim I et al (2022) The molecular hallmarks of primary and secondary vitreoretinal lymphoma. *Blood Adv* 6(5):1598–1607
11. Chapuy B et al (2016) Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas. *Blood* 127(7):869–881
12. Lee J et al (2020) Whole exome sequencing identifies mutational signatures of vitreoretinal lymphoma. *Haematologica* 105(9):e458–e460
13. Montesinos-Rongen M et al (2008) Gene expression profiling suggests primary central nervous system lymphomas to be derived from a late germinal center B cell. *Leukemia* 22(2):400–405
14. Ho KG, Grommes C (2019) Molecular profiling of primary central nervous system lymphomas—predictive and prognostic value? *Curr Opin Neurol* 32(6):886–894
15. Nayyar N et al (2019) MYD88 L265P mutation and CDKN2A loss are early mutational events in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphomas. *Blood Adv* 3(3):375–383
16. Chapuy B et al (2018) Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med* 24(5):679–690
17. Schmitz R et al (2018) Genetics and pathogenesis of diffuse large B-cell Lymphoma. *N Engl J Med* 378(15):1396–1407
18. Salomao DR et al (2013) Vitreoretinal presentation of secondary large B-cell lymphoma in patients with systemic lymphoma. *JAMA Ophthalmol* 131(9):1151–1158
19. Morin RD, Scott DW (2020) DLBCL subclassification: divide and conquer? *Blood* 135(20):1722–1724

20. Behdad A et al (2019) High frequency of MYD88 L265P mutation in primary ocular adnexal marginal zone lymphoma and its clinicopathologic correlation: a study from a single institution. *Arch Pathol Lab Med* 143(4):483–493
21. Cani AK et al (2017) Next generation sequencing of vitreoretinal lymphomas from small-volume intraocular liquid biopsies: new routes to targeted therapies. *Oncotarget* 8(5):7989–7998
22. Hiemcke-Jiwa LS et al (2018) Potential diagnosis of vitreoretinal lymphoma by detection of MYD88 mutation in aqueous humor with ultrasensitive droplet digital polymerase chain reaction. *JAMA Ophthalmol* 136(10):1098–1104
23. Tan WJ et al (2019) Single-cell MYD88 sequencing of isolated B cells from vitreous biopsies aids vitreoretinal lymphoma diagnosis. *Blood* 134(8):709–712
24. Chen X et al (2022) Diagnostic value of genetic mutation analysis and mutation profiling of cell-free DNA in intraocular fluid for vitreoretinal lymphoma. *Cancer Commun* 42(11):1217–1221
25. Wang X et al (2022) A pilot study of the use of dynamic analysis of cell-free DNA from aqueous humor and vitreous fluid for the diagnosis and treatment monitoring of vitreoretinal lymphomas. *Haematologica* 107(9):2154–2162
26. Bobillo S et al (2021) Cell free circulating tumor DNA in cerebrospinal fluid detects and monitors central nervous system involvement of B-cell lymphomas. *Haematologica* 106(2):513–521

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

NGS-basierte Molekulargenetik der Leukämie – ein leistungsfähiger und dezentraler Lösungsansatz

Sebastian Dintner¹ · Maximilian Schmutz² · Sebastian Sommer² · Angela Langer³ · Klaus Hirschbühl² · Rainer Claus^{1,2} · Christoph Schmid² · Martin Trepel² · Bruno Märkl¹

¹ Institut für Pathologie und molekulare Diagnostik, Universitätsklinikum Augsburg, Augsburg, Deutschland

² II. Medizinische Klinik, Universitätsklinikum Augsburg, Augsburg, Deutschland

³ Augsburg Central BioBank, Medizinische Fakultät, Universität Augsburg, Augsburg, Deutschland

Zusammenfassung

Die Diagnostik der akuten myeloischen Leukämie (AML) und des myelodysplastischen Syndroms (MDS), die ursprünglich primär auf einer morphologischen Beurteilung beruhte, integriert nun immer mehr unterschiedliche diagnostische Methoden und führt unterschiedliche Disziplinen zusammen. Die moderne AML/MDS-Diagnostik stützt sich auf Zytomorphologie, Zytochemie, Immunphänotypisierung, Zytogenetik und Molekulargenetik. Die Integration all dieser Methoden ermöglicht eine umfassende und komplementäre Charakterisierung eines jeden Falles, was eine Voraussetzung für eine optimale AML/MDS-Diagnose, -Prognoseabschätzung und -Behandlung ist. Im Folgenden stellen wir vor, warum eine multidisziplinäre und lokal zusammengeführte Diagnostik heute bereits essenziell ist und in Zukunft noch mehr an Bedeutung gewinnen wird, insbesondere im Kontext von zielgerichteten Therapieansätzen. Wir präsentieren das am Universitätsklinikum Augsburg implementierte Konzept, das die multidisziplinäre Diagnostik bei AML/MDS in einem interdisziplinären Ansatz verwirklicht hat. Dazu gehören insbesondere die jüngsten technischen Fortschritte, die die Molekulargenetik mit modernen Sequenziermethoden liefert und in der Molekularpathologie nicht nur die molekulare Tumordiagnostik von soliden Tumoren, sondern auch in enger Zusammenarbeit mit der Hämatologie die molekulare Charakterisierung von myeloischen Neoplasien unterstützt. Somit wird die grundlegende morphologische Diagnostik der Erkrankungen durch die Untersuchung der Knochenmarkbiopsien und die immer wichtigere molekulare Diagnostik aus der Pathologie heraus unterstützt. Die enorme Menge an Daten, die durch diese Techniken gewonnen werden, stellt eine große Herausforderung, aber auch eine einzigartige Chance dar. Dieser Ansatz wird nicht nur für Forschungsfragestellungen genutzt, sondern ist in die Routine integriert worden, um den Weg für eine zunehmend personalisierte Medizin bei AML/MDS hin zu einer besseren Patientenversorgung zu beschreiben.

Schlüsselwörter

Diagnostik · Leukämie · Panel-Sequenzierung · Hämatologie · Molekulare Klassifikation · MRD



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Die akute myeloische Leukämie (AML) ist eine aggressive klonale Erkrankung von unreifen Zellen der myeloischen Reihe, die in der Regel mit hoher Dynamik einhergeht und unbehandelt schnell fatal verlaufen kann. Somit sollte in der

Patientenversorgung eine zeitnahe Diagnostik und Risikostratifizierung erfolgen, um eine bestmögliche und situativ angepasste Behandlung der AML zu ermöglichen.

Tab. 1 Tests und Verfahren zum Zeitpunkt der Diagnose bei einem Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) die am Universitätsklinikum Augsburg vorgehalten werden. (Nach Döhner H. et al. [6])

Diagnostische Tests und Anwendungen (beteiligte Institute oder externe Labore)	
<i>Grundlegende diagnostische Anwendungen:</i>	
Vollständiges Blutbild und Differentialblutbild (ILM/ITH UK Augsburg)	
Knochenmarkzytologie und manuelles Differentialblutbild (Spezielle Hämatologie/II. Medizinische Klinik UK Augsburg)	
Knochenmarkaspirat oder periphere Blutprobe (Molekularpathologie UK Augsburg/externe Labore)	
Knochenmarktrepanationsbiopsie (Pathologie UK Augsburg)	
Immunphänotypisierung durch Durchflusszytometrie (spez. Hämatologie/II. Medizinische Klinik UK Augsburg)	
Zytogenetik (externe Labore)	
<i>Genetische Analysen</i>	<i>Ergebnisse sollten vorliegen in:</i>
Zytogenetik	5–7 Arbeitstagen
Somatische Veränderungen zur Risikoeinschätzung und Identifikation von zielgerichteten Therapiemöglichkeiten: <i>FLT3, IDH1, IDH2, NPM1, CEBPA, TP53, ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, USAF1, ZRSR2</i>	2–5 Arbeitstagen
Gentranslokationen: <i>PML::RARA, CBFB::MYH11, RUNX1::RUNX1T1, KMT2A, BCR::ABL1</i>	3–5 Arbeitstagen
Histomorphologische Beurteilung der Knochenmarktrepanationsbiopsie (Pathologie UK Augsburg)	3–5 Arbeitstagen
Andere Anamnesedaten des Patienten (Hämatologie UK Augsburg)	–

Die jüngsten methodischen Fortschritte beeinflussen die klinische Praxis erheblich. Zu diesen Fortschritten gehören Erkenntnisse über den klinischen Wert der Molekulargenetik für Diagnose und Prognose, technologische Fortschritte bei der quantitativen Bewertung der messbaren Rest-erkrankung (MRD) und deren Nutzen für die Beurteilung des therapeutischen Ansprechens und des Krankheitsrisikos, die Entwicklung einer Reihe neuartiger therapeutischer Wirkstoffe sowie Entwicklungen bei der allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSZT), die zu neuem und verbessertem Krankheitsmanagement führen. Dieser Bericht beleuchtet diese Fortschritte und deren Anwendung in der klinischen Routine zur interdisziplinären Routineversorgung von AML-Patienten am Universitätsklinikum Augsburg.

Molekulare und generelle Klassifizierung von AML

Somatische Mutationen sind für die Entwicklung von AML verantwortlich. Diese können mit den derzeitigen Techniken zuverlässig bestimmt und entsprechend bewertet werden. Nach derzeitigem Kennt-

nisstand entwickelt sich eine AML aus dem seriellen Erwerb somatischer Mutationen in hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen mit der Fähigkeit zur Selbsterneuerung und zur Vermehrung des neoplastischen Klons [1, 2]. Die International Consensus Classification vom AML und das European LeukemiaNet Risikoprotokoll [3, 4], mit der die zuvor überarbeitete 4. Auflage der Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für AML [5] aktualisiert wurde, führte Änderungen bei den Blasten-Schwellenwerten und insbesondere neue genetische Entitäten zur Definition der AML ein, wodurch das Spektrum der Klassifikation durch zytogenetische Profile und Mutationsprofile erweitert und die Bedeutung der genetischen Diagnostik deutlich betont wurde [6]. Aufgrund ihres wesentlichen Einflusses auf den Krankheitsphänotyp und den klinischen Verlauf werden genetische Veränderungen bei der Definition der AML-Krankheitsklassifikation vorrangig berücksichtigt. Hierzu ist eine schnelle, zuverlässige und qualitätsgesicherte Aufarbeitung von Probenmaterialien und deren Analyse notwendig. Dabei muss eine Vielzahl von Tests, die zur Erstellung der Diagnose und der Risikoklassifizierung

erforderlich sind, berücksichtigt werden (Tab. 1). Dies erfordert eine enge und gut abgestimmte interdisziplinäre Zusammenarbeit von Hämatologen, Pathologen und Molekularpathologen und möglicherweise externen Diagnostiklaboren, um die unterschiedlichen Ergebnisse zeitnah zu integrieren und entsprechende Risikoabschätzungen und Therapieentscheidungen treffen zu können. Wir haben am Universitätsklinikum Augsburg seit 2019 die Entscheidung getroffen, eine Vielzahl der relevanten Analysemethoden vor Ort durchzuführen. Dies erfolgte unter besonderer Berücksichtigung der Vorteile für die Patientenversorgung, der lokalen Aufbereitung und Asservierung der Proben sowie der zugehörigen Datensätze als wichtige Forschungsressource und nicht zuletzt aufgrund wirtschaftlicher Aspekte.

Diagnostische Maßnahmen für AML-Patienten

Immunphänotypisierung

Die Immunphänotypisierung mittels Multiparameter-Durchflusszytometrie ist zur genauen Diagnose der AML durch Identifizierung von Zelloberflächenmolekülen und intrazellulären Markern essenziell [6, 7]. Außerdem könnte es in Zukunft wichtig sein, Leukämie-assoziierte Immunphänotypen zu identifizieren, um anschließende MRD-Überwachung durch Multiparameter-Durchflusszytometrie zu ermöglichen. Dies ist bisher noch keine Routineanwendung. In Fällen, in denen ein Aspirat nicht erhältlich ist und keine zirkulierenden Blasten vorhanden sind, kann der myeloische Phänotyp durch eine Knochenmarkbiopsie mittels Immunhistochemie bestätigt werden.

Zytogenetik

Die Zytogenetik umfasst die Techniken der Chromosomenanalyse und der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Chromosomenanalyse erfolgt durch Bandenanalyse von Metaphasen. Benigne Zellen haben im Allgemeinen einen normalen Karyotyp (46,XX bzw. XY), während der leukämische Karyotyp erworbene numerische oder strukturelle Chromosomenanomalien zeigen kann. FISH beruht auf

der Verwendung von Fluoreszenzsonden, die gegen spezifische chromosomale Loci gerichtet sind. Diese Technik kann sowohl an Interphase- als auch an Metaphasechromosomen durchgeführt werden. Die Sonden können entweder zum Screening auf bekannten und/oder vermuteten zytogenetischen Aberrationen oder, wenn sie gegen Zentromere gerichtet sind, zum Nachweis numerischer Aberrationen verwendet werden. Die Verwendung der sog. 24-Farben-FISH ermöglicht die Charakterisierung/Validierung von komplexen Chromosomenveränderungen. Während die Chromosomenanalyse eine ungerichtete, umfassende Auswertung des Chromosomensatzes ermöglicht, bietet FISH einen gezielten, aber schnellen Ansatz. Verschiedene Subtypen von MDS und AML werden durch spezifische zytogenetische Aberrationen definiert [6, 7].

Molekulargenetik

Die Molekulargenetik hat sich rasch zu einer unverzichtbaren diagnostischen Disziplin entwickelt und zu großen Fortschritten in unserem Verständnis der molekularen Landschaft von klonalen Erkrankungen, einschließlich der AML, geführt. Sie hat wesentlich zur Optimierung nicht nur der Klassifizierung, sondern auch der Prognose und der Überwachung der Resterkrankung (MRD) beigetragen. Der Nutzen dieser Anwendung muss weiter durch Studien belegt werden. Darüber hinaus hat sie die Entwicklung gezielter Therapeutika unterstützt und wird zunehmend als therapeutisches Entscheidungsinstrument eingesetzt [5]. In der AML-Diagnostik stellt das Next Generation Sequencing (NGS) durch die massive Parallelisierung den Goldstandard dar und wird in jedem Fall für die molekulare Charakterisierung bei Erstdiagnose eingesetzt, um so die multiplen somatischen Veränderungen (■ Tab. 1) in kurzen Zeitabständen zur Probennahme liefern zu können. Panelbasierte Sequenzierungen stellen den derzeitigen Stand der NGS-Methodik dar. Ein solches Panel könnte zum Beispiel alle Gene umfassen, von denen bekannt ist, dass sie mit myeloischen Neoplasien assoziiert und heute diagnostische und/oder klinische Relevanz besitzen. Panelbasierte Sequenzierung hat zu einer besseren molekularen Charakte-

risierung bei AML geführt und kann möglicherweise perspektivisch auch für MRD-Bestimmung eingesetzt werden. Durch die klonale Expansion unter dem therapeutischen Selektionsdruck kommt die umfassende Verlaufskontrolle auf Basis der NGS-Technologie auch bei Verlaufspuren immer häufiger zu Einsatz. Somit können Resistenzmechanismen auf Therapieformen besser charakterisiert, Erkrankungsrückfälle besser verstanden [9] und neu akquirierte therapeutische Zielstrukturen identifiziert werden. Durch den weiteren technologischen Fortschritt und die Automation von Arbeitsabläufen im Labor und in der Datenanalyse können geforderte Bearbeitungszeiten (■ Tab. 1) von 3–5 Arbeitstagen in der Routinediagnostik heutzutage sehr gut realisiert werden.

Mit der Methode der quantitativen PCR (qPCR) oder digitalen PCR (dPCR) lassen sich Aberrationen nicht nur gezielt und kostengünstig nachweisen, sondern insbesondere bei Verlaufspuren sensitiv überwachen. Die Amplifikation der Vorlage wird in Echtzeit mit Fluoreszenzsonden gemessen und die Quantifizierung erfolgt relativ zu einem Standard oder durch absolute Quantifikation [8, 10].

Beurteilung von Verlaufspuren, messbare Resterkrankung (MRD)

Die Erkennung von Resterkrankungen bei hämatologischen Neoplasien hat sich parallel zur Therapieoptimierung verbessert. Sensitivitäten von Zytomorphologie oder FISH [11, 12] werden nicht als ausreichend erachtet, um die Krankheitsentwicklungskinetik bei AML hinreichend beschreiben zu können. Dies spiegelt sich auch in der Abkürzung „MRD“ wider, die heute korrekter als messbare Resterkrankung definiert wird. Empfindlichkeiten von mindestens 10^{-4} (10^{-6} – 10^{-8} werden in einigen hämatologischen Neoplasien wie dem multiplen Myelom bereits untersucht und etabliert) sind nötig, um Restkrankheit zu beurteilen zu können. Dies kann erreicht werden durch den Einsatz modernster molekularer Ansätze wie qPCR, dPCR oder Parallelsequenzierung mit erhöhter Lesetiefe und einer Nachweisgrenze von min. 1% Mutationsallelfrequenz. Derzeit werden die Translokationen *RUNX1::RUNX1T1*, *PML::RARA* und *CBFB::MYH11* sowie die

NPM1-Mutation von der ELN-Kommission als mögliche MRD-Marker definiert [11]. Weitere Studien sind erforderlich, um Mutationen zu identifizieren und zu unterscheiden, die tatsächlich auf eine residuale AML hinweisen und nicht auf klonale Anomalien der Hämatopoese. Es ist wichtig anzumerken, dass NGS-basierte Strategien als eigenständige Technik zur MRD-Bewertung derzeit nicht standardisiert sind [6, 13].

Asservierung von Proben in der Augsburg Central BioBank (ACBB)

Darüber hinaus werden im Rahmen von klinischen Studien und insbesondere in der Routineversorgung in Augsburg Patientenproben in der Biobank asserviert. Dies beinhaltet Knochenmark-, Blut- und Nukleinsäureproben von Patienten mit einer hämatologischen Neoplasie, die zum Zeitpunkt der Diagnose, der Remission und des Rezidivs entnommen und unter entsprechenden Bedingungen gelagert werden. Dies erfolgt ausschließlich nach der initialen Aufklärung und Unterzeichnung eines allgemeinen Konsenses für die wissenschaftliche Verwendung des Probenmaterials. Somit stehen die Proben einer angeschlossenen wissenschaftlichen Fragestellung zur Verfügung.

Arbeitsabläufe in der Molekularpathologie

Für die umfassende Charakterisierung der myeloischen Neoplasien werden unterschiedliche Probentypen in der Pathologie aufbereitet. Grundlegend werden die Knochenmarkbiopsien, die bei einer Knochenmarkpunktion gewonnen werden wie andere Gewebeproben für die histomorphologische und immunhistochemische Aufarbeitung in der Pathologie entsprechend prozessiert. Durch die enge Zusammenarbeit mit der Hämatologie werden die korrespondierenden Knochenmarkaspirate und peripheren Blutproben (KM EDTA/Heparin oder PB EDTA/Heparin) für eine genetische Routinediagnostik in der Molekularpathologie tagesaktuell aufbereitet und bei Anforderung auch für die Biobank asserviert. Dies stellt eine wichtige qualitative Ressource für die Forschung dar und ermöglicht so die spätere

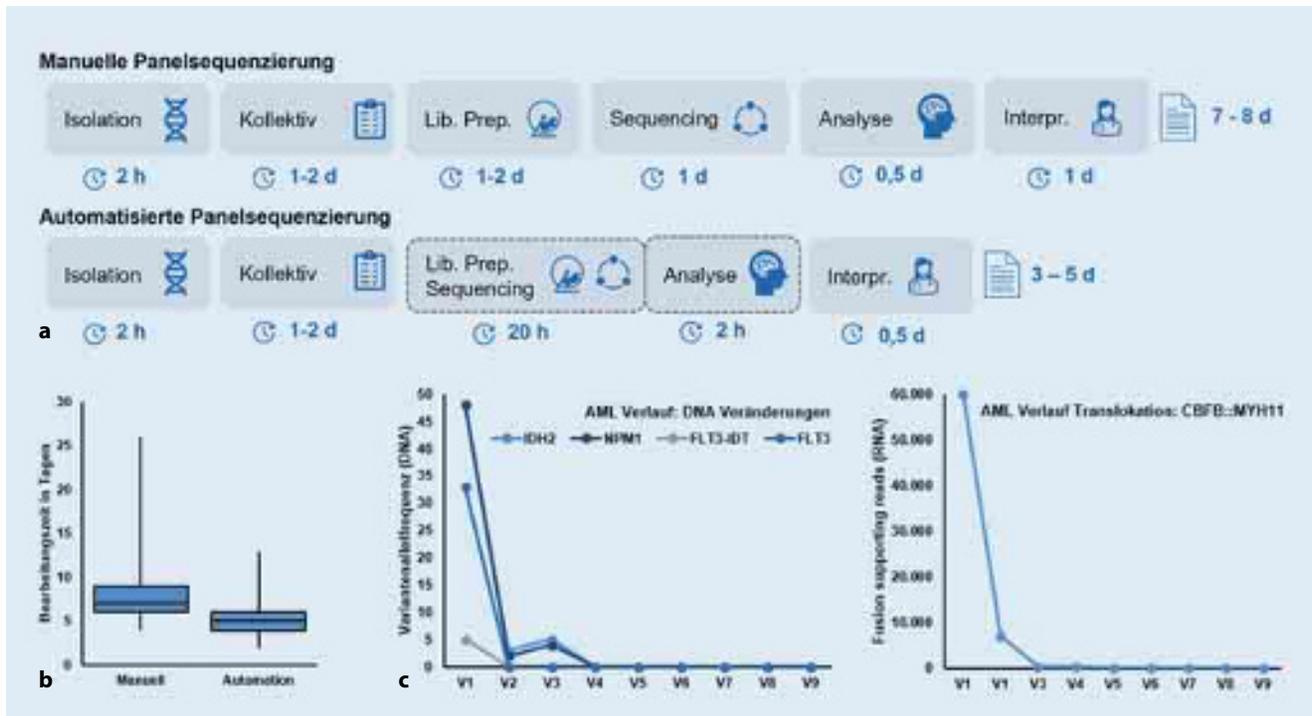


Abb. 1 ▲ Lösung für eine molekulargenetische Aufbereitung von Proben myeloischer Neoplasien. **a** Gegenüberstellung der manuellen und automatisierten Panelsequenzierung. **b** Manuelle Panelsequenzierung vs. Automationslösung, Vergleichende Darstellung von Bearbeitungszeiten von DNA/RNA zum Befund. **c** Verlaufsdokumentation eines Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) mit somatischen Veränderungen auf DNA und Translokation auf RNA über jeweils 9 Verlaufspunkte

Integration von Routinedaten und Forschungsergebnissen. Nach Isolation von DNA und RNA aus Gesamtblut oder Knochenmark werden die Proben für einen Sequenzierungslauf gesammelt. Für eine wirtschaftliche Bearbeitung und unter Berücksichtigung der vorgegebenen Befundzeiten (Tab. 1) werden 8 Proben für einen Lauf zusammengeführt. Dies nimmt 1–2 Tage, je nach Probenaufkommen, in Anspruch. Danach erfolgt die manuelle Librarypräparation und anschließende Sequenzierung. Anschließend erfolgt die sekundäre und tertiäre bioinformatische Analyse der Rohdaten. Dies erfolgt einschließlich der Variantenklassifikation in der Molekularpathologie. Diese Ergebnisse werden schließlich durch die Interpretation, unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus Blutbild, Zytogenetik und Immunphänotypisierung, durch einen Facharzt der Hämatologie zusammengeführt und daraus eine Befundung im klinischen Kontext des spezifischen Patienten abgeleitet (Abb. 1a). Die manuelle Aufbereitung der Proben und die anschließende Sequenzierung nimmt einen großen Teil der Bearbeitungszeiten in Anspruch, die eine

verlässliche Befundübermittlung innerhalb von 3–5 Arbeitstagen nicht ermöglicht. Durch die Implementierung einer Laborautomation für die Bearbeitung von myeloischen Panellösungen konnten die Bearbeitungszeiten im Labor bei gleicher Qualität und geringerem personellen Aufwand deutlich reduziert werden (Abb. 1a, b). So können Therapieansprechen lückenlos und ohne Zeitverlust verfolgt werden. Die umfassende Analyse von Erstdiagnose und Verlaufspunkten mittels Panelsequenzierung stellt einen wichtigen Parameter für das Therapieansprechen und die Krankheitskontrolle dar und ermöglicht die Beurteilung potenzieller klonaler Evolution (Abb. 1c). Dies ermöglicht so eine optimale Patientenversorgung in der Hämatologie am Standort und fördert den Kompetenzaufbau am Universitätsklinikum.

Zusammenfassung und Ausblick

Die genetische Risikoklassifizierung nach ELN erfordert eine schnelle und umfassende molekulare Verarbeitung von peripheren Blutproben oder Knochenmarkaspira-

ten bei AML/MDS-Patienten. Dabei nimmt die Molekulargenetik immer größere Bedeutung für die Klassifizierung und Risikostratifizierung bei AML/MDS ein. Mittlerweile lassen sich die Anzahl von Veränderungen auf DNA und RNA nicht mehr in einem geforderten Bearbeitungszeitraum von 3–5 Tagen in einer herkömmlichen Stufendiagnostik oder über eine Vielzahl von Anwendungen analysieren. Deshalb eignen sich Panellösungen mit einer auf die klonale Erkrankung zugeschnittenen Auswahl an Genen oder genomischen Regionen für eine schnelle und qualitativ hochwertige Analyse verschiedener Probentypen für die genetische Charakterisierung von hämatologischen Neoplasien bei Erstdiagnose, aber auch bei Verlaufspunkten zur Untersuchung von Restkrankungen (MRD). Es hat sich am Standort Universitätsklinikum Augsburg gezeigt, dass durch eine enge und interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Hämatologen, Pathologen und Molekularpathologen eine sehr gute und moderne Versorgung von hämatologischen Neoplasien möglich ist. Diese bildet eine wichtige Grundlage für ein besseres Verständnis der Erkrankungen

durch angeschlossene Forschungsprojekte und ermöglicht eine Verbesserung der Patientenversorgung in der Zukunft.

Fazit für die Praxis

- Probenmaterial wie periphere Blutproben, Knochenmarkaspirate und zugehörige Stenzen eignen sich für die molekulare Diagnostik.
- Die lokale ganzheitliche Diagnostik hat große Vorteile in der interdisziplinären Patientenversorgung.
- Umfassende Molekulargenetik für Patienten mit akuter myeloischer Leukämie mit kurzer Bearbeitungszeit ist möglich und wird immer wichtiger in der Risikoabschätzung von hämatologischen Neoplasien.
- Die umfassende molekulare Verlaufsbeurteilung unterstützt eine Beurteilung des Therapieansprechens in Echtzeit.

Korrespondenzadresse



Dr. Sebastian Dintner
Institut für Pathologie und molekulare Diagnostik, Universitätsklinikum Augsburg
Senglinstr. 2, 86156 Augsburg, Deutschland
sebastian.dintner@uk-augsburg.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. S. Dintner, M. Schmutz, S. Sommer, A. Langer, K. Hirschbühl, R. Claus, C. Schmid, M. Trepel und B. Märkl geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. Sankaran VG et al (2015) Anemia: progress in molecular mechanisms and therapies. *Nat Med* 21(3):221–230

NGS-based molecular genetics of leukemia—a powerful and decentralized approach

The diagnosis of acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndrome (MDS), originally based on morphological assessment alone, has to bring together more and more disciplines. Today, modern AML/MDS diagnostics rely on cytomorphology, cytochemistry, immunophenotyping, cytogenetics, and molecular genetics. Only the integration of all these methods allows a comprehensive and complementary characterization of each case, which is a prerequisite for optimal AML/MDS diagnosis and treatment. In the following, we present why multidisciplinary and local diagnosis is essential today and will become even more important in the future, especially in the context of precision medicine. We present our idea and strategy implemented at Augsburg University Hospital, which has realized multidisciplinary diagnostics in AML/MDS in an interdisciplinary and decentralized approach. In particular, this includes the recent technical advances that molecular genetics provides with modern methods. The enormous amount of data generated by these techniques represents a major challenge, but also a unique opportunity. We will reflect on how this increase in knowledge can be integrated into routine practice to lead the way for personalized medicine in AML/MDS to improve patient care.

Keywords

Tumor diagnostic · Leukemia · Panel sequencing · Hematology · Molecular classification · MRD

2. Knudson AG Jr. (1971) Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 68(4):820–823
3. Arber DA et al (2022) The International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood* 140(11):1200–1228
4. Bataller A et al (2022) European LeukemiaNet 2017 risk stratification for acute myeloid leukemia: validation in a risk-adapted protocol. *Blood* 6(4):1193–1206
5. Arber DA et al (2016) The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 127(20):2391–2405
6. Döhner H et al (2022) Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood* 140(12):1345–1377
7. Haferlach T, Schmidts I (2020) The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 188(1):36–48
8. Cilloni D et al (2019) Digital PCR in myeloid malignancies: ready to replace quantitative PCR? *Int J Mol Sci* 20(9):2249
9. Ding L et al (2012) Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. *Nature* 481(7382):506–510
10. Shelton DN et al (2022) Performance characteristics of the first Food and Drug Administration (FDA)-cleared digital droplet PCR (ddPCR) assay for BCR::ABL1 monitoring in chronic myelogenous leukemia. *PLoS ONE* 17(3):e265278
11. Schuurhuis GJ et al (2018) Minimal/measurable residual disease in AML: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood* 131(12):1275–1291
12. Ravandi F et al (2018) Evaluating measurable residual disease in acute myeloid leukemia. *Blood Adv* 2(11):1356–1366
13. Jongen-Lavrencic M et al (2018) Molecular minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 378(13):1189–1199

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

CD23-positive, *BCL2*-Rearrangement-negative Keimzentrumslymphome

Thomas Menter¹ · Leticia Quintanilla-Martinez²

¹ Pathologie, Institut für Medizinische Genetik und Pathologie, Universitätsspital Basel, Universität Basel, Basel, Schweiz

² Institut für Pathologie und Neuropathologie und Comprehensive Cancer Center Tübingen, Universitätskrankenhaus Tübingen, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Tübingen, Deutschland

Zusammenfassung

Im Rahmen der Erkenntnis, dass die Gruppe der folliculären Lymphome als sehr heterogen anzusehen ist, wurde in den letzten Jahren eine Gruppe folliculärer Lymphome abgegrenzt, die sich durch ein oft diffuses Wachstum (ohne Ausbildung folliculärer Strukturen) sowie Expression von CD23 in den Lymphomzellen und das Fehlen der klassischen *BCL2*-Translokation auszeichnete. Weitere Merkmale sind eine bevorzugte inguinale Lokalisation der Lymphome sowie ein lokalisiertes Stadium mit einer guten Prognose. Genetisch zeichnet sich diese Lymphomgruppe durch eine hohe Rate an *STAT6*- beziehungsweise *SOCS1*-Mutationen aus.

Die ICC-Klassifikation trug dieser Entwicklung durch die Einführung der provisorischen Entität „CD23-positives, *BCL2*-Rearrangement-negatives Keimzentrumslymphom“ Rechnung. Weitere Studien müssen nun zeigen, wie genau sich diese Entität definieren lässt (Kombination aus Morphologie, immunhistochemischem Phänotyp, Fokus auf genetische Alterationen), um so den Weg hin zu einer einheitlichen Klassifikation und auch einer besseren klinischen Charakterisierung dieser Fälle – insbesondere auch im Hinblick auf die möglichen therapeutischen Optionen – zu ermöglichen.

Schlüsselwörter

Folliculäres Lymphom · *SOCS1* · *STAT6* · ICC-Klassifikation · WHO-Klassifikation

Zahlreiche Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass die Gruppe der folliculären Lymphome sehr heterogen ist. Neben dem „klassischen“ folliculären Lymphom, definiert durch seine Morphologie mit starren neoplastischen Follikeln, einer Koexpression von CD10 und *BCL2* sowie dem Nachweis einer *BCL2*-Translokation, die ca. 80 % der folliculären Lymphome ausmachen [3], lassen sich hier die gut belegten und anerkannten Gruppen der *in situ* folliculären Neoplasie, des duodenalen folliculären Lymphoms, des testikulären folliculären Lymphoms, des kutanen Keimzentrumlymphoms, des pädiatrischen folliculären Lymphoms und des großzelligen folliculären Lymphoms mit *IRF4*-Rearrangement abgrenzen [1, 2]. Bis auf die *in situ* folliculäre Neoplasie und das duodenale folliculäre Lymphom zei-

gen diese Entitäten klassischerweise kein *BCL2*-Rearrangement. Eine weitere Entität des folliculären Lymphoms, das CD23-positiv *BCL2*-Rearrangement-negative Keimzentrumslymphom, wird in diesem Beitrag diskutiert und vorgestellt.

Der Weg von der Erstbeschreibung zur provisorischen Entität in der ICC-Klassifikation

Bereits 2009 wurde eine weitere Subgruppe der folliculären Lymphome postuliert, die sich primär durch ein diffuses Wachstumsmuster mit Zerstörung der normalen Lymphknotenarchitektur auszeichnet [5] (siehe **Abb. 1**). Diese Fälle fanden sich primär in inguinale Lokalisation, zeigten eine diffuse Positivität für CD23 und kein *BCL2*-Rearrangement. Ein weiteres morphologi-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

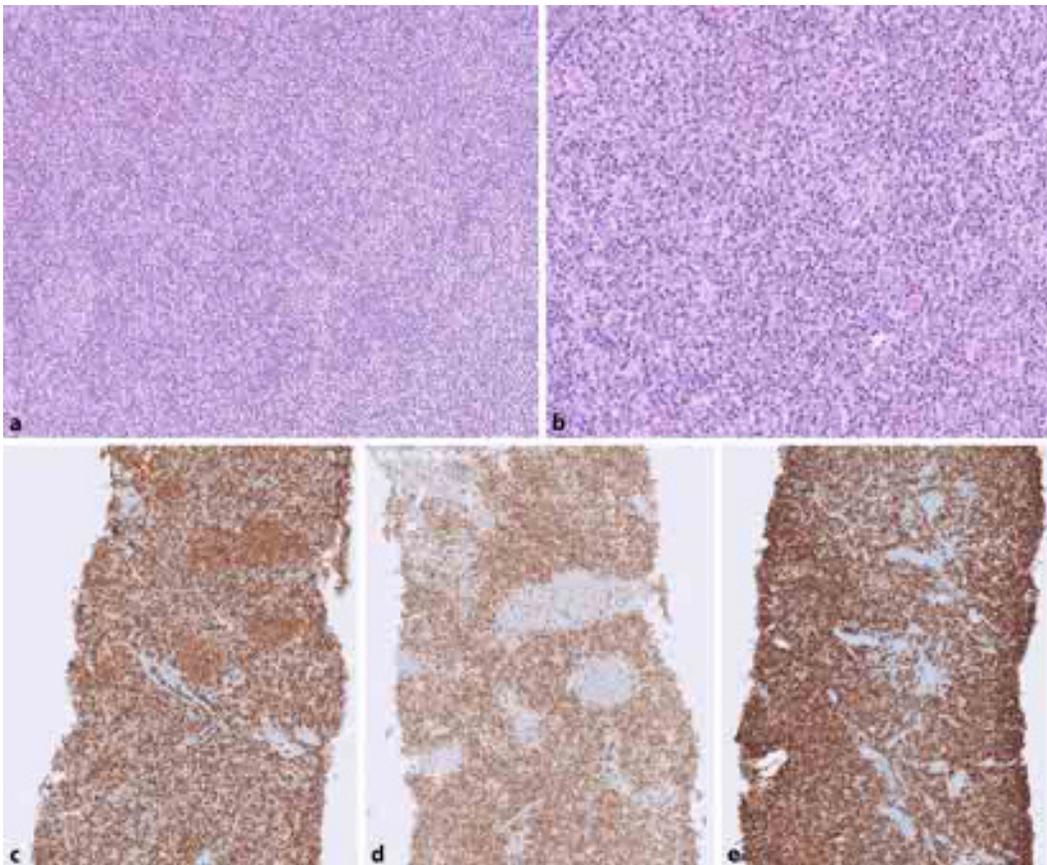


Abb. 1 ▲ *Klassische Morphologie und Immunphänotyp des CD23-positiven Keimzentrumslymphoms ohne BCL2-Rearrangement.* **a, b** Morphologie des Lymphoms mit diffusem Wachstumsmuster kleiner reifzelliger Lymphozyten und völliger Verdrängung der normalen Lymphknotenarchitektur. HE-Färbung, Vergr. 40:1 bzw. 400:1. **c** In der Färbung für CD20 zeigt sich das diffuse Wachstum mit der Ausbildung kleiner Mikrofollikel, die konventionell-morphologisch nicht nachweisbar waren. CD20-Immunhistochemie, Vergr. 100:1. **d** Die Lymphomzellen sind negativ für BCL2, was insbesondere im Bereich der erwähnten Mikrofollikel ersichtlich ist, da sich im Hintergrund zahlreiche reaktive, BCL2-positive T-Zellen finden. BCL2-Immunhistochemie, Vergr. 100:1. **e** In der CD23-Färbung zeigt sich eine diffuse Positivität der Lymphomzellen, erhaltene Netzwerke follikulärer dendritischer Zellen sind nicht nachweisbar. CD23-Immunhistochemie, Vergr. 100:1

sches Charakteristikum ist der Nachweis sog. Mikrofollikel, was oft erst in der immunhistochemischen Färbung für B-Zell-Marker deutlich wird. Es konnte gezeigt werden, dass es sich bei den Mikrofollikeln um Anteile des Lymphoms und nicht um bestehende reaktive Follikel handelt (siehe **Abb. 1c, d**). Auch Netzwerke der follikulären dendritischen Zellen sind hier nicht ausgebildet [11]. Aufgrund der fehlenden *BCL2*-Translokation sind die Lymphomzellen nur sehr schwach positiv oder meist komplett negativ für *BCL2*. Andere klassische Keimzentrummarker (*GCET*, *HGAL*, *LMO2*, *BCL6*, *MEF2B*) sind hingegen exprimiert. In der *CD23*-Färbung zeigt sich neben der schon erwähnten Positivität der Lymphomzellen kein Netzwerk follikulärer dendritischer Zellen.

Weitere Studien in den folgenden Jahren bestätigten das Vorhandensein dieser Fälle und konnten auch verschiedene genetische Charakteristika dieser Lymphomgruppe herausarbeiten, auf die im Folgenden noch detailliert eingegangen wird [9, 11, 12].

Diese Befunde führten dazu, dass die ICC-Klassifikation diesen Subtyp des follikulären Lymphoms als provisorische Entität aufnahm („*CD23*-positives, *BCL2*-Rearrangement-negatives Keimzentrumslymphom“) [2]. In der neuen WHO-Klassifikation findet sich hierfür keine genaue Entsprechung, die meisten dieser Fälle werden hier in der Gruppe der klassischen follikulären Lymphome mit ungewöhnlichen Merkmalen subsumiert [1].

Einblicke in die Genetik

Schon die erste Studie aus dem Jahr 2009 konnte genetische Charakteristika – abgesehen vom Fehlen der *BCL2*-Translokation – herausarbeiten. So beschrieben Katzenberger et al. einen Verlust im *1p36*-Locus in 93 % ihrer Fälle [5]. In der Analyse weiterer größerer Kohorten wurde diese Zahl deutlich nach unten korrigiert und liegt bei ca. einem Drittel der Fälle [6]. Eine weitere typische genetische Veränderung sind aktivierende *STAT6*-Mutationen. Die *STAT6*-Aktivierung führt zu einer Aktivierung des Interleukin-4(*IL4*)-Signalwegs, was letztendlich auch zur Überexpression von *CD23* führt. Die *CD23*-Expression kann so als Surrogatmarker für die *STAT6*-Mutation angesehen werden [4, 6]. Des Weiteren zeigte sich, dass in *STAT6*-negativen Fällen

oft Mutationen in *SOCS1* gefunden werden, auch dieses Gen ist am IL4-Signalweg beteiligt [6].

Letztendlich konnten 2 genetische Subgruppen der *STAT6*-mutierten folliculären Lymphome definiert werden [6]: Die eine Gruppe ist charakterisiert durch Mutationen oder ein „loss of heterozygosity“ (LOH) von *TNFRS14*, das auf dem schon erwähnten 1p36-Locus liegt, sowie Mutationen in *CREBBP* und *EZH2*. Diese Gruppe zeigt große Überlappungen mit den klassischen folliculären Lymphomen. Die zweite Gruppe zeigt auch *CREBBP*-Mutationen, jedoch keine Mutationen in *EZH2* und *TNFRS14*.

Sind alle CD23-positiven folliculären Lymphome gleich?

Durch die mittlerweile vorhandenen größeren Kollektive an Fällen, die gemäß den vorgegebenen Merkmalen (CD23-Positivität, kein *BCL2*-Rearrangement) in diese Kategorie passen, zeigt sich jedoch eine gewisse Heterogenität. So weisen bei weitem nicht alle Fälle ein diffuses Wachstumsmuster auf (in manchen Kohorten nur bis zu 30%). Auch teilweises oder vollständiges folliculäres Wachstum wie beim klassischen folliculären Lymphom sind dokumentiert [6, 9, 11]. Zudem treten die Lymphome nicht nur inguinal auf. Auf der anderen Seite ist jedoch die Kombination aus diffusem Wachstum und inguinaler Lokalisation sowie niedrigem klinischem Stadium sehr typisch.

Um die Rolle der CD23-Expression besser zu verstehen, haben wir eine größere Kohorte von folliculären Lymphomen mit Selektion auf CD23-Expression unabhängig von anderen Parametern untersucht. Erste Analysen zeigten, dass hierbei unterschieden werden muss, ob eine diffuse Expression von CD23 vorliegt oder nur eine Expression von CD23 in den Lymphomzellen in der interfolliculären Zone. Lediglich die erste Gruppe zeigt auch eine Prädominanz von *STAT6/SOCS1*-Mutationen. Bei der Expression von CD23 in der interfolliculären Zone liegt dies meist an Interaktionen mit dem Tumor-Microenvironment und zeigt keine Assoziation mit *STAT6/SOCS1*-Alterationen [7]. Derzeit führen wir noch Genexpressionsstudien durch, um weitere Einblicke in die Pathogenese dieser Lymphome zu erlangen. Be-

kannt ist diesbezüglich schon, dass auch das Tumor-Microenvironment eine große Rolle spielt, da auch folliculäre T-Helferzellen IL4 produzieren können, was zur Proliferation und zum Überleben der Lymphomzellen beitragen kann [7].

Mit der Positivität für CD23 kommen auch potenzielle andere Lymphomentitäten in die Differentialdiagnose, die aber gut morphologisch beziehungsweise durch weitere immunhistochemische Untersuchungen ausgeschlossen werden können: Die CLL/SLL zeigt neben der CD23-Expression auch eine Positivität für CD5 und LEF1. Das Mantelzelllymphom und das Marginalzonenlymphom können gemäß Literaturangaben in seltenen Fällen eine schwache CD23-Expression zeigen [8, 10]. Die Diagnose des Mantelzelllymphoms kann durch seinen spezifischen Phänotyp (Koexpression von CD5, Cyclin D1 und SOX11 in den nichtleukämischen Fällen) leicht gesichert werden. Beim Marginalzonenlymphom ist dies schwierig, da hier spezifische immunhistochemische Marker fehlen, morphologische Hinweise wären eine Kolonisierung bestehender reaktiver Follikel oder eine deutliche plasmazytoide Ausdifferenzierung sowie eine Leichtkettenrestriktion der Plasmazellen. Es gibt jedoch Anzeichen dafür, dass die beschriebenen CD23-positiven Marginalzonenlymphome doch eher der Gruppe der CD23-positiven Keimzentrumslymphome ohne *BCL2*-Rearrangement zuzuordnen sind (auch hier Nachweis von *STAT6*-Mutationen) [6].

Ausblick

Die hier dargestellten Erläuterungen zeigen, dass eine weitere Untersuchung dieses Lymphomtyps und dessen Abgrenzungen von anderen Subgruppen des folliculären Lymphoms weiter voranzutreiben sind. Das Gefäß der „provisorischen Entität“ bietet hierbei die Möglichkeit, Patholog:innen auf diesen speziellen Subtyp aufmerksam zu machen und somit das Erkennen und die bessere Erforschung dieser Fälle zu erleichtern. Zudem muss bei einer entsprechenden Reevaluation dieser Gruppe auch kritisch die Definition der Grundkriterien (Morphologie, immunhistochemischer beziehungsweise genetischer Phänotyp) hinterfragt werden. Nur so kann es letztend-

lich gelingen, diese Lymphomgruppe klar abzugrenzen und so auch für unsere klinischen Kolleg:innen erkennbar zu machen. Dies sollte ja letztendlich das Ziel jeder Klassifikation sein, da so gezielte klinische Studien dieser „Subentität“ möglich sind, um die Therapie und Prognose der Patient:innen zu optimieren.

Fazit für die Praxis

- Die Abgrenzung CD23-positiver Keimzentrumslymphome ohne *BCL2*-Rearrangement ist ein wichtiger Schritt zum besseren Verständnis dieser Entität.
- Der alleinige Fokus auf die CD23-Expression kann als unvollständig angesehen werden, jedoch zeigen insbesondere die *BCL2*-Rearrangement-negative Fälle mit diffuser CD23-Expression auch in den Keimzentren eine hohe Rate von *STAT6/SOCS1*-Mutationen.
- Die genaue Definition dieses Subtyps (basierend auf Morphologie, immunhistochemischem Phänotyp oder genetischen Merkmalen) ist noch nicht abgeschlossen und bedarf weiterer Studien an größeren Kollektiven.

Korrespondenzadresse



PD Dr. Thomas Menter

Pathologie, Institut für Medizinische Genetik und Pathologie, Universitätsspital Basel, Universität Basel
Schönbeinstr. 40, 4031 Basel, Schweiz
thomas.menter@usb.ch

Funding. Open access funding provided by University of Basel

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. T. Menter und L. Quintanilla-Martinez geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt.

Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Open Access. Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Literatur

- Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IBO, Berti E et al (2022) The 5th edition of the world health organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia* 36(7):1720–1748. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2>
- Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC et al (2022) The international consensus classification of mature lymphoid neoplasms: a report from the clinical advisory committee. *Blood* 140(11):1229–1253. <https://doi.org/10.1182/blood.2022015851>
- Carbone A, Roulland S, Gloghini A, Younes A, von Keudell G, Lopez-Guillermo A et al (2019) Follicular lymphoma. *Nat Rev Dis Primers* 5(1):83. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0132-x>
- Crouch S, Painter D, Barrans SL, Roman E, Beer PA, Cooke SL et al (2022) Molecular subclusters of follicular lymphoma: a report from the united kingdom's haematological malignancy research network. *Blood Adv* 6(21):5716–5731. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021005284>
- Katzenberger T, Kalla J, Leich E, Stocklein H, Hartmann E, Barnickel S et al (2009) A distinctive subtype of t(14;18)-negative nodal follicular non-Hodgkin lymphoma characterized by a predominantly diffuse growth pattern and deletions in the chromosomal region 1p36. *Blood* 113(5):1053–1061. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-168682>
- Nann D, Ramis-Zaldivar JE, Müller I, Gonzalez-Farre B, Schmidt J, Egan C et al (2020) Follicular lymphoma t(14;18)-negative is genetically a heterogeneous disease. *Blood Adv* 4(22):5652–5665. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002944>
- Pangault C, Ame-Thomas P, Ruminy P, Rossille D, Caron G, Baia M et al (2010) Follicular lymphoma cell niche: identification of a preeminent IL-4-dependent T(FH)-B cell axis. *Leukemia*

CD23 positive, BCL2 rearrangement-negative germinal centre lymphomas

Acknowledging that the group of follicular lymphomas is to be regarded as very heterogeneous, a group of follicular lymphomas has been delineated in recent years that was characterised by an often diffuse growth (without formation of evident follicular structures) as well as expression of CD23 in the lymphoma cells and the absence of the classic *BCL2* translocation. Further characteristics are a preferred inguinal localisation of the lymphomas and a localised stage with a good prognosis. Genetically, this lymphoma group is characterised by a high rate of either *STAT6* or *SOCS1* mutations.

The ICC classification took this development into account by introducing the provisional entity CD23 positive, *BCL2* rearrangement-negative germinal centre lymphoma. Further studies must now show how exactly this entity can be defined (combination of morphology, immunohistochemical phenotype, focus on genetic alterations) in order to pave the way towards a uniform classification and a better clinical characterisation of these cases – especially with regard to possible new therapeutic treatment options.

Keywords

Follicular lymphoma · *SOCS1* · *STAT6* · ICC classification · WHO classification

24(12):2080–2089. <https://doi.org/10.1038/leu.2010.223>

- Saksena A, Yin CC, Xu J, Li J, Zhou J, Wang SA et al (2019) CD23 expression in mantle cell lymphoma is associated with CD200 expression, leukemic non-nodal form, and a better prognosis. *Hum Pathol* 89:71–80. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.04.010>
- Siddiqi IN, Friedman J, Barry-Holson KQ, Ma C, Thodima V, Kang I et al (2016) Characterization of a variant of t(14;18) negative nodal diffuse follicular lymphoma with CD23 expression, 1p36/TNFRSF14 abnormalities, and *STAT6* mutations. *Mod Pathol* 29(6):570–581. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.51>
- van den Brand M, van Krieken JH (2013) Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. *Haematologica* 98(7):1003–1013. <https://doi.org/10.3324/haematol.2012.083386>
- Xian RR, Xie Y, Haley LM, Yonescu R, Pallavajjala A, Pittaluga S et al (2020) CREBBP and *STAT6* co-mutation and 16p13 and 1p36 loss define the t(14;18)-negative diffuse variant of follicular lymphoma. *Blood Cancer J*. <https://doi.org/10.1038/s41408-020-0335-0>
- Zamo A, Pischmarov J, Horn H, Ott G, Rosenwald A, Leich E (2018) The exomic landscape of t(14;18)-negative diffuse follicular lymphoma with 1p36 deletion. *Br J Haematol* 180(3):391–394. <https://doi.org/10.1111/bjh.15041>

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

The role of flow cytometry in the classification of myeloid disorders

Leonie Saft

Clinical Pathology and Cancer Diagnostics, Karolinska University Hospital and Institute, Stockholm, Sweden

Abstract

The World Health Organization classification (WHO-HAEM5) and the International Consensus Classification (ICC 2022) of myeloid neoplasms are based on the integration of clinical, morphologic, immunophenotypic, and genomic data. Flow cytometric immunophenotyping (FCIP) allows the identification, enumeration, and characterization of hematopoietic cells, and is therefore a powerful tool in the diagnosis, classification, and monitoring of hematological neoplasms. The vast majority of flow cytometry (FCM) studies in chronic myeloid neoplasms focus on its role in myelodysplastic neoplasms (MDS). FCM can also be helpful for the assessment of myeloproliferative neoplasms (MPN) and MDS/MPN, including the early detection of evolving myeloid or lymphoid blast crisis and the characterization of monocytic subsets. The classification of acute myeloid leukemia (AML) is primarily based on cytogenetic and molecular findings; however, FCIP is needed for subclassification of AML, not otherwise specified (NOS; ICC)/AML defined by differentiation (WHO-HAEM5). The main role of FCM in AML remains in making a rapid diagnosis and as a tool for measurable residual disease monitoring. Machine learning and artificial intelligence approaches can be used to analyze and classify FCM data. This article, based on an invited lecture at the 106th Annual Meeting of the German Society of Pathology in 2023, reviews the role of FCM in the classification of myeloid neoplasms, including recent publications on the application of artificial intelligence.

Keywords

Flow cytometry · Myeloid neoplasms · Classification · Immunophenotyping · Artificial intelligence

Flow cytometry is an indispensable tool in the diagnosis and monitoring of hematologic neoplasms. It allows the identification, enumeration, and characterization of hematopoietic cells in the peripheral blood and bone marrow. Immunophenotypic characteristics are included as diagnostic criteria in the fifth edition of the WHO classification (WHO-HAEM5) and the International Consensus Classification (ICC). This article reviews the role of flow cytometry in the classification of myeloid neoplasms, including recent publications on the application of artificial intelligence.

Flow cytometric immunophenotyping (FCIP) is a powerful laboratory tool for diagnosis, classification, and monitoring of hematologic neoplasms. In the past decades, clinical flow cytometry (FCM) has evolved from a technique primarily used to characterize large populations of abnormal cells to one that can also routinely evaluate small cell populations for subtle aberrancies in antigen expression. These advances have expanded and refined the clinical applications of FCM. The WHO-HAEM5 [14] and the ICC [1] endorse a multiparametric, integrated approach to diagnosis and outline the morphologic, immunophenotypic, and genetic features characteristic of each disease entity.



Scan QR code & read article online

Table 1 Flow cytometric immunophenotyping in the diagnosis and classification of myeloid neoplasms				
Major WHO-HAEM5/ICC categories of myeloid neoplasms	Immunophenotypic characterization/alteration	Significance	Citation no.	Literature review
				reference by author/year/journal
MDS	Broad MDS panel with a core set of 17 markers according to European Leukemia Network (ELN) guidelines; MDS scores, reviewed in [19]; screening panel for cases with unclear cytopenia [22]	High concordance of aberrant findings with cytomorphology; >3% CD34 ⁺ myeloid progenitors highly associated with MDS	[1, 12, 14, 19–22, 28, 29]	Shameli et al. (2021), <i>Cytometry B Clin Cytom</i> 100 Chan et al. (2023), <i>Cytometry B Clin Cytom</i> 104 Subira et al. (2021), <i>Ann Hematol</i> 100 Refer to Table 2 for additional references
MPN	Myeloid progenitors (quantification; aberrant immunophenotype) Alterations in maturing myelomonocytic cells; use of “monocyte assay”	Distinction between MPN with monocytosis & CMML; quantification & characterization of blasts Detection of evolving lymphoblastic crisis in CML; distinction between MPN-AP & de novo acute leukemia	[8, 18, 26]	Ouang et al. (2015), <i>Cytometry B Clin Cytom</i> 88 Bassan et al. (2022), <i>Med Oncol</i> 39 Kern et al. (2013), <i>Cytometry B Clin Cytom</i> 84 Mannelli et al. (2022), <i>Am J Hematol</i> 97 Guglielmelli et al. (2017), <i>Blood</i> 129 Jerczynski et al. (2017), <i>Am J Hematol</i> 92 Bardet et al. (2015), <i>Haematologica</i> 100 El Rassi et al. (2015), <i>Cancer</i> 121 Chan et al. (2023), <i>Cytometry B Clin Cytom</i> 104
MDS/MPN	MDS-type immunophenotypic alterations; quantification & characterization of myeloid progenitors; immunophenotypic characterization of monocytic subsets	Abnormal partitioning of monocytic subsets as diagnostic criterion in CMML (versus other myeloid neoplasms with monocytosis versus reactive monocytosis)	[26]	Patnaik et al. (2017), <i>Blood Cancer J</i> 7 Wagner-Ballon et al. (2023), <i>Cytometry B Clin Cytom</i> 104 Solary et al. (2020), <i>Best Pract Res Clin Haematol</i> 33 Hudson et al. (2018), <i>Leuk Res</i> 73 Kern et al. (2013), <i>Cytometry B Clin Cytom</i> 84 Shameli et al. (2021), <i>Cytometry B Clin Cytom</i> 100 Li et al. (2021), <i>Am J Clin Pathol</i> 156 Huang et al. (2016), <i>J Clin Pathol</i> 69 Maioli et al. (2016), <i>Leuk Lymphoma</i> 57 Cargo et al. (2019), <i>Blood</i> 133
M/LN-eo-TK	Broad myeloid/lymphoid FCM panels	Identification of small subpopulations, not apparent by morphology (immunohistochemistry); lineage infidelity; aberrant mast cells	[1, 14, 23, 24]	A large number of single case reports & literature reviews on specific subcategories of M/LN-eo-TK (recently reviewed in [24]) illustrate how FCM can assist in establishing the diagnosis
Mastocytosis	Aberrant immunophenotype, including expression of CD2, CD25, and/or CD30	Included as diagnostic criterion; detection of associated myeloid neoplasm or concurrent lymphoid or plasma cell neoplasm	[1, 14]	Pardanani et al. (2009), <i>Blood</i> 114 Pardanani et al. (2016), <i>Leukemia</i> 30 Morgado et al. (2013), <i>Histopathology</i> 23 Russano de Paiva et al. (2018), <i>Medicine (Baltimore)</i> 97
AML defining genetic abnormalities; AML defined by differentiation (WHO-HAEM5)/AML, NOS (ICC)	Phenotype–genotype correlation (recently reviewed in [17]); monocytic/megakaryocytic differentiation; minimal differentiation	Rapid diagnosis in APL; guidance for additional testing; MRD monitoring; FCIP required for AML lacking defining genetic abnormalities (update on differentiation markers in WHO-HAEM5/ICC)	[1, 3, 5, 6, 14, 17, 27]	Merati et al. (2021), <i>Front Oncol</i> 11 Xiao et al. (2021), <i>Blood</i> 137 Wang et al. (2022), <i>Cancers</i> 14

Table 1 (Continued)				
Major WHO-HAEM5/ICC categories of myeloid neoplasms	Immunophenotypic characterization/alteration	Significance	Citation no.	Literature review
				reference by author/year/journal
BPDCN	Expression of CD123 and one other pDC marker in addition to CD4 and/or CD56; or expression of any three pDC markers & absence of all expected negative markers	Immunophenotypic diagnostic criteria	[1, 14]	Wang et al. (2022), <i>Cancers</i> 14
				Khoury et al. (2018), <i>Curr Hematol Malignancy Reports</i> 13
				Deotare et al. (2016), <i>Am J Hematol</i> 91
				Wang et al. (2021), <i>Haematologica</i> 106
<i>MDS</i> myelodysplastic syndrome, <i>MPN</i> myeloproliferative neoplasms, <i>MPN-AP</i> accelerated phase of MPN, <i>MDS/MPN</i> myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms, <i>CMML</i> chronic myelomonocytic leukemia, <i>M/LN-eo-TK</i> myeloid/lymphoid neoplasm with eosinophilia and tyrosine kinase gene fusion, <i>AML</i> acute myeloid leukemia, <i>NOS</i> not otherwise specified, <i>APL</i> acute promyelocytic leukemia, <i>MRD</i> measurable residual disease, <i>BPDCN</i> blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm				

The detailed characterization of immunophenotypic alterations in chronic myeloid neoplasms, while not entity specific, can lend support to a neoplastic diagnosis and assist in the differential diagnosis. In the past, FCIP approaches have focused on the analysis of myeloid progenitors (blasts), since these are invariably affected irrespective of disease characteristics (acute vs. chronic) and are likely more stable than maturing myelomonocytic cells. However, immunophenotypic alterations are also frequently present in the maturing myelomonocytic compartment, particularly in myelodysplastic neoplasms (MDS), and partitioning of monocytic subsets is now used as a co-criterion in chronic myelomonocytic leukemia (CMML). Therefore, there is a clear role of FCIP in routine diagnostic algorithms and for the classification of chronic myeloid neoplasms. Immunophenotypic alterations and their significance are briefly summarized in **Table 1**, including a literature review on the use of FCM in major categories of myeloid neoplasms.

This article, based on an invited lecture at the 106th Annual Meeting of the German Society of Pathology in 2023, is primarily focused on myelodysplastic neoplasms (MDS), myeloproliferative neoplasms (MPN), and MDS/MPN. Experiences from recent bone marrow (BM) workshops on eosinophilic disorders and mastocytosis, including myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and tyrosine kinase gene fusions (M/LN-eo-TK), provide evidence that FCM has an important

role in recognizing these rare entities [23, 24]. Finally, FCIP remains important for rapid diagnosis and measurable disease monitoring of acute myeloid leukemia (AML) and is required for the subclassification of AML, not otherwise specified (NOS; ICC)/AML defined by differentiation (WHO-HAEM5). The application of artificial intelligence (AI) and machine learning (ML) in the analysis of FCM data in clinical hematology is discussed, including a literature review with focus on recent publications (**Table 2**).

Quick evaluation of unclear cytopenia

Unclear cytopenia is the most common indication for BM examination and can have numerous causes, both secondary (reactive) and neoplastic. Chronic (autoimmune) disease, infection, nutritional deficiencies, and treatment-related cytopenia are common non-neoplastic causes. Among hematopoietic neoplasms, the most common causes of new onset cytopenia are MDS and acute myeloid leukemias (AML) in adults and acute lymphoblastic leukemia (ALL) in children. Mature B cell neoplasms can also lead to pancytopenia, but such presentations, apart from hairy cell leukemia, are rare unless in cases with significant BM infiltration. Anemia is a presenting hallmark of plasma cell myeloma, and concomitant thrombocytopenia and granulocytopenia can be seen in up to 10% of patients at the time of diagnosis. In these situations, FCIP is extremely helpful to either confirm

or to rule out a hematological neoplasm, particularly in the acute clinical setting of unclear (pan)cytopenia and in patients presenting with cytopenia and secondary dysplasia, mimicking MDS. This basic diagnostic approach is illustrated in **Fig. 1** and by the following three clinical cases:

Case 1

A 4-year-old child with unclear anemia and thrombocytopenia. BM smears showed marked erythroid dysplasia and 5% blasts with aberrant myeloid immunophenotype by FCM (**Fig. 2**). The combined assessment of BM cytomorphology and FCM supported the diagnosis of a myeloid neoplasm (short turn-over time < 2 h) despite the young age of the patient, and provided guidance for subsequent cytogenetic (*here*: normal karyotype) and molecular testing (germline *RUNX1* mutation).

Case 2

A 79-year-old woman with unclear pancytopenia. BM smears were severely hemodiluted with presence of dysplastic neutrophils, but no apparent blast increase. However, FCM of the BM aspirate showed an expanded population of myeloid progenitors (> 10% of total BM cells) with aberrant immunophenotype (**Fig. 3**). Despite poor quality hemodiluted BM smears, a quick (preliminary) diagnosis of a myeloid neoplasm, suspicious for MDS (with excess blasts) was made, supported by FCM findings. The diagnosis was then confirmed by

Table 2 Artificial intelligence and machine learning: a literature review with focus on recent publications on the use of flow cytometry in clinical hematology

Reference	Type of disease studied/task	Type of AI tool/application	Significance
Author/year/journal			
<i>General review</i>			
Duetz et al. (2020), <i>Curr Opin Oncol</i> 32	Computational analysis of FCM data in hematological malignancies; <i>literature review</i>	Two main types of computational methods; dimensionality reduction & clustering	Increase ease of use, objectivity & accuracy of FCM data analysis; integration with digital pathology approaches
Bene et al. (2021); [2]	AI applications with focus on hematological neoplasms, including clinical examples	Various AI tools for automated, unsupervised FCM analysis; FlowSOM	Integration of FlowSOM & existing FCM software programs (e.g., Kaluza, Beckman Coulter) links unsupervised & supervised analysis
Shouval et al. (2021), <i>Br J Haematology</i> 192	AI applications in clinical hematology including <i>literature review</i>	Various references on supervised ML studies in hematology	Provides tools & guidance for understanding ML and its applications
<i>Bone marrow and peripheral blood</i>			
Lacombe et al. (2019), <i>HemaSphere</i> 3	Normal or diseased BM subsets	FlowSOM; Kaluza software program	Objective delineation of BM differentiation pathways
Zhang et al. (2020), <i>Am J Clin Pathol</i> 153	FCM PB screening for hematologic malignancy	ML tool with clinical information & laboratory values as input data	Decision tree model for triaging PB FCM specimen; not considered appropriate for screening of a general population
Flores-Montero et al. (2019), <i>J Immunol Methods</i>	Automated identification of PB lymphocyte subsets for chronic lymphoproliferative disorders	EuroFlow Lymphoid Screening Tube (LST) data base	Reliable & reproducible tool for fast identification of normal vs pathological B and T/NK lymphocytes
<i>Lymphoid neoplasms</i>			
Scheuermann et al. (2017), <i>Clin Lab Med</i> 37	FCM based identification of diagnostic cell populations in CLL patient samples	FLOCK-(Flow clustering without K) based computational pipeline (publically available for open use, http://www.immport.org)	Clinical validation of computational approaches for use in the clinical laboratory
Moraes et al. (2019), <i>Comput Methods Programs Biomed</i> 178	FCM-based, automated classification of mature lymphoid neoplasms	Decision-tree approach for the differential diagnosis using logistic function nodes	Validated scheme in diagnostic samples
Gaidano et al. (2020), <i>Cancers</i> 12	FCM-based classification of mature lymphoid neoplasms	ML based on manual FCM analysis of clinical cases from a database	High accuracy for common clinicopathological entities
Salama et al. (2022), <i>Cancers</i> 14	FCM MRD in CLL	Deep neuronal network for MRD detection; "human-in-the-loop" AI approach	High accuracy in CLL MRD detection; provides framework for testing in other hematologic disorders
Simonson et al. (2021), <i>Am J Clin Pathol</i> 156	FCM ML in classic Hodgkin Lymphoma	CNN for detecting cHL using FCM data (two-dimensional histograms)	New ML algorithm with focus on explainability & visualization (Shapley additive explanation value)
Nanaa et al. (2021), <i>Pathology</i> 53	Literature review; AI application in the diagnostics of leukemia & lymphoma	AI algorithms applied to digital morphology and FCM	High accuracy of AI tools in diagnostic hematopathology
Zhao et al. (2020), <i>Cytometry Part A</i> , 97A	FCM classification of mature B cell neoplasms	Transformation of FCM raw data into a single image file (SOM), further analyzed by CNN for pattern recognition	SOM-CNN-based classification method able to differentiate eight B-NHL subtypes & normal controls with high accuracy
Nguyen et al. (2023), <i>Br J Hematol</i> 00	FCM CLL MRD	Flow SOM	Feasibility & value of automated FCM analysis in the clinical laboratory
<i>Plasma cell disorders</i>			
Sanoja-Flores et al. (2018), <i>Blood Cancer J</i> 8	Characterization of MGUS & PCM	Next-generation FCM approach on circulating plasma cells	Correlation with diagnostic and prognostic disease categories
Clichet et al. (2022), <i>Br J Hematol</i> 196	FCM classification of plasma cell dyscrasias (MGUS, SPCM, PCM)	Immunophenotypic profile analysis (FCM) based on a gradient boosting machine (GBM) algorithm using seven FCM parameters	Expression of CD27 & CD38 was found crucial to discriminate MGUS from MM
Flores-Montero et al. (2017), <i>Leukemia</i> 31	MRD plasma cell myeloma	EuroFlow-based NGS FCM; standardized approach for MRD detection	Improved sensitivity for MRD detection; prognostic value; ready for implementation in routine diagnostics

Table 2 (Continued)			
Reference	Type of disease studied/task	Type of AI tool/application	Significance
Author/year/journal			
<i>Myelodysplastic syndrome</i>			
Barreau et al. (2019), <i>Cytom B Clin Cytom 98</i>	Evaluation of maturation of granulocytes & monocytes	Manual expert analyzed FCM score	Improvement of accuracy of FCM diagnosis
Duetz et al. (2021), <i>Cytometry 99</i>	Computational workflow for MDS diagnosis; distinction between MDS and non-neoplastic cytopenias	FlowSOM, random forest (ML qualifier)	Workflow outperformed the conventional, expert analyzed FCM scores with respect to accuracy, objectivity, and turn-around time
Clichet et al. (2023), <i>Haematologica, online, ahead of print</i>	FCM based model to predict MDS	ML model based on FCM parameters selected by Boruta algorithm	Improved the sensitivity of the Ogata score; used both in low & high risk MDS
Porwit et al. (2022), <i>Cytometry B Clin Cytom 102</i>	FCM analysis of normal BM & BM from MDS patients targeting erythropoiesis	FlowSOM Identification of 6 subpopulations of erythropoietic precursors in normal BM & additional 18 subsets in MDS	Unsupervised clustering analysis of FCM data disclosed subtle alterations not detectable by FCM supervised analysis
<i>Acute leukemia and MRD</i>			
Monaghan et al. (2022), <i>Am J Clin Pathol 157</i>	Assessment of BM in unclear cytopenia and/or AL	ML model based on a 37-parameter FCM panel for AL diagnosis & classification	Use of three parameters including light scatter properties demonstrated excellent performance
Zhong et al. (2022), <i>Diagnostics 12</i>	FCM AML diagnostics	Automated gating & AML classification based on multiple ML-based techniques	Rapid and effective technique; integration of other test findings
Vial et al. (2021), <i>Cancers 13</i>	MRD in AML	Combined unsupervised FlowSOM & Kaluza software	Powerful tool for MRD, particularly applicable to AML without molecular markers
Porwit & Bene (2021), <i>Hematology 2</i>	Plasmacytoid dendritic cell compartment in AL with/without <i>RUNX1</i> mutation	Unsupervised FCM analysis & clustering	High interpatient variability disclosed by unsupervised analysis
Reiter et al. (2019), <i>Cytometry Part A 95A</i>	ALL MRD analysis	Multiple Gaussian mixture models (GMM) for automated MRD assessment	Objective & standardized tool for possible use across different laboratories
Ko et al. (2018), <i>EBioMedicine 37</i>	MRD in AML and MDS	FCM algorithm for MRD detection (Gaussian mixture model)	High accuracy with short turn-around time; high prognostic significance; ability to integrate with other clinical tests
Lhermitte et al. (2018), <i>Leukemia 32</i>	FCM-based diagnosis & classification of AL	Database-guided analysis used for standardized interpretation of the EuroFlow AL orientation tube	Accurate selection of relevant panels for different AL types; computer-supported reproducible classification even without using the full panels
<p><i>BM</i> bone marrow, <i>PB</i> peripheral blood, <i>CNN</i> convolutional neural networks, <i>FlowSOM</i> self-organizing map, <i>AI</i> artificial intelligence, <i>ML</i> machine learning, <i>FCM</i> flow cytometry, <i>MRD</i> measurable residual disease, <i>CLL</i> chronic lymphatic leukemia, <i>MF</i> marrow fibrosis, <i>AA</i> aplastic anemia, <i>MDS</i> myelodysplastic neoplasm, <i>MPN</i> myeloproliferative neoplasm, <i>MGUS</i> monoclonal gammopathy of undetermined significance, <i>(S)JPCM</i> (smouldering) plasma cell myeloma, <i>NGS</i> next generation sequencing, <i>ALL</i> acute lymphoblastic leukemia, <i>AL</i> acute leukemia, <i>AML</i> acute myeloid leukemia FlowSOM, Bioconductor (https://doi.org/10.81129/B9.bioc.FlowSOM)</p>			

BM histology; additional studies showed MDS-related cytogenetic aberrancies.

Case 3

An 18-year-old man with unclear pancytopenia. The PB smear showed mature leukocytes and 2% myeloid blasts without apparent immunophenotypic alterations (Fig. 4). The presence of normal myeloid blasts was reported, leaving the possible cause open. Subsequent BM aspirate

smears showed an increased number of atypical, blast-like cells, positive for CD56 but negative for CD45 and all myeloid/lymphoid markers by FCM, which helped to rapidly exclude a hematological malignancy. The final diagnosis of a secondary spread of a rhabdomyosarcoma was established on the BM trephine, supported by immunohistochemistry.

These three clinical examples illustrate that FCM, as an auxiliary tool to cytomorphology, is extremely helpful in acute

situations of unknown cytopenias, particularly if smears are inconclusive or of poor quality, or, as in the first case, when samples are from younger individuals or children with dysplastic findings but without obvious blast increase. A previously described practical immunophenotyping strategy with 10-color FCM panels enables the comprehensive evaluation of patients with unclear cytopenia(s) and has been adapted in our laboratory for routine use [22].

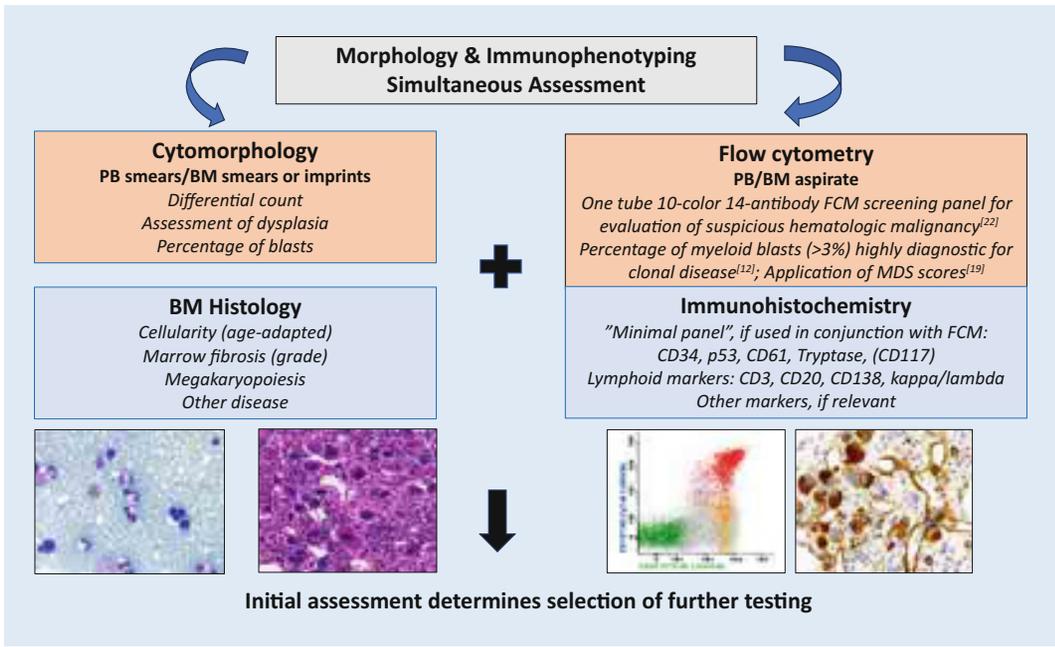


Fig. 1 ◀ Diagnostic approach to unclear cytopenia and suspicious hematologic malignancy

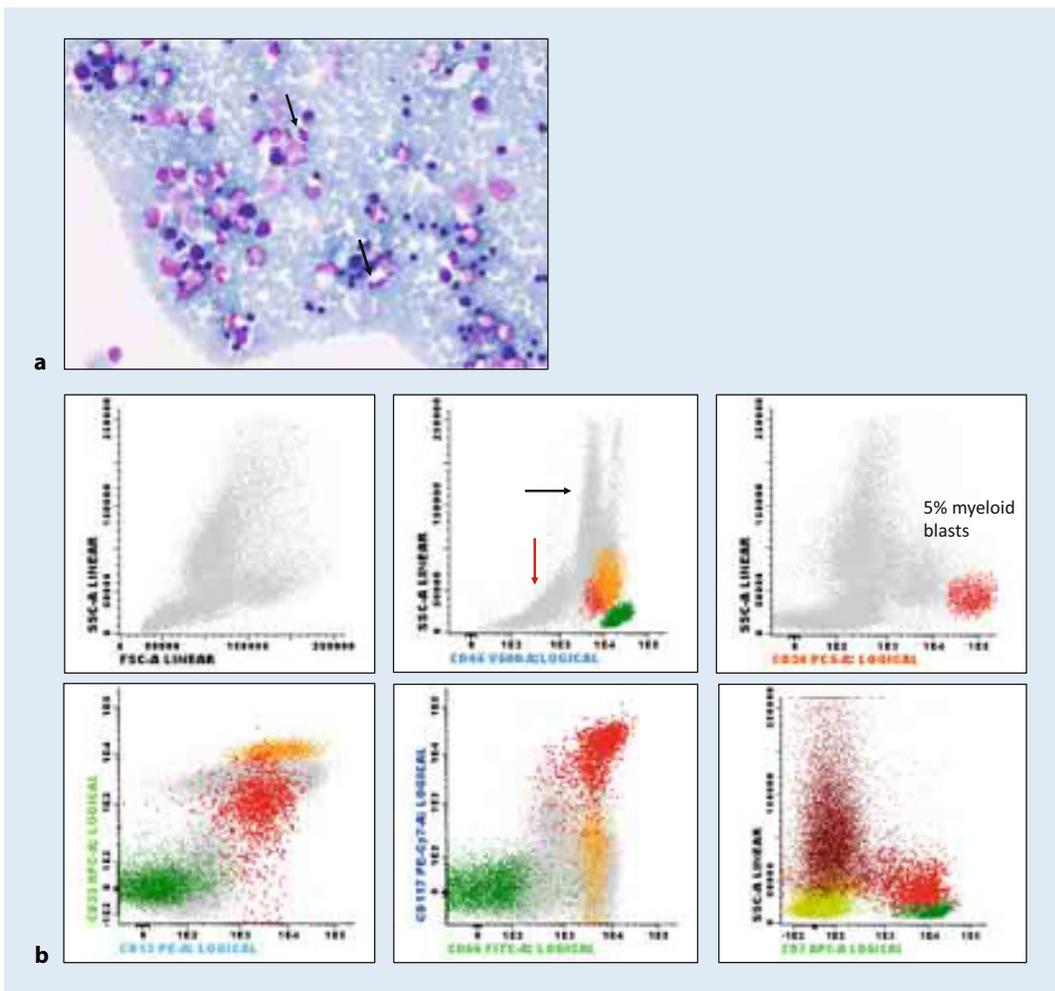


Fig. 2 ◀ Case 1. **a** Bone marrow aspirate smears show marked dyserythropoiesis (bi-/multinuclearity, dysmorphic nuclei) and left-shifted granulopoiesis with dysplastic, hypogranulated neutrophils (*black arrows*). **b** Flow cytometric analysis of the bone marrow aspirate shows an expanded erythropoiesis (*red arrow*), decreased side scatter (*black arrow*), and 5% myeloid blasts with bright CD34 expression and aberrant expression of CD56 and CD7

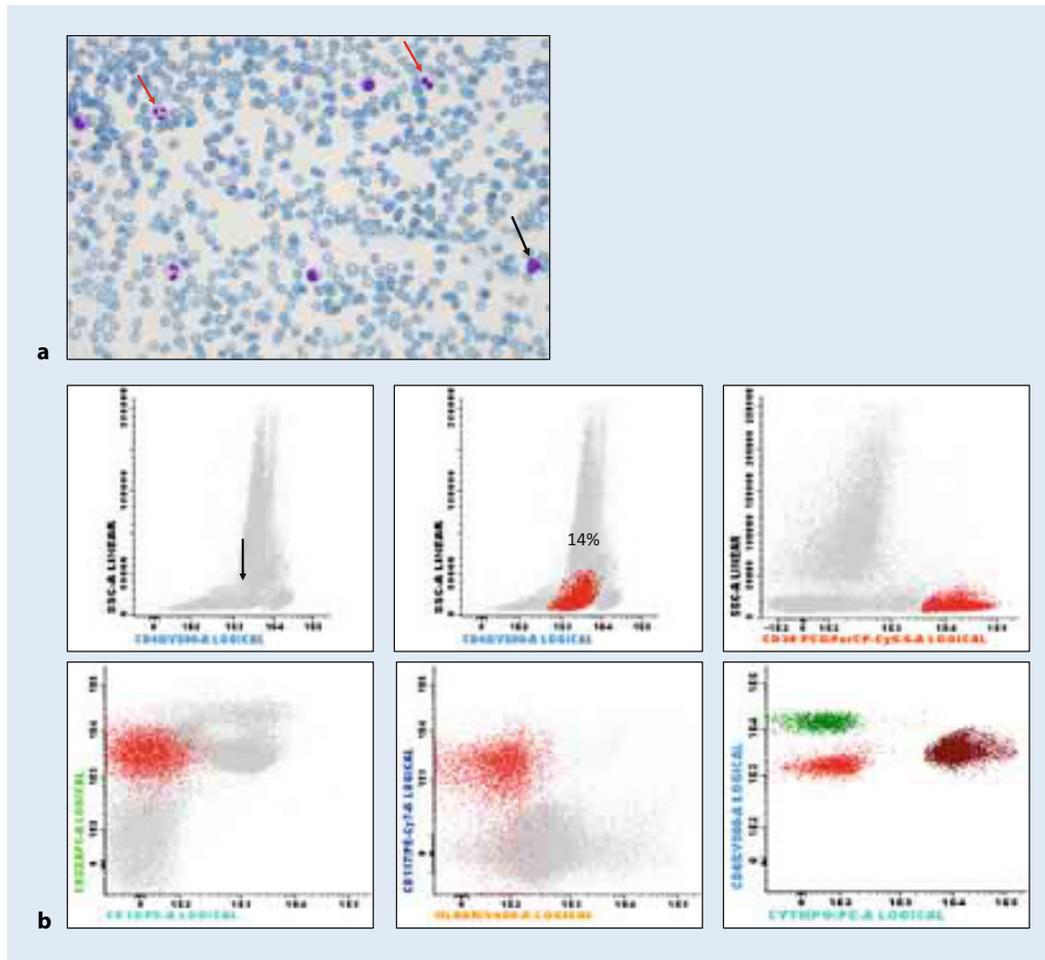


Fig. 3 ◀ Case 2. **a** Bone marrow aspirate smears are hemodiluted with presence of dysplastic neutrophils (red arrow) and occasional blasts (black arrow). **b** Flow cytometric analysis of the bone marrow aspirate shows an expanded CD34+ population in the CD45dim blast gate (black arrow) with aberrant myeloid immunophenotype (CD13-, HLADR-, MPO-)

Myelodysplastic neoplasms

The myelodysplastic neoplasms are a group of clonal hematopoietic stem cell diseases characterized by cytopenia, morphologic dysplasia, ineffective hematopoiesis, recurrent cytogenetic abnormalities in ≈50%, and somatic mutations in ≈90% of patients [1, 14]. The current gold standard and first step in the initial diagnostic work-up of unclear cytopenia/suspicious MDS, after the exclusion of other causes of cytopenia, is the cytomorphological examination of the peripheral blood (PB) and bone marrow (BM). Importantly, dysplasia is not specific for MDS and may be present along with other disease in the BM, drug-related, or secondary to other non-neoplastic conditions. The diagnosis of lower-risk MDS subtypes (without excess blasts) can be particularly challenging on morphologic grounds. Importantly, FCM can detect even subtle immunophenotypic aberrancies in the precursor and matur-

ing erythroid, myeloid, and monocytic populations in BM aspirates.

Numerous publications have addressed immunophenotypic abnormalities in MDS patients over the past two to three decades. Most of the earlier studies were qualitative and correlative in nature, identifying FCM aberrancies that correspond to the diagnosis of MDS. Since about the 2010s, there has been a stronger advocacy within the FCM community for a quantitative approach and standardization among different laboratories. A series of consensus guidelines and multicenter studies have been published by the European Leukemia Net (ELN) MDS working group on the use of FCM in the diagnostic work-up of MDS, which were recently updated in a special issue of *Clinical Cytometry*, including pre-analytical, analytical, and technical considerations as well as research results from the members of the group [12, 21, 28, 29]. A multicenter prospective evaluation of FCM aberrancies by the ELNiMDS Flow

working group led to the recognition of 17 immunophenotypic markers that were independently related to MDS. FCM showed 80% concordance with cytomorphology when applying a lower cut-off of three aberrant markers [12]. Importantly, this was independent of the number of affected cell lineages, in contrast to previously established guidelines and recommendations. However, there is no single specific FCM marker for MDS and the megakaryocytic lineage is best assessed by cytomorphology in combination with BM histology.

FCIP can help with blast enumeration and identify phenotypically aberrant blasts and be used for treatment follow-up by monitoring previously detected immunophenotypic abnormalities. The percentage of myeloid progenitor cells is informative, but should be correlated to the blast count by routine cytomorphology and BM histology including CD34 immunohistochemistry [25]. Aberrant

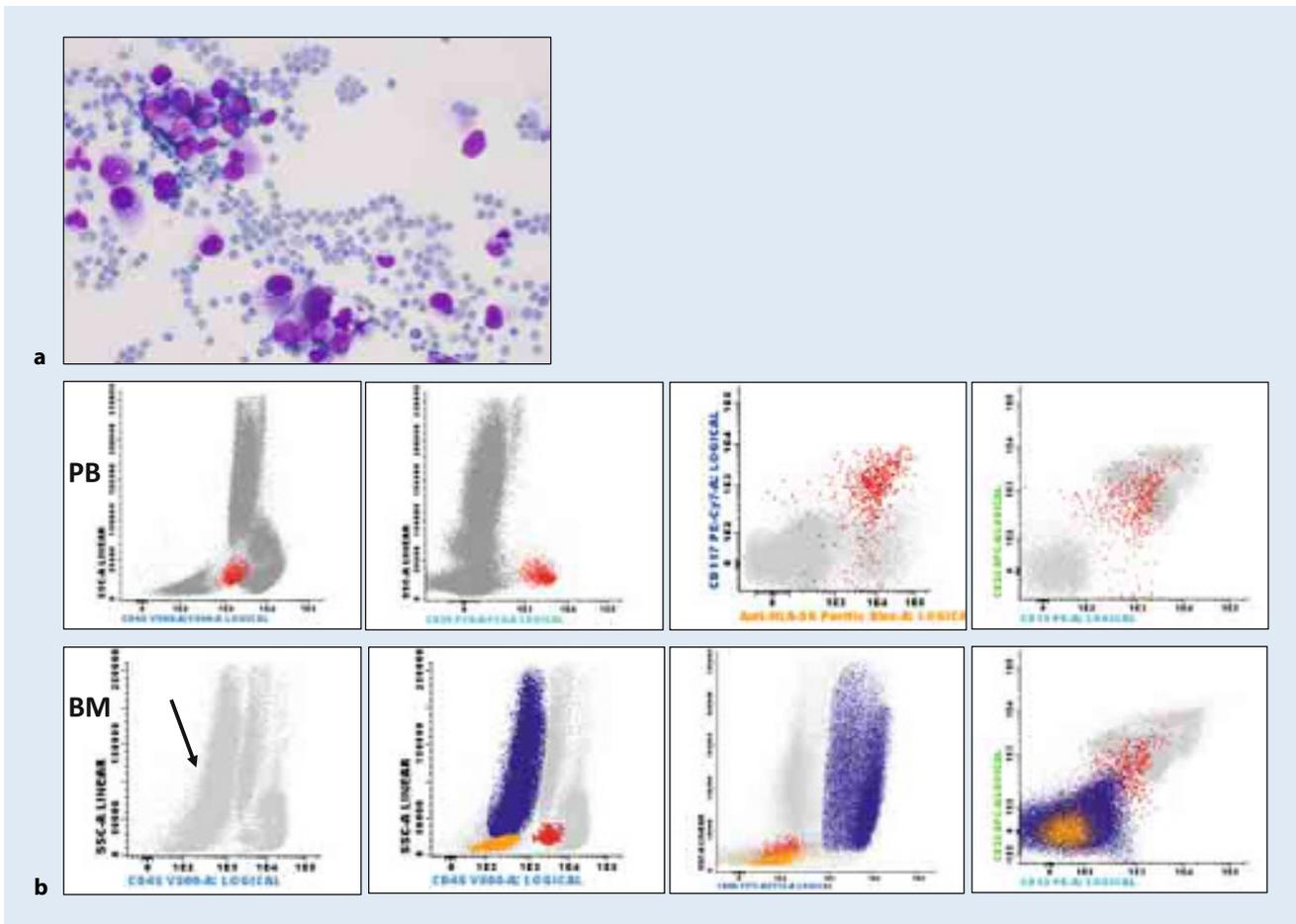


Fig. 4 ▲ Case 3. **a** Bone marrow (BM) aspirate smears show an increase of atypical, blast-like cells with vacuolated cytoplasm. **b** Flow cytometric analysis of the peripheral blood (PB) shows a small population of myeloid progenitors with normal immunophenotype (1.7% of leukocytes). Analysis of the BM aspirate displays an abnormal, CD56+/CD45- cell population (56% of all cells; in blue), negative for all other myeloid/lymphoid in an expanded lymphoid/myeloid panel (not shown); CD45-erythroid progenitors (in orange) and normal myeloid progenitor cells (in red) represented 5 and 0.6% of all BM cells, respectively

immunophenotypes of CD34⁺ cells may indicate dysplasia per se and the finding of >2% CD34⁺ myeloid progenitors was highly associated with MDS [12].

Rarely, MDS may be associated with clonal or non-clonal proliferations of NK and T-NK cells or large granular lymphocytes in the PB. These populations can be detected and quantified by an appropriate T-cell FCM panel, including *TRBC1* for the assessment of T cell clonality. FCM screening for the detection of NK or T-NK cells is a frequently asked assay in neutropenic patients. Simultaneous cytomorphologic examination is highly recommended and the detection of dysplastic neutrophils, particularly in patients with additional anemia and/or thrombocytopenia, should prompt BM examination to rule out MDS.

Several diagnostic MDS FCM scores have been published (recently reviewed in [19]), including the FCM scoring system, the Ogata score, the RED score and ELN-NEC, and the integrated flow score (iFS), the latter encompassing the analysis of myeloid progenitors, granulo- and monoipoiesis, and nucleated erythroid cells. The most commonly used MDS FCM score is the Ogata score, based on four parameters [20]. Most MDS-FCM scores have been validated in clinical studies, comparing MDS patients to patients with secondary (reactive) cytopenias and normal controls. The iFS was shown to have the highest accuracy with respect to MDS diagnosis. [19].

Myeloproliferative neoplasms

The role of FCIP in the diagnosis and classification of myeloproliferative neoplasms (MPN) is not well defined. The integration of molecular findings with BM morphology and PB counts remains the cornerstone of diagnosis, including the *BCR-ABL1* translocation in chronic myeloid leukemia (CML), the MPN-associated mutations *JAK2 V617F*, *JAK2* exon 12, *MPL 515L/K*, and calreticulin (*CALR*) for the classical *BCR::ABL1*-negative MPN subtypes, and the presence of driver mutations in the colony-stimulating factor 3 receptor (*CSF3R*) in chronic neutrophilic leukemia. However, MPNs exhibit frequent immunophenotypic alterations in both myeloid progenitors and in the maturing myelomonocytic compartment

(summarized in **Table 1**, including references from a literature review). Published data demonstrate that these changes are part of constellational findings in MPN and correlated with adverse clinical and morphological features, such as, for example, an increased blast percentage and an abnormal karyotype. Integration of the Ogata score using FCM analysis of the BM aspirate in patients with PMF resulted in improved prognostic stratification. The enumeration and immunophenotypic characterization of blasts by FCM remains important for the distinction between reactive versus neoplastic conditions and between an accelerated phase of MPN (MPN-AP) and de novo acute leukemia (AL). Importantly, patients with lower blast percentages (5–9%) may have a similar clinical course and prognosis to patients with MPN-AP, and FCIP can help in the early detection of progressive disease. Herborg et al. found that enumeration of circulating immature cells by FCM, including aberrant surface expression, was a promising discriminative tool in MPN diagnostics and a means of monitoring patients longitudinally [8].

In the ICC, immunophenotyping is now included as a criterium for the detection of lymphoblastic crisis in chronic myeloid leukemia (CML), using a threshold of 5% lymphoblasts in the PB or BM [1]. However, this cut-off is arbitrary, and some data suggest that the finding of any bona fide lymphoblasts should raise concern that a lymphoblastic crisis may be imminent. For this reason, a specific cut-off is not included in the WHO-HAEM5, while the presence of “increased” lymphoblasts still remains one of the criteria for blast phase in CML. Since FCM can identify aberrant lymphoid blast populations at much lower levels (<0.1%), integration in the routine follow-up of CML patients using similar panels as for ALL MRD measurement should be considered.

FCIP can also assist in the diagnostic work-up of other subtypes within the MPN category, particularly in cases with a CMML-like clinical presentation. For example, the clinical and morphologic findings in CEL, NOS, may overlap those of other MPNs, MDS, and MDS/MPN, as illustrated by a previous BM workshop report [11]. In these situations, FCIP can provide hints for correct classification through

the identification of MDS-related abnormalities and/or the analysis of monocytic subpopulations, as discussed in the following section. Recent studies recognize the potential value of proliferative and apoptotic indices as diagnostic and prognostic markers in MPN [18].

Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms

This category of myeloid neoplasms is defined by overlapping pathologic and molecular features of MDS and MPN, clinically manifesting with various combinations of cytopenia and cytos. The prototype and most common MDS/MPN is chronic myelomonocytic leukemia. Abnormal partitioning of PB monocyte subsets has been introduced as a new supporting diagnostic criterion, based on the observation that an increase of “classical” monocytes (CD14⁺⁺, CD16⁻) was highly sensitive and specific for CMML [26]. Subsequent studies have validated these findings and confirmed the ability to distinguish CMML from both reactive monocytosis and other myeloid neoplasms presenting with monocytosis (**Table 1**, including references from a literature review). FCIP may also assist to separate the two CMML subtypes, myelodysplastic vs. myeloproliferative, at an immunophenotypic level by using MDS-adapted FCM panels according to ELN recommendations.

The ICC recognizes clonal monocytosis of undetermined significance (CMUS) as a CMML precursor condition, based on persistent monocytosis in the presence of a myeloid neoplasm-associated mutation(s), but without BM morphologic findings of CMML. While FCIP of the PB is not listed as a co-criterion, it could potentially be used as a screening test and predictive marker for the presence of a somatic mutation and for developing CMML.

Other flow cytometric alterations in CMML (see literature review in **Table 1** for additional references) are well described and like those found in MDS. For example, expression of CD56 is highly sensitive and specific for a diagnosis of CMML, but only when combined with other immunophenotypic features, including reduced expression of myeloid antigens and ≥20% immature monocytes,

since CD56 overexpression can also be seen in non-neoplastic conditions.

Outside of CMML, few larger studies have evaluated FCM findings in MDS/MPN overlap. Li et al. found that all studied patients with MDS/MPN demonstrated at least one abnormality by FCM; myeloblast abnormalities were the most common phenotypic aberrancy detected [16]. Although the findings were not entity specific, their presence was helpful in substantiating a diagnosis of a myeloid neoplasm and helping to exclude a reactive process. Finally, FCM can also be used as a predictive marker for treatment response in this group of patients.

Myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and tyrosine kinase gene fusions

The myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and TK gene fusions (M/LN-eo-TK) represent a rare and challenging group of hematological neoplasms with highly variable clinical and morphologic presentation and course of disease [1, 14]. M/LN-eo-TK frequently manifest as a chronic myeloid neoplasm with or without eosinophilia resembling CEL, NOS, other MPN, MDS/MPN, or MDS. Other presentations include T or B acute lymphoblastic leukemia/lymphoma (ALL), AML, the blast phase of MPN, or mixed-phenotype acute leukemia (MPAL). Importantly, cases may present with disparate stages of disease (chronic vs. acute or transformed), disparate cell lineages, as primary extramedullary (nodal/extranodal) disease, or manifest first during follow-up and/or after treatment of the original diagnosis. Abnormal mast cell proliferations, detected by FCM or immunohistochemistry (IHC), are frequent findings in M/LN-eo with any of the recurrent TK fusion genes. Taken together, FCIP plays an important and central role in the diagnostic work-up of M/LN-eo for the detection of aberrant (sub)populations or multilineage involvement, as illustrated by numerous single case reports, including children, multicenter studies, and recent BM workshop reports [23, 24].

Mastocytosis

Mastocytosis is characterized by neoplastic proliferation of abnormal mast cells in at least one organ system, including the skin and BM, and can be divided into cutaneous mastocytosis (CM), systemic mastocytosis (SM), and mast cell sarcoma (MCS) [1, 14]. Advanced SM comprises aggressive SM, SM with an associated myeloid neoplasm (SM-AMN), and mast cell leukemia (MCL). In both classifications (ICC/WHO-HAEM5), the major diagnostic criteria for SM remain largely based on morphology, supported by immunophenotypic analysis. FCIP can be used to identify mast cell populations, which are recognized by their unique phenotype (CD117⁺, CD45⁺, CD38⁻, CD33⁺, CD13[±], CD11c⁺, CD11b[±], CD71⁺). Neoplastic mast cells usually demonstrate aberrant expression of CD25 and CD2, and may show an altered intensity of antigens which are normally expressed on mast cells. The recognition of an abnormal mast cell immunophenotype is one of the minor diagnostic criteria for SM in both classifications. CD30 expression, either by FCM or IHC, can be detected in up to 80–90% in SM and is now accepted as an additional marker in defining immunophenotypic aberrancy of MCs.

Normally, mast cells account for <0.1% of total BM cells, and are usually <2% of cells even in SM. Therefore, FCM analysis for mast cells require strategies similar to those used for the detection of measurable residual disease (MRD). FCIP provides a more sensitive method as compared to IHC for detecting abnormal mast cells and can be useful for the identification of circulating mast cells, present in nearly half of the patients with indolent SM and almost all patients with advanced SM [7]. Finally, FCM can also be helpful for the detection of an associated myeloid neoplasm (SM-AMN) or a concurrent lymphoid or plasma cell neoplasm.

Acute myeloid leukemia

Acute myeloid leukemia (AML) classification relies mainly on cytogenetic and molecular data [1, 14]. However, the overall AML classification structure continues to emphasize the integration of clinical, morphologic, immunopheno-

typic, and genomic findings. In AML, FCM remains an essential tool for rapid diagnosis and lineage assignment. Within the categories of AML not otherwise specified, NOS, (ICC)/AML with differentiation, FCM is necessary to confirm AML with minimal differentiation, to detect monocytic and megakaryoblastic differentiation and to diagnose mixed-phenotype acute leukemias (MPAL). Characteristic immunophenotypic findings in AML with main specific genetic abnormalities are well known and have been described and reviewed in previous classifications [27] and recent publications [17]. Importantly, FCM analysis, together with cytomorphology, is essential for prompt diagnosis and treatment of acute promyelocytic leukemia (APL). The combination of cytomorphology and FCIP permits the diagnosis with a high degree of certainty; however, distinction from APL mimics (e.g., *NPM1*-mutated, other AML with monocytic differentiation, *KMT2A*-rearranged AML) can be challenging. Several gating strategies have been explored to distinguish APL from AML subtypes with APL-like immunophenotypes, including the use of radar plots [6]. More recently, Fang et al. (2022) compared patients with APL to *NPM1*-mutated AML and suggested that CD2 and/or CD34 expression, along with uniform CD13 and CD64 positivity, is more consistent with microgranular APL [5].

AML with *RUNX1* mutation has been associated with mixed-phenotype acute leukemia (MPAL) and with expansion of the plasmacytoid dendritic cell compartment. AML with myelodysplasia-related genetic abnormalities often carry immunophenotypic features like those described in MDS. However, the simultaneous occurrence of mutations and cytogenetic alterations makes it difficult to identify specific patterns associated with certain mutations. FCIP is also needed for the diagnosis of MPAL; however, criteria for lineage assignment are still a matter of debate and many cases previously assigned to this category with predominant myeloid blast populations will now be diagnosed as AML based on cytogenetic or mutation findings [3].

Finally, FCM plays an important role in MRD testing, which is a strong predic-

tor of relapse and shorter survival in AML patients [9]. Nevertheless, MRD measurements are not yet used routinely to guide therapeutic decisions in AML, partly due to the lack of uniformity in methodologies used for MRD detection and interpretation. The ELN MRD working group has published guidelines for MRD analysis, including the harmonized use of an integrated diagnostic “leukemia-associated immunophenotype” (LAIP) and “different from normal” (DfN) approach with a set of MRD core markers [9]. Since relapses also occur in MRD-negative patients, further research is focused on measuring the frequency of residual leukemic stem cells, which may be resistant to therapy [13].

Apart from the role of FCM as a diagnostic and prognostic tool, it is also of value in patients being considered for targeted therapy and treatment with chimeric antigen receptor T cells (CAR-T) by demonstrating the expression of cell surface antigens (e.g., CD33, CD123) on leukemic blasts [10].

Artificial intelligence and machine learning

The application of AI strategies and ML for the analysis of complex FCM data, recently reviewed in [2, 15, 30], has opened a new, rapidly expanding era. Efforts to develop, validate, and disseminate automated computational methods for FCM data analysis can help overcome the limitations of manual analysis and provide efficient and data-driven diagnostic applications. An increasing number of mostly recent studies underline the applicability of AI tools for the analysis of FCM data in hematological malignancies (■ **Table 2**). Similarly, modern cyto- and histomorphology is evolving towards AI-assisted “digital microscopy,” allowing automated pattern recognition and classification of acquired cell images. A more detailed review of these studies is beyond the scope of this article. Briefly, ML models have demonstrated human-level performance using FCM data for the classification of chronic lymphoproliferative diseases and for the diagnosis, classification, and MRD testing of acute leukemias. AI applications in MDS include the use of convolutional neural networks to assess dysplasia, the development of an AI-assisted prediction score for MDS diagnosis

[4], and models that provide a link between morphology, mutational status, and prognosis. Finally, markers for biological behavior, such as proliferative and apoptotic parameters, have been proposed as interesting candidates for incorporation into such automated approaches [18]. Data from the literature provide evidence that AI-driven FCM diagnostics allow reliable and comprehensive (multidimensional) automated analysis of large immunophenotypic datasets, and clinical applications appear time efficient and potentially harmonizable across laboratories.

Concluding remarks

Flow cytometry is an indispensable tool for quick diagnosis, classification, and follow-up of patients with myeloid neoplasms, particularly AML and MDS. Immunophenotypic alterations are already used as diagnostic criteria in several disease entities in the WHO/ICC classifications. FCIP should therefore be included into routine diagnostic algorithms in clinical hematology, supported by artificial intelligence approaches. Clinical validation of these computational approaches is ongoing and essential to realize their true potential for use in the clinical diagnostic laboratory.

Key points.

- Flow cytometry is a valuable tool for rapid diagnosis, classification, prognosis, and monitoring of hematologic neoplasms.
- Immunophenotypic profiles can identify underlying genomic alterations and be useful to highlight prognostically relevant differences within subgroups of acute myeloid leukemia.
- Further standardization and harmonization will become essential for implementing clinical flow cytometry in routine diagnostic evaluations in chronic myeloid neoplasms.
- Artificial intelligence and machine learning offer an effective way to elaborate and interpret large-scale datasets and help to refine diagnostics.

Corresponding address

Leonie Saft, MD PhD

Clinical Pathology and Cancer Diagnostics, Karolinska University Hospital and Institute 171 76 Stockholm, Sweden
leonie.saft@regionstockholm.se

Funding. Open access funding provided by Karolinska Institute.

Declarations

Conflict of interest. L. Saft declares that she has no competing interests.

All investigations on humans or human tissues described in this article were carried out with the approval of the responsible ethics committee, in accordance with national law and the Declaration of Helsinki from 1975 (in its current revised form). The investigations were carried out according to the specifications of the Central Ethics Committee of the Federal Medical Council.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Open Access. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP et al (2022) International consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood* 140:1200–1228
2. Bene MC, Lacombe F, Porwit A (2021) Unsupervised flow cytometry analysis in hematological malignancies: a new paradigm. *Int J Lab Hematol* 43(Suppl 1):54–64
3. Bene MC, Porwit A (2022) Mixed phenotype/lineage leukemia: has anything changed for 2021 on diagnosis, classification, and treatment? *Curr Oncol Rep* 24:1015–1022
4. Clichet V, Lebon D, Chapuis N et al (2023) Artificial intelligence to empower diagnosis of myelodysplastic syndromes by multiparametric flow cytometry. *Haematologica*
5. Fang H, Wang SA, Hu S et al (2022) Acute promyelocytic leukemia: Immunophenotype

- and differential diagnosis by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 102:283–291
6. Gupta M, Jafari K, Rajab A et al (2021) Radar plots facilitate differential diagnosis of acute promyelocytic leukemia and NPM1+ acute myeloid leukemia by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 100:409–420
7. Henriques A, Muñoz-González JI, Sánchez-Muñoz L et al (2022) Frequency and prognostic impact of blood-circulating tumor mast cells in mastocytosis. *Blood* 139:572–583
8. Herborg LL, Nederby L, Hasselbalch HC et al (2018) Distinguishing myelofibrosis from polycythemia vera and essential thrombocythemia: the utility of enumerating circulating stem cells with aberrant hMICL expression by flow cytometry. *Int J Lab Hematol* 40:320–325
9. Heuser M, Freeman SD, Ossenkopp GJ et al (2021) 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood* 138:2753–2767
10. Jones LM, Tarlock K, Cooper T (2021) Targeted therapy in pediatric AML: an evolving landscape. *Paediatr Drugs* 23:485–497
11. Kelemen K, Saft L, Craig FE et al (2021) Eosinophilia/Hypereosinophilia in the setting of reactive and idiopathic causes, well-defined myeloid or lymphoid leukemias, or germline disorders. *Am J Clin Pathol* 155:179–210
12. Kern W, Westers TM, Bellos F et al (2023) Multicenter prospective evaluation of diagnostic potential of flow cytometric aberrancies in myelodysplastic syndromes by the ELN iMDS flow working group. *Cytometry B Clin Cytom* 104:51–65
13. Khaldoynidi SK, Hindoyan A, Stein A et al (2022) Leukemic stem cells as a target for eliminating acute myeloid leukemia: Gaps in translational research. *Crit Rev Oncol Hematol* 175:103710
14. Khoury JD, Solary E, Abal O et al (2022) The 5th edition of the world health organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and Histiocytic/dendritic neoplasms. *Leukemia* 36:1703–1719
15. Krause SW (2020) On its way to primetime: artificial intelligence in flow cytometry diagnostics. *Cytometry A* 97:990–993
16. Li Y, Beck RC, Moore EM (2021) Pathogenic mutations and atypical flow cytometric findings characterize the majority of unclassifiable myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Am J Clin Pathol* 156:634–643
17. Lucas F, Hergott CB (2023) Advances in acute myeloid leukemia classification, prognostication and monitoring by flow cytometry. *Clin Lab Med* 43:377–398
18. Mestrum SGC, De Wit NCJ, Drent RJM et al (2021) Proliferative activity is disturbed in myeloproliferative neoplasms (MPN), myelodysplastic syndrome (MDS), and MDS/MPN diseases. Differences between MDS and MDS/MPN. *Cytometry B Clin Cytom* 100:322–330
19. Oelschlaegel U, Oelschlaeger L, Von Bonin M et al (2023) Comparison of five diagnostic flow cytometry scores in patients with myelodysplastic syndromes: diagnostic power and prognostic impact. *Cytometry B Clin Cytom* 104:141–150
20. Ogata K, Kishikawa Y, Satoh C et al (2006) Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34+ cells in low-grade myelodysplastic syndromes. *Blood* 108:1037–1044
21. Porwit A, Bene MC, Duetz C et al (2023) Multiparameter flow cytometry in the evaluation of myelodysplasia: analytical issues: recom-

- mendations from the European Leukemianet/ International Myelodysplastic Syndrome Flow Cytometry Working Group. *Cytometry B Clin Cytom* 104:27–50
22. Porwit A, Rajab A (2015) Flow cytometry immunophenotyping in integrated diagnostics of patients with newly diagnosed cytopenia: one tube 10-color 14-antibody screening panel and 3-tube extensive panel for detection of MDS-related features. *Int J Lab Hematol* 37(Suppl 1):133–143
 23. Pozdnyakova O, Orazi A, Kelemen K et al (2021) Myeloid/lymphoid neoplasms associated with Eosinophilia and Rearrangements of PDGFRA, PDGFRB, or FGFR1 or with PCM1-JAK2. *Am J Clin Pathol* 155:160–178
 24. Saft L, Kvasnicka HM, Boudova L et al (2023) Myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and tyrosine kinase fusion genes: a workshop report with focus on novel entities and a literature review including paediatric cases. *Histopathology*
 25. Saft L, Timar B, Porwit A (2020) Enumeration of CD34+blasts by immunohistochemistry in bone marrow biopsies from MDS patients may have significant impact on final WHO classification. *J Hematop* 13:79–88
 26. Selimoglu-Buet D, Wagner-Ballon O, Saada V et al (2015) Characteristic repartition of monocyte subsets as a diagnostic signature of chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 125:3618–3626
 27. Swerdlow SH (2017) WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. *Int Agency Res Cancer Lyon*
 28. Van De Loosdrecht AA, Kern W, Porwit A et al (2023) Clinical application of flow cytometry in patients with unexplained cytopenia and suspected myelodysplastic syndrome: A report of the European LeukemiaNet International MDS-Flow Cytometry Working Group. *Cytometry B Clin Cytom* 104:77–86
 29. Van Der Velden VHJ, Preijers F, Johansson U et al (2023) Flow cytometric analysis of myelodysplasia: pre-analytical and technical issues-recommendations from the European Leukemianet. *Cytometry B Clin Cytom* 104:15–26
 30. Walter W, Pohlkamp C, Meggendorfer M et al (2023) Artificial intelligence in hematological diagnostics: Game changer or gadget? *Blood Rev* 58:101019

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Rolle der Durchflusszytometrie bei der Klassifikation myeloischer Neoplasien

Die Klassifikation gemäß World Health Organization (WHO-HAEM5) und die International Consensus Classification (ICC) myeloischer Neoplasien basieren auf der Integration klinischer, morphologischer, immunphänotypischer und genetischer Daten. Die durchflusszytometrische Immunphänotypisierung (FCIP) ermöglicht die Identifizierung, Auszählung und Charakterisierung von hämatopoetischen Zellen und ist daher ein leistungsstarkes Instrument bei der Diagnostik, Klassifikation und Verlaufskontrolle hämatologischer Neoplasien. Die Mehrzahl der Studien über die Anwendung der Durchflusszytometrie (FCM) bei chronischen myeloischen Neoplasien fokussieren auf die Rolle bei der Diagnostik myelodysplastischer Syndrome (MDS). FCM ist auch hilfreich bei der Beurteilung myeloproliferativer Neoplasien (MPN) und von MDS/MPN, einschließlich des frühen Nachweises einer drohenden myeloischen oder lymphatischen Blastenkrise und der immunphänotypischen Charakterisierung monozytärer Subpopulationen. Die Klassifizierung der akuten myeloischen Leukämie (AML) beruht primär auf zytogenetischen und molekularen Befunden; FCIP ist jedoch erforderlich für die Subklassifikation der AML, die nicht anderweitig spezifiziert ist (NOS; ICC)/AML, die definiert ist durch Differenzierung (WHO-HAEM5). Die wichtigste Rolle der FCM bei AML ist die schnelle Diagnostik und die Anwendung zur Überwachung messbarer Resterkrankung. Maschinelles Lernen und künstliche Intelligenz können für die Analyse und Klassifizierung von FCM-Daten genutzt werden. Dieser Artikel, der auf einem Vortrag bei der 106. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie 2023 basiert, ist eine Zusammenfassung zur Rolle der Durchflusszytometrie bei der Klassifikation myeloischer Neoplasien, einschließlich neuerer Publikationen zur Anwendung von künstlicher Intelligenz.

Schlüsselwörter

Durchflusszytometrie · Myeloische Neoplasien · Klassifikation · Immunphänotypisierung · Künstliche Intelligenz

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S176–S182
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01261-x
Accepted: 19 October 2023
Published online: 24 November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Using proteomics for stratification and risk prediction in patients with solid tumors

Tilman Werner^{1,2,3} · Matthias Fahrner^{1,4} · Oliver Schilling^{1,4}

¹Institute for Surgical Pathology, Faculty of Medicine, University Medical Centre Freiburg, University of Freiburg, Freiburg, Germany

²Faculty of Biology, University of Freiburg, Freiburg, Germany

³Spemann Graduate School of Biology and Medicine (SGBM), University of Freiburg, Freiburg, Germany

⁴German Cancer Consortium (DKTK) and Cancer Research Center (DKFZ), Freiburg, Germany

Abstract

Proteomics, the study of proteins and their functions, has greatly evolved due to advances in analytical chemistry and computational biology. Unlike genomics or transcriptomics, proteomics captures the dynamic and diverse nature of proteins, which play crucial roles in cellular processes. This is exemplified in cancer, where genomic and transcriptomic information often falls short in reflecting actual protein expression and interactions. Liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS) is pivotal in proteomic data generation, enabling high-throughput analysis of protein samples. The MS-based workflow involves protein digestion, chromatographic separation, ionization, and fragmentation, leading to peptide identification and quantification. Computational biostatistics, particularly using tools in R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; www.R-project.org), aid in data analysis, revealing protein expression patterns and correlations with clinical variables. Proteomic studies can be explorative, aiming to characterize entire proteomes, or targeted, focusing on specific proteins of interest. The integration of proteomics with genomics addresses database limitations and enhances peptide identification. Case studies in intrahepatic cholangiocarcinoma, glioblastoma multiforme, and pancreatic ductal adenocarcinoma highlight proteomics' clinical applications, from subtyping cancers to identifying diagnostic markers. Moreover, proteomic data augment molecular tumor boards by providing deeper insights into pathway activities and genomic mutations, supporting personalized treatment decisions. Overall, proteomics contributes significantly to advancing our understanding of cellular biology and improving clinical care.

Keywords

Biomarkers · Cancer · Translational research · Posttranslational modification · Mass spectrometry

Introduction

Proteins are central components of all signaling, synthetic, catalytic, and structural functions within cells. Their entirety in a given sample at a given time is called the *proteome*, and their comprehensive study *proteomics*. Despite their function as effector molecules in most cellular processes, large-scale proteomic research has been elusive for much longer than genomic or transcriptomic screening. Recent

advancements in analytical chemistry and computational biology have changed that and provide an integral dimension to our understanding of cell biology [1].

Why proteomics?

Originating from a single gene, multiple mRNA splicing variants are translated into different protein isoforms with a plethora of potential modifications. Compared to the genome and transcriptome, the pro-



Scan QR code & read article online

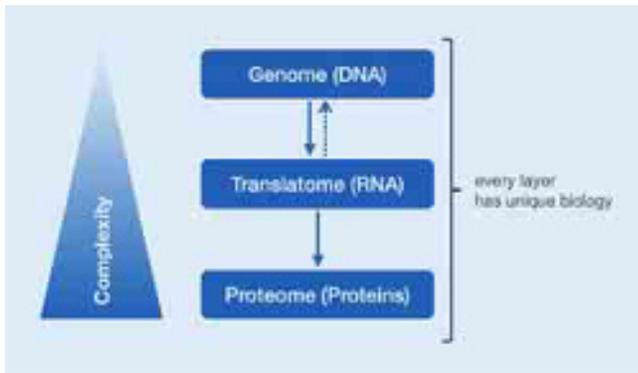


Fig. 1 ◀ Molecular and omics data complexity increases with each level from gene to protein

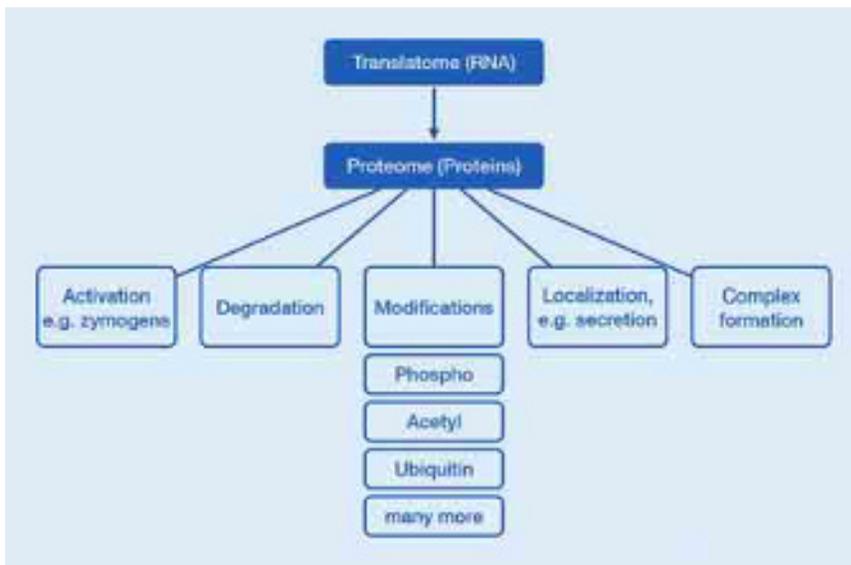


Fig. 2 ▲ Compared to RNA, proteins are subject to a myriad of regulatory mechanisms, all of which need to be considered to understand their activity and function

teome is highly dynamic (■ Fig. 1): within milliseconds, proteins can undergo modification, aggregation, transport, or degradation in response to stimuli. Therefore, proteomic data compound downstream effects of DNA and RNA translation as well as protein-level effects such as proteolytic degradation, and cannot be derived reliably from the, e.g., transcriptomic level [17].

This is very well illustrated by cancer, a disease that originates from aberrations in the genome, which then translate into altered RNA and protein expression. Although a tumor's genome and transcriptome hold invaluable information about cellular identity, they hardly reflect the actual protein expression and surrounding biological conditions [17]. A range of studies have tested the correlation between mRNA and protein expression, which usually resulted in correlation factors between

0.3 and 0.6 [5, 17, 23]. Malignant cells have to interact with other tissues and the matrix, with immune cells, signaling molecules, nutrients, and metabolites; all of which, in turn, affect the tumor's capacity for growth and migration—and ultimately its aggressiveness [3, 25]. Proteomic studies can take this into account by investigating protein abundance, physiologically relevant modifications such as phosphorylation, and proteolytic processing (■ Fig. 2).

The current method of choice for high-throughput and large-scale proteomics is liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS) [1, 12]. This rapidly developing technique enables the investigation of a variety of sample types, such as fresh-frozen or formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissues, and liquid biopsies. Current mass spectrometers and software enable the identification and quantifica-

tion of up to ten thousand proteins from less than 100 ng of sample/peptide material [7]. Moreover, proteolysis, phosphorylation, glycosylation, ubiquitination, and other modifications can be studied globally with specific enrichment protocols during sample preparation and/or specialized software.

The workflow of MS-based proteomics

In the vast majority of mass spectrometric analyses, proteins are digested into smaller peptides, which are subsequently measured in the mass spectrometer. Most often, trypsin is used as the protease of choice, since it cleaves specifically after lysine and arginine residues, hence favoring ionization in acidic conditions. The peptides are then chromatographically separated, ionized, and sprayed into the mass spectrometer, where they collide with gas molecules and break into fragments. The mass spectrometer records the mass-to-charge ratio (m/z) of the ionized molecules and the corresponding signal intensity. Since each amino acid has a different mass, individual peptide sequences result in unique fragment m/z patterns—the so-called peptide fingerprint. Because we know the canonical amino acid sequence for every human protein we can predict all potential tryptic peptides and their fragment patterns. Recorded mass spectra are matched *in silico* to these predicted peptide spectra to enable the identification of peptides in the samples. Quantification is then performed by computing the area under the curve of the LC elution peak for each of the identified peptides. This initial analysis, called peptide-to-spectrum matching, can be performed by a variety of free, open-source, or commercial software solutions (■ Fig. 3). If a peptide with a unique sequence within the human proteome is detected, the corresponding protein counts as identified. If several peptides of the same protein are detected, their quantifiers are aggregated into an overall protein intensity. As output, we receive a matrix of identified proteins and their respective intensity in each sample. It is important to note that all quantification is relative and that only intensities of the same protein are comparable [1, 12].

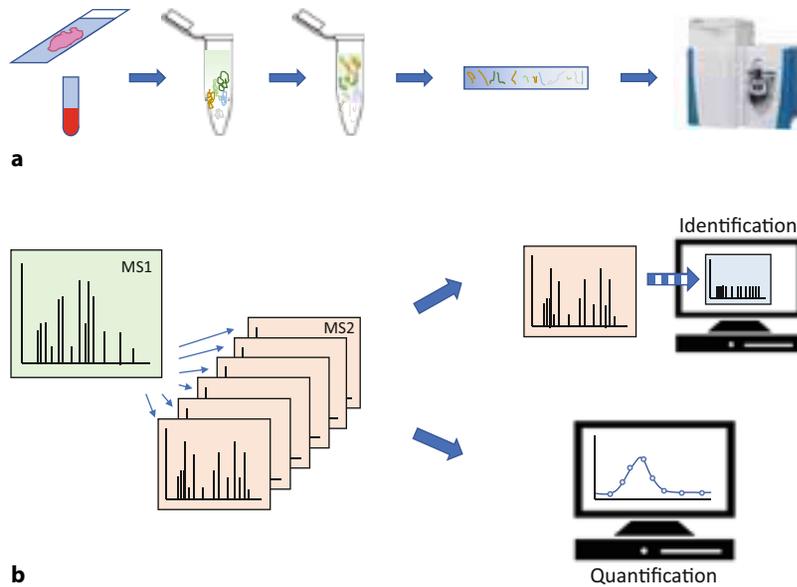


Fig. 3 **a** Proteins from all kinds of samples are brought into solution and then digested into peptides. Chromatographic separation ensures that only a few peptides at a time enter the mass spectrometer for measurement. **b** Inside the mass spectrometer, an overview scan (*MS1*) identifies the masses of intact peptides. Different masses or mass ranges are selected for fragmentation scans (*MS2*), depending on the measurement mode. Acquired mass spectra are computationally matched to databases to identify the peptide sequence. For quantification, the area under the curve for each peptide's elution peak is computed

Input material

Ranging from liquids like cell culture supernatants or urine, to fresh-frozen or FFPE tissues, to even skin and bone material, different preparation protocols ensure the efficient solubilization and digestion of a vast variety of biological sample types. Compared to nucleic acids, proteins are remarkably stable, and samples can be boiled in detergents, sonicated, or crushed in bead mills to extract the proteins [29]. Some experiments or sample types require additional preprocessing before LC-MS measurement. A major challenge with all blood-derived samples like serum or plasma is the high dynamic range of protein abundances. Typically, albumin alone makes up more than 50% of serum protein composition, with just a handful of others making up another 40%. These highly abundant proteins might overshadow other, often more interesting, proteins and can be depleted before measurement, although recent advances open the door to non-depletion based blood proteome profiling [11]. In a similar approach, proteins can also be specifically

enriched before digestion to capture ubiquitinated proteins or binding partners by affinity chromatography. Conversely, enrichments can also be performed after digestion to select phosphorylated, glycosylated, or acetylated peptides [28].

Data acquisition in the mass spectrometer

The mass spectrometer is the central analytical tool for LC-MS proteomic workflows. Choosing the right instrument with the right settings determines the nature of the acquired data, its processing options, and ultimately its quality. Modern mass spectrometers operate at a sensitivity and speed that already enable very short LC gradients of less than 5 min and even single-cell proteomics. However, a prototypical proteomic experiment uses gradients upwards of 40 min and input material equivalent to more than thousands of cells. Innovations like parallel accumulation–serial fragmentation (PASEF) have also led to ever-increasing proteome coverages of up to 10,000 proteins [7]. Nevertheless, complete proteome coverage re-

mains challenging, especially for sparse or highly modified proteins. But even older instrumentation (>10 years) can yield thousands of proteins, if instrument settings are tuned and optimized for the respective sample type and scientific question. Hence, MS method optimization can drastically increase proteome coverage and data quality. A major innovation in that regard has been the development of data-independent acquisition (DIA) measurement modes, which almost doubled peptide identification numbers in our experience without any hardware changes. During conventional data-dependent acquisition (DDA) measurements, individual peptide masses are selected for fragmentation. Thus, each fragment spectrum originates from a single peptide and can be easily matched to the database. However, not all peptides can be selected for fragmentation. Usually, only peptides with the highest intensities are fragmented and simultaneously eluting, low abundant peptides are not selected for fragmentation. This may lead to inconsistent peptide identifications and quantification across multiple measurements such as large sample cohorts. Conversely, in DIA measurements, multiple peptides are fragmented independently of their intensity, based solely on the respective elution time and mass-to-charge window. This leads to convoluted fragment spectra, which require advanced software for peptide-to-spectrum matching but result in higher identification rates with better consistency (■ Fig. 4; [12]). A comparison of different software options can be found in Fröhlich et al. [10].

Statistical data analysis

Just as in other omics-type data, it is virtually impossible to gain an overview of proteomic datasets without the help of computational biostatistics. Here, the programming language R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; www.R-project.org) provides a versatile and powerful environment through the availability of a flood of specialized statistical tools. These generally serve two purposes: to either select groups of patients whose proteomes are similar or follow interesting patterns, and to filter subsets of proteins whose expression corre-

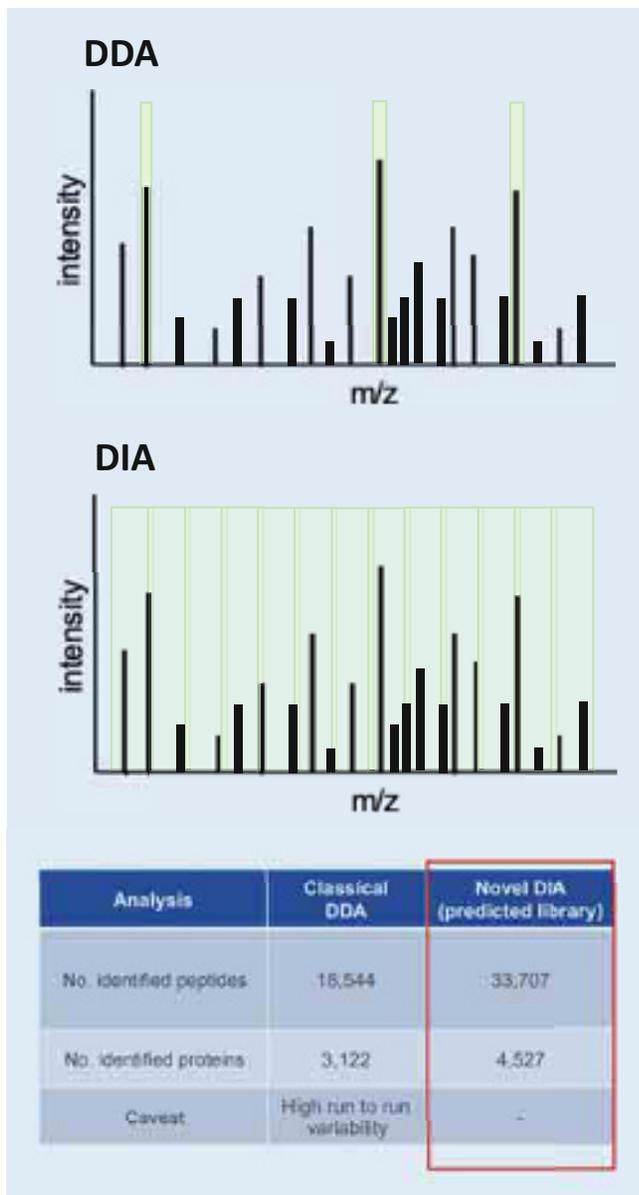


Fig. 4 ◀ Peptides can be selected for fragmentation either in data-dependent acquisition (DDA) or data-independent acquisition (DIA) mode. In DDA, only single peptide masses (usually those with the highest intensity) are fragmented. In DIA, fixed ranges of peptide masses are selected. While DIA approaches require more advanced computational data analysis strategies, peptide and protein identification rates are often higher and more consistent, as illustrated by the example (FFPE tumor tissue, measured on the same device)

sponds to a (clinical) variable of interest. These approaches can also be combined by first defining proteomic patient subgroups within a cohort and then identifying proteins whose expression is most divergent between these groups. In the cancer context, this can lead to description of tumor subgroups with different prognoses and identification of proteins that correlate to already collected clinical data, such as survival, clinical markers, progression, and genomic information. From highlighted sets of interesting proteins, corresponding cellular processes or pathways that are enriched in specific tumor subgroups or under some clinical conditions can be inferred. All analysis techniques described

here are also applicable to phosphorylation or proteolysis data [4, 21].

Explorative versus targeted proteomics

The above-described workflow illustrates the setup of explorative proteomic studies that aim to characterize as much as possible of the entire proteome within a clinical sample. However, often proteins of interest in a disease are already known and should be quantified robustly and reliably in high-throughput approaches. Here, mass spectrometer settings that generate explorative data are reaching their limits for two reasons: a) the non-detection of

a peptide cannot prove its absence and b) the sensitivity of explorative approaches remains limited for very low-abundance proteins. Therefore, one can perform targeted measurements (e.g., selected or parallel reaction monitoring) that focus on *a priori*-defined peptides with known mass and fragment patterns. While samples are prepared just as usual, the mass spectrometer isolates these peptides of interest and accumulates them with higher sensitivity [12]. The addition of internal, isotopically labeled peptide standards with the same amino acid sequence enables consistent relative and even absolute quantification [26].

Proteogenomics

One limitation of the standard proteomic workflow is the dependency on databases to detect peptide sequences in mass spectrometric raw data. Such databases typically only consist of standard proteomes that can be downloaded from uniprot.org, which do not reflect individual, ethnical, or pathological variations in protein sequences. Since genome mutations play an essential role in the development of cancer, it is worthwhile to investigate whether they translate into alterations of protein sequences. Proteogenomic workflows allow the prediction of protein sequences from DNA or RNA sequencing data, which can then be used to identify patient-individual peptide sequences within mass spectrometric raw data [19]. Peptide identification without databases (called *de novo* sequencing) remains challenging, as is meta-proteomics aiming to identify bacterial species in highly convoluted samples.

Applications in cancer

Proteomics in intrahepatic cholangiocarcinoma

Intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC) is a rare and understudied cancer with dismal survival rates. Despite a high frequency of recurrences, reliable pathological markers are scarce and individual times-to-recurrence (TTR) remain hard to predict [2]. In a proteomic study of macro-dissected ICC tumor and tumor-adjacent non-malignant FFPE tissues, we identified proteomic pa-

tient subgroups with significantly different TTRs. The groups showed highly divergent protein expression patterns and contrasting proteolytic activities. Using survival statistics, we were able to single out individual proteins whose expression correlated to the TTR. In a follow-up study in patient-derived xenografts, we used amino acid sequence differences between mice and humans to disentangle which proteins originated from the human tumor and the murine stromal tissue.

Serum proteomics in glioblastoma multiforme

Glioblastoma multiforme counts as one of the most fatal and heterogeneous cancer entities. Virtually all patients develop recurrences shortly after resection and despite aggressive treatment [20]. A major challenge is the lack of diagnostic markers for recurrent tumors. We set up a cohort of tumor tissues with matching serum samples taken before and after surgery. By comparing the serum proteomes before and after surgery to the proteomic profiles of the tumor tissues, we aim to find tissue-leakage proteins that can indicate regrowing tumors. Additionally, we will use clustering methods to define proteomic subtypes of the tumors.

Kallikreins in pancreatic ductal adenocarcinoma

Kallikrein proteases are important players in the inflammatory environment that promotes progression of chronic pancreatitis (CP) to pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC), one of the most lethal malignancies worldwide. Because Kallikreins could not be detected reliably in a small cohort comprising 14 PDAC, 7 CP, and 16 healthy pancreas samples, we developed a targeted proteomic panel for these proteases. We found that Kallikreins 6 and 10 are strongly and significantly upregulated in PDAC tissue, but not in CP or healthy pancreas, which implicates them as promising diagnostic markers to separate inflamed from already cancerous pancreatic tissue [27].

Proteomic data in molecular tumor boards

Molecular tumor boards (MTB) have been initiated worldwide to address unmet clinical needs by providing recommendations on efficient treatment options in patients suffering from challenging malignancies, such as rare, treatment-resistant, and particularly aggressive and fast-growing tumors [13, 22]. Patients in the MTB receive in-depth molecular diagnostics, that is presented and discussed in an interdisciplinary committee comprising expert physicians, scientists, and bioinformaticians, aiming for individualized and personalized treatment recommendations [18]. Regular meetings foster scientific and medical collaboration among scientists and physicians, ensuring a comprehensive assessment of each MTB patient case. The in-depth molecular characterizations and subsequent treatment recommendations from MTBs have been shown to promote improved clinical outcomes in multiple studies [16, 18]. Continuous technological and methodological developments as well as the high sensitivity have prompted next-generation sequencing (NGS)-based approaches to be a crucial method in molecular diagnostics. This is reflected by numerous clinical studies and vast knowledge databases that link certain mutations in the DNA and/or occurrence of RNA fusions to their respective impact on clinical outcomes and disease prognosis in several malignancies [15]. Current routine molecular diagnostics mainly rely on immunohistochemistry (IHC) along with genomic and transcriptomic NGS-based techniques. Therefore, highly sensitive and in-depth proteomics harbors the potential to provide additional information to complement molecular characterization in particularly challenging malignancies. Furthermore, specialized protocols and sample preparation methods enable the large-scale analysis of different posttranslational modifications (PTMs), such as phosphorylation, glycosylation, acetylation, and ubiquitination [24]. The extensive promise of clinical proteomics is evident through numerous studies that have pinpointed individual biomarkers and potential therapeutic targets, as well as treatment response prediction and

longitudinal treatment characterization [6, 8]. The integration of in-depth LC-MS-based proteomics in the MTB enables the investigation and detection of direct drug targets such as PD-L1, EGFR, and HER2, and could corroborate immunostainings [9]. Without the dependency on established immunohistochemistry protocols and highly specific antibodies, LC-MS-based proteomics allows investigation of recently described therapeutic targets such as the Claudin-18.2 isoform, Trop-2, and Nectin-4. Phosphoproteomic investigations complement explorative proteome profile data and enable direct investigation of pathway activities within the patient-derived samples. Depending on the individual clinical questions in each patient, proteomic and genomic data can be integrated, such as the detection of phosphorylated ERK1/2 in patients with *BRAF* fusions [14].

Conclusion

Mass spectrometry-based proteomics is a versatile and rapidly developing method to identify and quantify thousands of proteins in clinical samples with high throughput. Reflecting unique biological processes at the protein level, such as modifications or proteolysis, it adds an integral layer to genomic and transcriptomic data, which enhances our understanding of cancer and other diseases. With highly reproducible, robust, and semi-automated protocols, LC-MS-based proteomics is well equipped to complement and contribute to current state-of-the-art molecular diagnostics of challenging tumor cases.

Corresponding address

**Prof. Dr. Oliver Schilling**

Institute for Surgical Pathology, Faculty of Medicine, University Medical Centre Freiburg, University of Freiburg
Breisacher Str. 115a, 79106 Freiburg, Germany
oliver.schilling@uniklinik-freiburg.de

Declarations

Conflict of interest. T. Werner, M. Fahrner, and O. Schilling declare that they have no competing interests.

All human studies described were carried out with the approval of the responsible ethics committees, in accordance with national law and in accordance with the Declaration of Helsinki of 1975 (as amended). A declaration of consent was provided from all patients involved. All national guidelines for keeping and handling laboratory animals have been adhered to and the necessary approvals from the responsible authorities have been obtained.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

References

- Aebersold R, Mann M (2016) Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. *Nature* 537:347–355
- Banales JM, Marin JGG, Lamarca A et al (2020) Cholangiocarcinoma 2020: the next horizon in mechanisms and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 17:557–588
- Bhowmick NA, Moses HL (2005) Tumor–stroma interactions. *Curr Opin Genet Dev* 15:97–101
- Chen C, Hou J, Tanner JJ, Cheng J (2020) Bioinformatics methods for mass spectrometry-based proteomics data analysis. *Int J Mol Sci* 21:2873
- Chen G, Gharib TG, Huang C-C et al (2002) Discordant protein and mRNA expression in lung adenocarcinomas. *Mol Cell Proteomics* 1:304–313
- Coscia F, Lengyel E, Duraiswamy J et al (2018) Multi-level Proteomics identifies CT45 as a chemosensitivity mediator and immunotherapy target in ovarian cancer. *Cell* 175:159–170.e16
- Demichev V, Szyrwiel L, Yu F et al (2022) dia-PASEF data analysis using fragpipe and DIA-NN for deep proteomics of low sample amounts. *Nat Commun* 13:3944
- Doll S, Kriegmair MC, Santos A et al (2018) Rapid proteomic analysis for solid tumors reveals LSD1 as a drug target in an end-stage cancer patient. *Mol Oncol* 12:1296–1307
- Doroshov DB, Bhalla S, Beasley MB et al (2021) PD-L1 as a biomarker of response to immune-checkpoint inhibitors. *Nat Rev Clin Oncol* 18:345–362
- Fröhlich K, Brombacher E, Fahrner M et al (2022) Benchmarking of analysis strategies for data-independent acquisition proteomics using a large-scale dataset comprising inter-patient heterogeneity. *Nat Commun* 13:2622
- Geyer PE, Holdt LM, Teupser D, Mann M (2017) Revisiting biomarker discovery by plasma proteomics. *Mol Syst Biol* 13:942
- Gillet LC, Leitner A, Aebersold R (2016) Mass spectrometry applied to bottom-up proteomics: entering the high-throughput era for hypothesis testing. *Annu Rev Anal Chem* 9:449–472
- Hoeflin R, Geißler A-L, Fritsch R et al (2018) Personalized clinical decision making through implementation of a molecular tumor board: a German single-center experience. *JCO Precis Oncol* (1–16)
- Jones DTW, Kocalkowski S, Liu L et al (2008) Tandem duplication producing a novel oncogenic BRAF fusion gene defines the majority of pilocytic astrocytomas. *Cancer Res* 68:8673–8677
- Landrum MJ, Lee JM, Riley GR et al (2014) ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. *Nucleic Acids Res* 42:D980–D985
- Larson KL, Huang B, Weiss HL et al (2021) Clinical outcomes of molecular tumor boards: a systematic review. *JCO Precis Oncol* (1122–1132)
- Liu Y, Beyer A, Aebersold R (2016) On the dependency of cellular protein levels on mRNA abundance. *Cell* 165:535–550
- Luchini C, Lawlor RT, Milella M, Scarpa A (2020) Molecular tumor boards in clinical practice. *Trends Cancer* 6:738–744
- Mani DR, Krug K, Zhang B et al (2022) Cancer proteogenomics: current impact and future prospects. *Nat Rev Cancer* 22:298–313
- Organisation mondiale de la santé (2021) Centre international de recherche sur le cancer. In: Central nervous system tumours, 5th edn. International agency for research on cancer, Lyon
- Santos A, Colaço AR, Nielsen AB et al (2022) A knowledge graph to interpret clinical proteomics data. *Nat Biotechnol* 40:692–702
- Schwaederle M, Parker BA, Schwab RB et al (2014) Molecular tumor board: the university of california san diego moore's cancer center experience. *The Oncol* 19:631–636
- Schwanhäusser B, Busse D, Li N et al (2011) Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature* 473:337–342
- Sharma K, D'Souza RCJ, Tyanova S et al (2014) Ultra-deep human phosphoproteome reveals a distinct regulatory nature of tyr and Ser/Thr-based signaling. *Cell Rep* 8:1583–1594

Einsatz der Proteomik bei der Stratifizierung und Prognoseabschätzung solider Tumoren

Proteomik beschäftigt sich mit der globalen Analyse aller Proteine einer Probe und hat sich in den letzten Jahren enorm weiterentwickelt. Proteine durchlaufen vielfältige Modifikations-, Transport- und Abbauprozesse, derentwegen das Proteom hochdynamisch ist. Ein Beispiel dafür sind Krebserkrankungen, bei denen genomische und transkriptomische Informationen die tatsächliche Proteinexpression und -interaktion kaum widerspiegeln können. Die an Flüssigchromatographie gekoppelte Massenspektrometrie (LC-MS) ist von zentraler Bedeutung bei der Generierung proteomischer Daten und ermöglicht die Hochdurchsatzanalyse zur Peptididentifizierung und -quantifizierung im Massenspektrometer aus sehr geringen Materialmengen. Computergestützte Biostatistik, insbesondere unter Verwendung von R (R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich; www.R-project.org), hilft bei der Datenanalyse und deckt Proteinexpressionsmuster und Korrelationen mit klinischen Variablen auf. Proteomische Studien können explorativ sein und auf die Charakterisierung ganzer Proteome abzielen oder zielgerichtet sein und sich auf bestimmte interessierende Proteine konzentrieren. Die Integration von Proteomik in Genomik zielt auf die Beseitigung von Einschränkungen in Datenbanken ab und verbessert die Peptididentifizierung. Verschiedene Fallstudien verdeutlichen die klinischen Anwendungen der Proteomik, von der Subtypisierung von Krebserkrankungen bis zur Identifizierung diagnostischer Marker. Darüber hinaus unterstützen proteomische Daten molekulare Tumorboards, indem sie tiefere Einblicke in Signalwegaktivitäten und genomische Mutationen liefern und so bei personalisierten Behandlungsentscheidungen helfen. Insgesamt trägt die Proteomik wesentlich dazu bei, unser Verständnis der Zell- und Tumorbiologie zu erweitern und die klinische Versorgung zu verbessern.

Schlüsselwörter

Biomarker · Krebs · Translationale Forschung · Posttranslationale Modifikation · Massenspektrometrie

25. Tan HT, Lee YH, Chung MCM (2012) Cancer proteomics: CANCER PROTEOMICS. *Mass Spectrom Rev* 31:583–605
26. Vidova V, Spacil Z (2017) A review on mass spectrometry-based quantitative proteomics: targeted and data independent acquisition. *Anal Chim Acta* 964:7–23
27. Werner J, Bernhard P, Cosenza-Contreras M et al (2023) Targeted and explorative profiling of kallikrein proteases and global proteome biology of pancreatic ductal adenocarcinoma, chronic pancreatitis, and normal pancreas highlights disease-specific proteome remodelling. *Neoplasia* 36:100871
28. Witze ES, Old WM, Resing KA, Ahn NG (2007) Mapping protein post-translational modifications with mass spectrometry. *Nat Methods* 4:798–806
29. Zhu Y, Aebersold R, Mann M, Guo T (2021) Snap-Shot: Clinical proteomics. *Cell* 184:4840–4840.e1

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Methoden, Anwendungen und Zukunftsperspektiven der intraoperativen Gewebeerkennung

Sanja Hermanns · Sascha Dammeier · Alexander Neugebauer · Markus D. Enderle
Erbe Elektromedizin GmbH, Tübingen, Deutschland

Zusammenfassung

Die Entwicklungen neuer intraoperativer Methoden zur Gewebeerkennung nahmen seit dem letzten Jahrhundert stetig zu. Die Anwendungen sind mannigfaltig, wobei der Hauptzweck darin besteht, Zielstrukturen zu identifizieren und dabei das angrenzende Gewebe zu schonen, was dem allgemeinen Paradigma des minimal-invasiven Ansatzes in der Medizin entspricht. Insbesondere in der Onkologie besteht ein weiterer Vorteil in der Identifizierung oder Klassifizierung von neoplastischem Gewebe zur Unterstützung und Verbesserung der Therapie, z. B. in der brusterhaltenden Tumorchirurgie.

Viele der in Frage kommenden Verfahren nutzen die unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften des zu behandelnden Gewebes wie induzierte Fluoreszenz, optische Kohärenz oder elektrische Impedanz.

Die jüngsten Entwicklungen konzentrieren sich auf die Verlagerung der Analytik von *ex vivo* zu *in situ* und von der asynchronen Unterstützung zur Echtzeitunterstützung der Chirurgen und Chirurginnen, z. B. im Falle der optischen Emissionsspektroskopie. Darüber hinaus gewinnen Verfahren der *Künstlichen Intelligenz* (KI) bei der Auswertung und Beurteilung komplexer Messdaten sowie bei der Verfeinerung bestehender und der Entwicklung neuer Methoden an Bedeutung, um diese leistungsfähiger zu machen und gleichzeitig die Variabilität zwischen den Operateuren bei chirurgischen Eingriffen zu verringern. Verschiedene Aspekte der Nutzung und Eignung dieser Technologien für intraoperative, therapieunterstützende Anwendungen werden beleuchtet.

Schlüsselwörter

Brusterhaltende Therapie · Fluoreszenz · Massenspektrometrie · Raman · Optische Kohärenztomographie · Radiofrequenzspektroskopie · Optische Emissionsspektroskopie · KI unterstützte Gewebedetektion

Die Medizin hat sich seit dem 17. Jahrhundert mit der Erforschung und Entwicklung bildgebender Methoden befasst, um Gewebe und Gewebestrukturen, die für das menschliche Auge unsichtbar sind, mikroskopisch zu visualisieren. Einige der wichtigsten Meilensteine waren die Entwicklung des optischen Mikroskops 1625, der Hämatoxylin-Eosin-Färbung 1877, der Bildgebung mittels Röntgenstrahlen 1895 und der Massenspektrometrie 1913.

In der Chirurgie ist die Bildgebung *in Echtzeit* von großer Bedeutung, um bereits während des Eingriffs verschiedene

Gewebearten zu unterscheiden, diagnostische Schlussfolgerungen zu ziehen und Therapieentscheidungen zu treffen. Bildgebende Verfahren ermöglichen ebenfalls, Blutgefäße, Nerven und thermisch empfindliche Strukturen besser zu schützen oder wie in der Elektrochirurgie eine unbeabsichtigte Gewebeschädigung zu verhindern.

Seit 1990 ist die Anzahl der veröffentlichten Artikel zu den nachstehenden Methoden der Gewebeerkennung um das 30fache gestiegen, was die intensive Forschung in diesem Bereich widerspiegelt.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

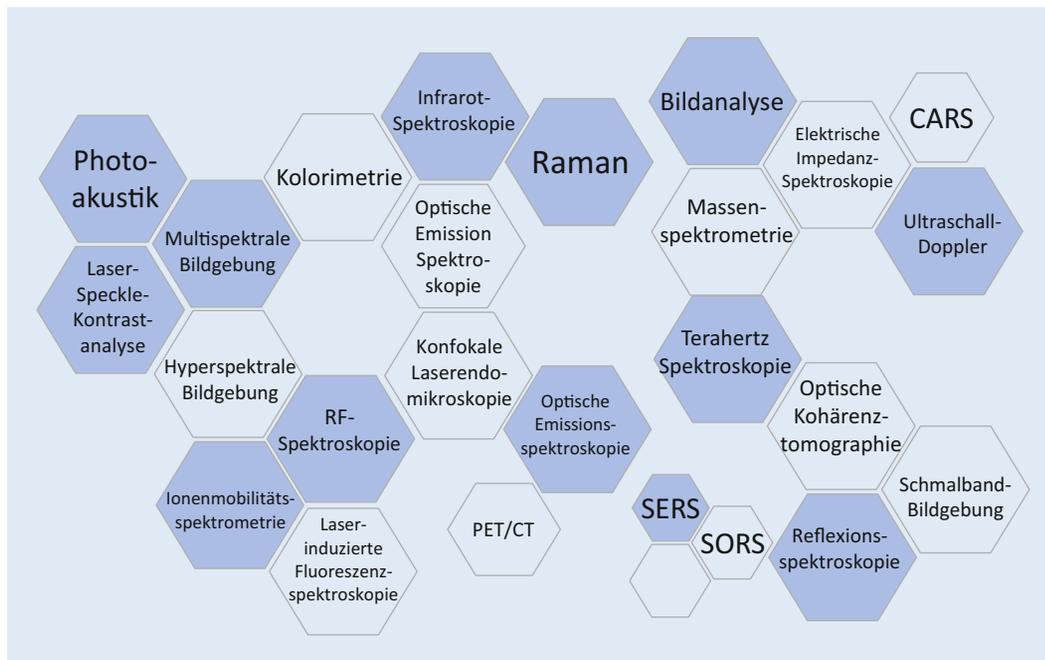


Abb. 1 ◀ Darstellung der Vielfalt von Methoden, die sich zur intraoperativen Gewebeerkennung eignen (© 2023 Erbe Elektromedizin GmbH, mit freundl. Genehmigung)

Derzeit existieren zahlreiche Methoden der Gewebeerkennung (▣ Abb. 1). Ihre Mannigfaltigkeit ergibt sich unter anderem aus dem genutzten physikalischen Prinzip, der Auflösung, der Eindringtiefe, der Verwendung von Farbstoffen oder sonstigen Adjuvantien, dem Ort der Untersuchung (*in vivo*, *ex vivo*, *in situ*) sowie aus Größe, Handhabung und Kosten der Geräte.

Ein Paradebeispiel für den Bedarf, Gewebetypen (gesundes, benignes und malignes) während eines chirurgischen Eingriffs zu erkennen und voneinander zu unterscheiden, ist die minimal-invasive brusterhaltende Tumorsektion (BET) von Mammakarzinomen. Bei den aktuellen BET-Standardverfahren wird das gesamte bösartige Gewebe entfernt, wobei ein kleiner Rand des normalen Brustgewebes um die Läsion herum mit herausgeschnitten wird. Die Leitlinien zum Mammakarzinom empfehlen den intraoperativen Schnellschnitt, bei dem ein Teil des entfernten Gewebes noch während der Operation im Labor kryostatisch eingefroren, geschnitten und anschließend durch ein/e Pathologe/-in beurteilt wird. Dazu gehört die Bestimmung der Bösartigkeit und des Stadiums der Invasion. Aufgrund von zeitlichen Einschränkungen (längere Narkosezeit für die Patientin) und Personalknappheit wird der Schnellschnitt oft weggelassen und das entfernte Gewebe

erst nach der Operation mikroskopisch untersucht. Eine Optimierung dieses Standardverfahrens würde die Untersuchung des Tumorbettes beinhalten, um keine malignen Zellen zurückzulassen.

Auch wenn es derzeit keinen etablierten globalen Standard für Echtzeitbewertung und schnelle intraoperative Randbewertung bei BET gibt, sind verschiedene optische und spektroskopische Methoden vielversprechend, da sie das Potenzial haben, hochauflösende Informationen für eine sofortige Diagnose zu liefern. Sie machen sich den phänotypischen Unterschied zwischen gesundem und malignem Gewebe zu Nutze. Zum Beispiel weisen Normal- und Tumorgewebe unterschiedliche (bio-)chemische (Hämoglobinkonzentration, Oxygenierungsstatus von Häm-Molekülen und Cytochrom-Oxidationszustand, veränderte Lipidzusammensetzung der Zellmembranen) und physikalische Eigenschaften auf (veränderte Lichtstreuung und Absorption aufgrund von Veränderungen der Zellen, der Gewebestandteile sowie des Blutvolumens und der Durchflussraten).

Unterstützt durch mittels KI trainierter Algorithmen können diese Methoden einen Paradigmenwechsel in der minimal-invasiven Chirurgie herbeiführen.

Hier werden 6 Verfahren näher betrachtet und nach den klinischen Anforderun-

gen die Eindringtiefe, Auflösung und Echtzeitrückmeldung bewertet.

Methoden der Gewebeerkennung am Beispiel des Mammakarzinoms

Pathologische Methoden

Auch wenn die pathologischen Methoden (Schnellschnitt und „imprint cytology“) zuverlässig sind und die höchste diagnostische Genauigkeit in Bezug auf Sensitivität und Spezifität aufweisen, hemmt die Verlängerung der Operationszeit und der Bedarf an sehr gut ausgebildeten Patholog/-innen die breitere Anwendbarkeit dieser Methode als weltweit etablierter Standard für die intraoperative Diagnose. Sie sind insbesondere dann in einschlägigen Leitlinien empfohlen, wenn sie unmittelbar ein weiteres operatives Vorgehen beeinflussen (z. B. durch Beurteilung der axillären Sentinel-Lymphknoten).

Fluoreszenzspektroskopie

Tumorgewebe weist eine andere Autofluoreszenz auf bzw. reichert auch besser einen verabreichten Farbstoff an im Vergleich zu nichtmalignem Gewebe. Diese Eigenschaft wird ausgenutzt, um die beiden Gewebetypen intraoperativ voneinander zu unterscheiden. Das *Lumicell Direct Visualization System* (DVS; Lumicell, Newton, MA,

USA) [1] basiert auf einem spezifischen Binder-gekoppelten Fluoreszenzfarbstoff und wurde für den Einsatz bei Brustkrebspatientinnen entwickelt, um Chirurgen bei der Erkennung von Tumorgewebe während der Lumpektomie und nach der Entfernung des ersten Gewebestücks zu unterstützen. Die Vorteile dieser Methode liegen in der Echtzeitrückmeldung und einer vergleichsweise guten Eindringtiefe von ca. 5 mm. Im Gegensatz dazu zeigen die Ergebnisse der entsprechenden klinischen Studie von Smith B. et al. [2] eine nicht zufriedenstellende Spezifität von 85,2 % und eine Sensitivität von nur 49,3 %. Außerdem wurden aufgrund des Farbstoffes (Pegulicanin) 3 schwerwiegende unerwünschte Nebenwirkungen gemeldet.

Massenspektrometrie (iKnife)

Auf dem Prinzip der massenspektrometrischen Analytik beruht die *Rapid Evaporative Ionisation Mass Spectrometry* (REIMS). Die Gewebeunterscheidung fußt hier auf einer chemischen Analyse der Zusammensetzung des chirurgischen Rauchs, der bei dem elektrochirurgischen Eingriff entsteht. Damit können mit hoher Sensitivität und Spezifität unterschiedliche Gewebearten unterschieden werden. Das iKnife (Waters Corporation, Wilmslow, UK, [3]), ein Elektrokauterisationsinstrument, ist über einen flexiblen Schlauch (2–4 m) mit einem REIMS-Massenspektrometer verbunden und benötigt für eine zuverlässige Analyse der molekularen Zusammensetzung des untersuchten Gewebes 0,7–5 s. Diese Methode liefert eine niedrige Auflösung, basiert auf Gewebedestruktion und ist mit einer teuren, sperrigen und aufwendigen Geräteausstattung verbunden.

In einer 2017 abgeschlossenen klinischen Machbarkeitsstudie [4] wurden brusterhaltende chirurgische Eingriffe mit dem iKnife durchgeführt und die Daten der Rauchgasanalytik mit histopathologischen Befunden der Resektatränder verglichen. Das Ergebnis des iKnife-Detektionsalgorithmus, der zuvor mit Ex-vivo-Spektraldaten von 260 Brustgewebeproben trainiert wurde, weist eine Sensitivität von 90,9 % und eine Spezifität von 98,8 % auf. Die Daten deuten darauf hin, dass das iKnife in der Lage ist, malignes und benignes

Brustgewebe sowohl *ex vivo* als auch *in vivo* voneinander zu unterscheiden.

Raman-Spektroskopie

Die Raman-Spektroskopie ist ein optisches Spektroskopieverfahren, mit dem die Schwingungs- und Rotationsbewegung von Molekülen in einer Probe untersucht werden kann. Da verschiedene Gewebeproben unterschiedliche biochemische Zusammensetzungen (z. B. funktionelle Gruppen) aufweisen, ergibt diese Methode einen probenspezifischen spektralen Fingerabdruck oder ein „Raman-Spektrum“. In einer Studie von Haka et al. [5] wurden 130 Raman-Spektren von menschlichem Brustgewebe (normales Gewebe, fibrozystische Veränderung, Fibroadenom und infiltrierendes Karzinom) von 58 Patienten *ex vivo* untersucht. Die Daten gaben Aufschluss über die chemisch-morphologische Zusammensetzung des Gewebes und wurden zur Entwicklung diagnostischer Algorithmen herangezogen. Dem Forschungsteam ist es dabei gelungen, eine 94%ige Sensitivität und 96%ige Spezifität für die Unterscheidung von malignem und benignem Gewebe nachzuweisen. Die Raman-Spektroskopie ist nicht destruktiv und kann Gewebeinformationen mit hoher Auflösung erzeugen. Die Nachteile dieser Methode liegen in der Komplexität, den hohen Kosten und der Notwendigkeit, das Signal durch zusätzliche Schritte/Verfahren zu verstärken.

Optische Kohärenztomographie (OCT)

Die optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein nichtinvasives Bildgebungsverfahren, das 2D- oder 3D-Bilder erzeugt. Dazu wird ein einzelner Lichtstrahl auf die Gewebeprobe gerichtet und schnell über den gewünschten Scanbereich bewegt. Das Licht, das von der Gewebeprobe aus bis zu einer Tiefe von 2 mm zurückreflektiert wird, wird in ein OCT-Bild umgewandelt. OCT ähnelt dem Ultraschall, verwendet aber Nahinfrarotlicht anstelle von Schall und hat eine deutlich höhere Auflösung (< 20 µm) [6]. Damit ist die OCT eine leistungsfähige Methode zur Visualisierung von Blutgefäßen, Drüsen und umliegenden Strukturen. OCT wurde in den 1990er-

Jahren etabliert und wird seither stetig weiterentwickelt. Seit 2003 ist es Standard für die Visualisierung der Netzhaut in der Augenheilkunde. Seit einigen Jahren wird die intravaskuläre OCT für die Steuerung beim Einsatz von Koronarstents in der Kardiologie angewendet und steht in Verbindung mit Endoskopen und Kathetern für Untersuchungen in der Gastroenterologie zur Verfügung.

In einer multizentrischen, randomisierten, zweiarmigen Studie (NCT05113927) wird die Wirksamkeit von SELENE® (Perimeter Medical, Toronto, Canada) bei der Erkennung positiver Ränder bei der Lumpektomie der Brust untersucht. Dabei wird das Gerät zusätzlich zur standardmäßigen intraoperativen Randbeurteilung eingesetzt. Es kann direkt im OP-Saal verwendet werden und soll hochauflösende Tumorrandvisualisierung auf zellulärer Ebene ermöglichen, die zusätzlich dem histologischen Erscheinungsbild ähneln [7]. Das Verfahren liefert Echtzeitergebnisse, benötigt keine Marker oder Farbstoffe und das Gerät ist tragbar und handlich. In den USA ist es als Untersuchungsgerät durch die FDA zugelassen.

Radiofrequenzspektroskopie

Mit der Radiofrequenzspektroskopie kann explantiertes Brustgewebe auf positive Tumorränder hin untersucht werden. Hierzu wird das Gewebe *ex vivo* im OP-Saal mit einem handgehaltenen Instrument abgetastet. Ein solches von der FDA in den USA zugelassenes Gerät ist die MarginProbe® (Dilon Technologies Inc., Newport News, VA, USA, [8]). Es besteht aus einer Sonde, die mit elektromagnetischen Wellen die Oberfläche des Tumors abscannt, und einer Konsole, die die Messungen der Sonde analysiert. Genauer misst die Sonde die lokalen elektrischen Eigenschaften von Lumpektomierändern im Hochfrequenzbereich. Diese elektrischen Eigenschaften hängen vom Membranpotenzial, der Kernmorphologie, der zellulären Konnektivität und der Vaskularität von lebendem Gewebe ab. Auf diese Weise kann krebsartiges und normales Gewebe effizient voneinander unterschieden werden.

Die Schwelle zwischen positiven und negativen Rändern wurde bereits durch den Vergleich der Daten mit pathologi-

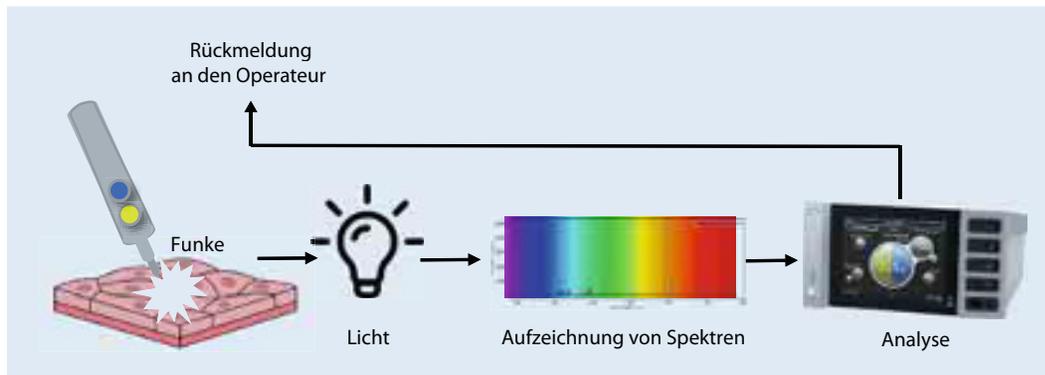


Abb. 2 ◀ Prinzip der optischen Emissionsspektroskopie. (© 2023 Erbe Elektromedizin GmbH, mit freundl. Genehmigung)

schen Ergebnissen bestimmt [9]. Daher könnten Chirurgen diese Methode gegebenenfalls bei Routineoperationen einsetzen. Anhand dieser Informationen können die ÄrztInnen feststellen, ob der Geweberand Krebszellen enthält. Wenn Krebszellen vorhanden sind, kann eine weitere Resektion erforderlich sein. In einer Studie, in der das Gewebe von 76 Patienten an 753 Gewebemessstellen (165 krebsartig und 588 nicht bösartig) analysiert wurde, konnte MarginProbe mit einer Sensitivität und Spezifität von 70% zwischen gesundem und malignem Brustgewebe unterscheiden [10]. Das MarginProbe-Gerät hat jedoch auch einige Nachteile wie hohe falsch positive Raten und fehlende Ergebnisse in Echtzeit.

Optische Emissionsspektroskopie (OES)

Eine weitere Methode für die Geweberkennung während der elektrochirurgischen Tumorentfernung ist die optische Emissionsspektroskopie (OES, **Abb. 2**). Durch den hohen Energieeintrag, der während eines elektrochirurgischen Schnittes oder einer Koagulation erfolgt und zu einer Lichterscheinung (= Funken) führt, werden Atome der im Gewebe enthaltenen Elemente auf ein höheres Energieniveau als ihr Grundzustand angeregt. Bei dem anschließenden Übergang in den Grundzustand werden dann Photonen bestimmter Wellenlängen emittiert und mithilfe optischer Fasern am distalen Ende des OES-Elektroskalpells eingefangen. Als Analyseeinheit dient ein herkömmliches optisches Emissionsspektrometer, welches im ultravioletten und sichtbaren Wellenlängenbereich empfindlich ist.

In Spether et al. [11] wird ein OES-System beschrieben, das die zuverlässige Gewebeererkennung von renalen Tumoren bei einer Integrationszeit von 30–100 ms ermöglicht. Gesundes Nierengewebe und Tumorgewebe unterscheiden sich voneinander in ihren chemischen und elektrischen Eigenschaften (z. B. Leitfähigkeit), die sich gewebespezifisch auf die erzeugten Plasmafunken auswirken. Dieser Effekt führt zu Veränderungen in den relativen Intensitätsmaxima der Emissionslinien im Spektrum.

Ein für die Echtzeitanalyse entwickelter Algorithmus verwendet die relativen Intensitäten aller Emissionspeaks im Spektrum als charakteristisches Gewebemerkmal (Fingerabdruck), auf dessen Grundlage das Gewebe identifiziert bzw. klassifiziert wird. Der Algorithmus wird zunächst trainiert, indem Spektren aus einer patientenspezifischen Kalibrierung in eine bestehende Datenbank von Spektren aufgenommen werden. Auf diese Weise können die Unterscheidungskriterien (Gewebe-Fingerabdruck) berechnet werden.

Eine besondere Stärke des OES-Ansatzes besteht darin, dass die Identifizierung des Gewebes im Gegensatz zu anderen Methoden ohne die Verwendung von Biomarkern und weiteren Lichtquellen durchgeführt werden kann und Standardgeräte aus der optischen Emissionsspektroskopie und der Elektrochirurgie ausreichen. Die Daten wurden in einer präklinischen Pilotstudie mit renalen Tumoren erhalten und es bedarf weiterer Forschung, damit sie in Tumorarten mit weniger gut abgegrenzten Strukturen bestätigt werden. Insgesamt ist die OES eine vielversprechende Methode für die Gewebeererkennung.

Fazit für die Praxis

- Die hochauflösende Geweberkennung kann Chirurg/-innen und Patholog/-innen bei der intraoperativen Randbewertung von reseziertem Tumorgewebe maßgeblich unterstützen, sodass sie in Echtzeit wichtige Entscheidungen über das weitere operative Vorgehen treffen können.
- Die nächsten Jahre werden entscheiden, welche Technologien zur Gewebeererkennung sich durchsetzen werden. Äußerst wichtig ist dabei die Automatisierung der Geweberkennung und -klassifizierung durch Künstliche Intelligenz (KI).
- Die computergestützte Bildanalyse, die sich klinisch signifikante und biologisch interpretierbare Merkmale zu Nutze macht, hat großes Potenzial, die diagnostische Präzision zu steigern und die Auswertungszeit zu verkürzen. Die komplexe Datenverarbeitung bedarf jedoch Zugang zu großen Mengen befundeter Daten und ist im optimalen Fall cloudbasiert.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Markus D. Enderle
Erbe Elektromedizin GmbH
Waldhörlestr. 17, 72072 Tübingen,
Deutschland
markus.enderle@erbe-med.com

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. M.D. Enderle gibt an, dass er Mitglied der Geschäftsleitung der Erbe Gruppe ist. S. Hermanns, S. Dammeier und A. Neugebauer sind Mitarbeiter der Forschungsabteilung der Firma Erbe Elektromedizin GmbH.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. Lumicell website. <https://lumicell.com/>. Zugegriffen: 18. Aug. 2023
2. Smith BL, Hunt KK, Carr D et al (2023) Intraoperative fluorescence guidance for breast cancer lumpectomy surgery. *NEJM Evid*
3. Vaqas B, Cameron SJ, Alexander JL et al (2019) The iknife: development and clinical applications of rapid evaporative ionization mass spectrometry. In: *The handbook of metabolic phenotyping*. Elsevier, S219–236
4. John StER, Balog J, McKenzie JS et al (2017) Rapid evaporative ionisation mass spectrometry of electrosurgical vapours for the identification of breast pathology: Towards an intelligent knife for breast cancer surgery. *Breast Cancer Res* 19:59
5. Haka AS, Shafer-Peltier KE, Fitzmaurice M et al (2005) Diagnosing breast cancer by using Raman spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:12371–12376
6. Zysk AM, Chen K, Gabrielson E et al (2015) Intraoperative assessment of final margins with a handheld optical imaging probe during breast-conserving surgery May reduce the reoperation rate: results of a multicenter study. *Ann Surg Oncol* 22:3356–3362
7. Groundbreaking OCT imaging for visualizing surgical margins in the OR. <https://perimetermed.com/>. Zugegriffen: 18. Aug. 2023
8. MarginProbe for Lumpectomy. <https://dilon.com/marginprobe/>. Zugegriffen: 18. Aug. 2023
9. Thill M (2013) MarginProbe®: Intraoperative margin assessment during breast conserving surgery by using radiofrequency spectroscopy. *Expert Rev Med Devices* 10:301–315
10. Pappo I, Spector R, Schindel A et al (2010) Diagnostic performance of a novel device for real-time margin assessment in lumpectomy specimens. *J Surg Res* 160:277–281
11. Spether D, Scharpf M, Hennenlotter J et al (2015) Real-time tissue differentiation based on optical emission spectroscopy for guided electrosurgical tumor resection. *Biomed Opt Express* 6:1419–1428

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Methods, applications, and future perspectives of intraoperative tissue identification

Over the last century, there has been a steady development of new technologies for intraoperative tissue identification and differentiation. The applications are varied, with the core purpose being to identify target structures while preserving adjacent tissue and thereby follow a general paradigm of minimally invasive medicine. Particularly in oncology, a further asset of these technologies is the identification or classification of neoplastic tissue to support and improve therapy, for example, in breast cancer surgery. Many technologies under consideration make use of the different physical characteristics of treated tissues, such as induced fluorescence, optical coherence, and electrical impedance.

Recent developments are focusing on moving from ex vivo to in situ and from asynchronous to real-time assistance of the clinicians, for example, by means of optical emission spectroscopy. Refinements of existing and the creation of new methods will include AI tools to make them more powerful while reducing the inter-operator variability in operative interventions. This talk addresses several aspects of the usage and suitability of these technologies for intraoperative, therapy-supporting application.

Keywords

Breast-conserving therapy · Fluorescence · Mass spectrometry · Raman · Optical coherence tomography · Radiofrequency spectroscopy · Optical emission spectroscopy · AI-assisted tissue detection

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S188–S192
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01245-x
Angenommen: 6. Oktober 2023
Online publiziert: 6. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Das Two-in-one-hit-Modell der beschleunigten Genese von kolorektalen Karzinomen beim MLH1-assoziierten Lynch-Syndrom

A. Ahadova^{1,2} · A. Stenzinger^{3,4} · T. Seppälä^{5,6,7,10} · R. Hüneburg^{8,9} · M. Kloor^{1,2} · H. Bläker¹¹

¹ Abteilung für Angewandte Tumorbologie, Pathologisches Institut, Universitätsklinikum Heidelberg, Heidelberg, Deutschland

² Klinische Kooperationseinheit Angewandte Tumorbologie, Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg, Deutschland

³ Pathologisches Institut, Universitätsklinikum Heidelberg, Heidelberg, Deutschland

⁴ Deutsches Konsortium für Translationale Krebsforschung (DKTK) und Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg, Deutschland

⁵ Faculty of Medicine and Health Technology, Tampere University, Tampere, Finnland

⁶ Applied Tumor Genomics Research Program, University of Helsinki, Helsinki, Finnland

⁷ Department of Surgery, Abdominal Center, Helsinki University Hospital, Helsinki, Finnland

⁸ Nationales Zentrum für erbliche Tumorerkrankungen, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Deutschland

⁹ Medizinische Klinik und Poliklinik I, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Deutschland

¹⁰ Tays Cancer Center, Tampere University Hospital, Tampere, Finnland

¹¹ Department für Diagnostik, Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Leipzig AöR, Leipzig, Deutschland

Zusammenfassung

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde eine neue genetische Hypothese aufgestellt, die die Entstehung von *CTNNB1*-Mutationen in Lynch-Syndrom-assoziierten kolorektalen Karzinomen (MLH1-LS-CRC) erklärt. Diese Hypothese besagt, dass eine mitotische Rekombination auf Chromosom 3p gleichzeitig zur Inaktivierung des Mismatch-Reparatur-Gens *MLH1* und zur Aktivierung von *CTNNB1* führt. Dies erklärt die erhöhte Häufigkeit von *CTNNB1*-Mutationen in MLH1-LS-CRC im Vergleich zu anderen Kolonkarzinomen. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurden verschiedene Experimente durchgeführt, die zeigten, dass die erste Phase der Rekombination in nichttumorösen Geweben auftritt, was die Entwicklung von *CTNNB1*-Mutationen begünstigt. Dieser Mechanismus könnte die schnelle Tumorprogression in MLH1-LS-CRC erklären. Die Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung der mitotischen Rekombination bei der Krebsentstehung und bieten einen Einblick in die genetischen Grundlagen von kolorektalen Karzinomen im Kontext des Lynch-Syndroms.

Schlüsselwörter

Adenom · DNA-Mismatch-Reparatur · Genetische Rekombination · Humanes *CTNNB1*-Protein · Tumorsuppressorgene

M. Kloor und H. Bläker teilen sich die Seniorautorenschaft.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

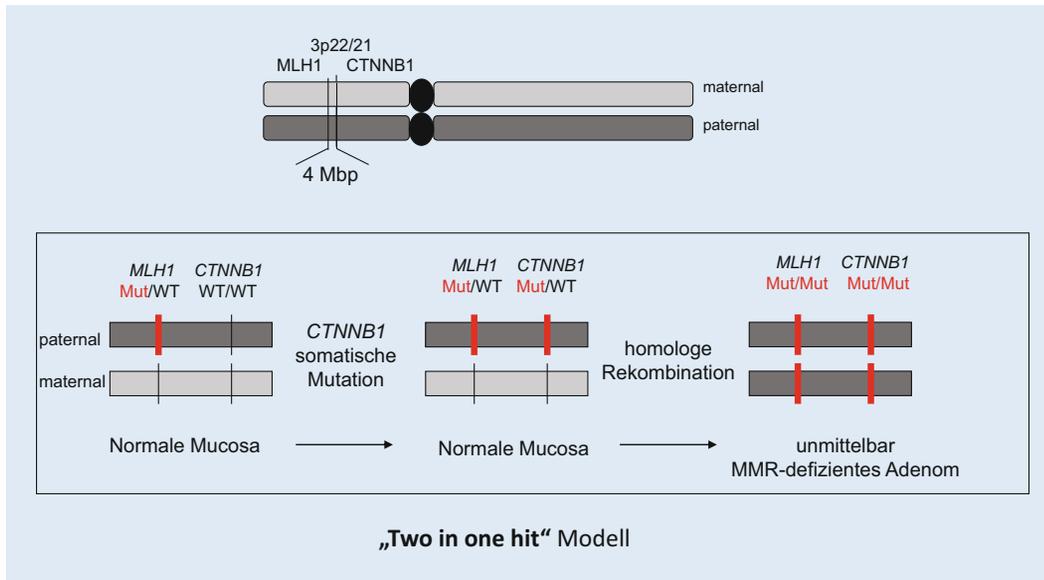


Abb. 1 ▲ Das Two-in-one-hit-Modell als initiale Hypothese: Bei einer Person mit pathogener *MLH1*-Keimbahnvariante liegt in jeder Zelle eine mutierte Kopie von *MLH1* vor (hier beispielhaft auf dem paternalen Chromosom). Diese ist funktionell nicht relevant, da die maternale Kopie dem normalen *MLH1* (WT: *Wildtyp*) entspricht. In einem ersten Schritt gesellt sich zur *MLH1*-Keimbahnmutation eine somatische *CTNNB1*-Mutation. Auch diese ist funktionell noch nicht relevant. Durch eine homologe Rekombination des gesamten Chromosomenbereichs kommt es simultan zu einer Inaktivierung von *MLH1* und einer onkogenen Stabilisierung von β -Catenin.

Hintergrund

In einer vor Kurzem publizierten Studie [1] wurde erstmalig beschrieben, wie 2 funktionell unabhängige und für die Karzinogenese im Kolorektum relevante Mechanismen simultan durch eine genetische Veränderung hervorgerufen werden. Bei den Mechanismen handelt es sich einerseits um die Inaktivierung des DNA-Mismatch-Reparatur(MMR)-Gens *MLH1*, andererseits um die onkogene Stabilisierung von β -Catenin durch homozygote Mutation im β -Catenin-codierenden Gen *CTNNB1*. Bei der genetischen Veränderung, die simultan beide Mechanismen in Kraft setzt, handelt es sich um eine mitotische Rekombination, einen physiologischen Prozess, bei dem es durch ein Crossing-over während der Mitose zu einem qualitativen Verlust von maternaler oder paternaler Erbinformation bei Erhalt des Chromosomensatzes kommt.

Die Studie wurde initiiert, weil sich eine hochsignifikante Häufung von *CTNNB1*-Mutationen in *MLH1*-assoziierten Lynch-Syndromen (*MLH1*-LS) kolorektaler Karzinome (CRC) findet. Circa 50 % aller *MLH1*-LS-CRCs sind *CTNNB1*-mutiert, während sich diese Mutation in allen übrigen CRCs

nur in etwa 5 % nachweisen lässt [2, 4]. Hierfür gibt es nun eine Erklärung.

Voraussetzungen

Um diese Häufung von *CTNNB1*-Mutationen in *MLH1*-assoziierten Lynch-Syndromen kolorektaler Karzinome nachvollziehen zu können, sind 4 Voraussetzungen zu berücksichtigen:

1. Eine heterozygote *CTNNB1*-Mutation ist für die Tumorentstehung im Kolon nicht ausreichend, die Mutationen sind überwiegend homozygot.

Erläuterung: Im Tierversuchsmodell reicht eine heterozygote, stabilisierende *CTNNB1*-Mutation im Dünndarm für die Entwicklung von Adenomen aus, im Kolorektum aber nicht [7]. Als Ursache hierfür wurde eine kompensatorische Überexpression des membranären β -Catenin-Bindungspartners E-Cadherin in Kolon und Rektum identifiziert, die mutiertes β -Catenin an der Membran bindet und damit die onkogene nukleäre Funktion von β -Catenin verhindert. Nur durch einen zweiten, stabilisierenden Mechanismus (homozygote *CTNNB1*-Mutation oder Inaktivierung der E-Cadherin-Expression) entwickelten sich Adenome im Mausmodell. Dieser Mechanismus gilt of-

fensichtlich auch beim Menschen: In einer Vielzahl von *CTNNB1*-mutierten Adenomen [3, 9] und in etwa 75 % der *CTNNB1*-mutierten CRCs ist eine *CTNNB1*-Mutation homozygot [2].

2. Der häufigste Mechanismus, der zu einer homozygoten Mutation führt, ist eine homologe Rekombination.

Erläuterung: Eine homozygote Genmutation entspricht der Dopplung einer pathogenen Mutation, die dann sowohl auf dem das Gen beherbergenden väterlichen als auch auf dem mütterlichen Chromosom vorhanden ist. Bei diesem Kopienzahl- bzw. Chromosomenzahl-neutralen Verlust der Heterozygotie („copy number-neutral loss of heterozygosity“, cnLOH) geht das Wildtypgen verloren. Die häufigste Ursache für eine homozygote Mutation ist eine homologe Rekombination.

3. Die homologe Rekombination ist ebenfalls die häufigste Ursache der Inaktivierung eines Tumorsuppressorgens bei der hereditären Krebsprädisposition. Dies gilt auch für die Inaktivierung von MMR-Genen beim Lynch-Syndrom.

4. *CTNNB1* und *MLH1* sind beide in enger Nachbarschaft auf Chromosom 3p22 lokalisiert.

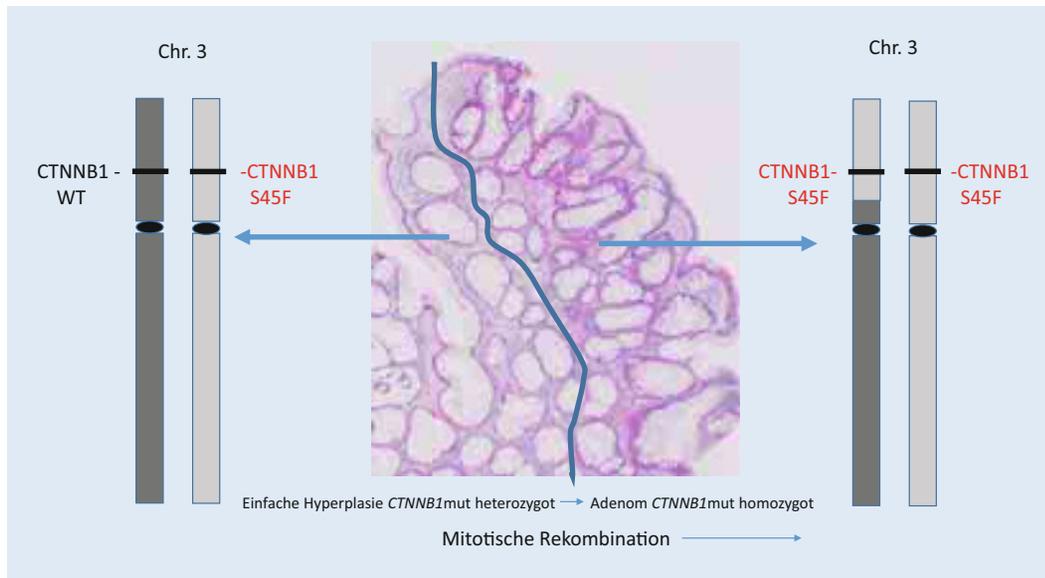


Abb. 2 ◀ Nachweis einer heterozygoten *CTNNB1*-Mutation in nichtadenomatöser Schleimhaut mit Becherzellhyperplasie und Kryptenvergrößerung (linke Bildhälfte). Das aus dieser Schleimhaut entstandene Adenom ist homozygot *CTNNB1*-mutiert und zeigt einen Verlust einer elterlichen Chromosomeninformation, die nicht nur *CTNNB1*, sondern den gesamten terminal angrenzenden Chromosomenarm betrifft.

Genetische Hypothese erklärt Entwicklung von *CTNNB1*-Mutationen bei *MLH1*-LS-CRC

Diese 4 Fakten haben zu der Hypothese geführt, dass es eine genetische Veränderung des Chromosoms 3p gibt, die gleichzeitig zu einer homologen Rekombination einer somatischen *CTNNB1*-Mutation und einer Keimbahn-*MLH1*-Variante führt (Abb. 1). Diese Hypothese erklärt die Häufung von *CTNNB1*-Mutationen beim *MLH1*-LS-CRC, da hier ein Schritt weniger für die Adenom-Karzinom-Sequenz benötigt wird.

Wenn der erste Schritt der Hypothese stimmt, müsste eine heterozygote *CTNNB1*-Mutation in nichttumoröser Schleimhaut nachweisbar sein. Um dies zu testen, wurden kleine, sporadische Adenome ($\leq 0,5$ cm), bei denen eine *CTNNB1*-Mutation häufiger vorkommt als in großen Adenomen und Karzinomen [10], getestet. Bei 2 homozygot *CTNNB1*-mutierten Adenomen war genügend nichtadenomatöse Schleimhaut in den Polypabtragungen vorhanden, um diese auf eine *CTNNB1*-Mutation zu untersuchen. In beiden Fällen ließ sich eine *CTNNB1*-Mutation in heterozygoter Form nachweisen (Abb. 2). Die an das Adenom angrenzende, heterozygot *CTNNB1*-mutierte Schleimhaut war dabei zwar dysplasiefrei, zeigte aber elongierte, rein aus Becherzellen bestehende Krypten mit etwa doppelt so großem Durchmesser,

wie man ihn bei physiologischen Krypten findet.

Die Analyse von „single nucleotide polymorphisms“ (SNPs) zwischen *MLH1* und *CTNNB1* zeigte für das Adenom in Abb. 2 einen kontinuierlichen Verlust einer elterlichen Erbinformation, die damit einen Umfang von zumindest 4 Mio. Basenpaaren (4 Mbp) hatte. In Kenntnis der Ergebnisse bei den *CTNNB1*-mutierten *MLH1*-LS-CRCs sowie in Kenntnis der Beschreibung eines *CTNNB1*-mutierten Adenoms mit Kopienzahl-neutralem Verlust einer elterlichen Erbinformation ist davon auszugehen, dass dieser Verlust bis an das Telomerende des Chromosoms 3p reicht (s. Abb. 2).

Der erste Schritt der Hypothese war somit experimentell belegt, wobei dieser Beleg für sporadische Adenome geführt wurde, bei denen keine pathogene *MLH1*-Variante vorhanden ist und es nicht zu einer Inaktivierung von *MLH1* durch eine homologe Rekombination kommt. Daher wird trotz biallelischer *CTNNB1*-Mutation noch keine maligne Gewebetransformation induziert.

Zur Untersuchung des 2. Schrittes, der simultanen Inaktivierung von *MLH1* und Aktivierung von *CTNNB1* wurden 20 *CTNNB1*-mutierte, *MLH1*-LS-assoziierte CRCs initial mittels SNP-Analyse des chromosomalen Abschnitts zwischen *MLH1* und *CTNNB1* untersucht. In 19 Fällen fand sich ein „loss of heterozygosity“ (LOH) in allen informativen SNP-Marker

in *CTNNB1*, *MLH1* und in der Region zwischen den beiden Genen. Um den durch die SNP-Analyse festgestellten LOH mittels einer umfangreichen Sequenzierungsanalyse zu validieren, wurde an 5 CRCs zusätzlich eine Whole-Exome-Sequenzierung durchgeführt. Diese zeigte, dass der Beginn der homologen Rekombination zwischen 3p14 und 3p21 lag und stets bis an das Ende des Chromosoms 3p reichte. Damit ist das Two-in-one-hit-Modell belegt und die Assoziation von *CTNNB1* mit dem *MLH1*-LS-CRC kann auf einen Selektionsvorteil dieses beschleunigten Karzinogeneseweges zurückgeführt werden.

Die Größe der homologen Rekombination auf Chromosom 3p umfasste durchschnittlich > 50 Mbp und ist damit viel zu groß, um durch eine homologe DNA-Reparatur nach einer Deletion erklärt werden zu können. Der einzig erklärende Mechanismus für eine homologe Rekombination in dieser Größe ist die mitotische Rekombination durch ein Crossing-over während der Mitose (Abb. 3).

Die mitotische Rekombination wurde Ende des letzten Jahrhunderts umfangreich beschrieben [6, 11], der Vorgang ist heutzutage allerdings nur wenigen geläufig. Das Besondere an der mitotischen Rekombination ist, dass sie physiologisch für einen definierten Chromosomenarm bei jeder zehntausendsten Mitose auftritt. Der Mechanismus, bei dem für einen Chromosomenarm die Erbinformation eines El-

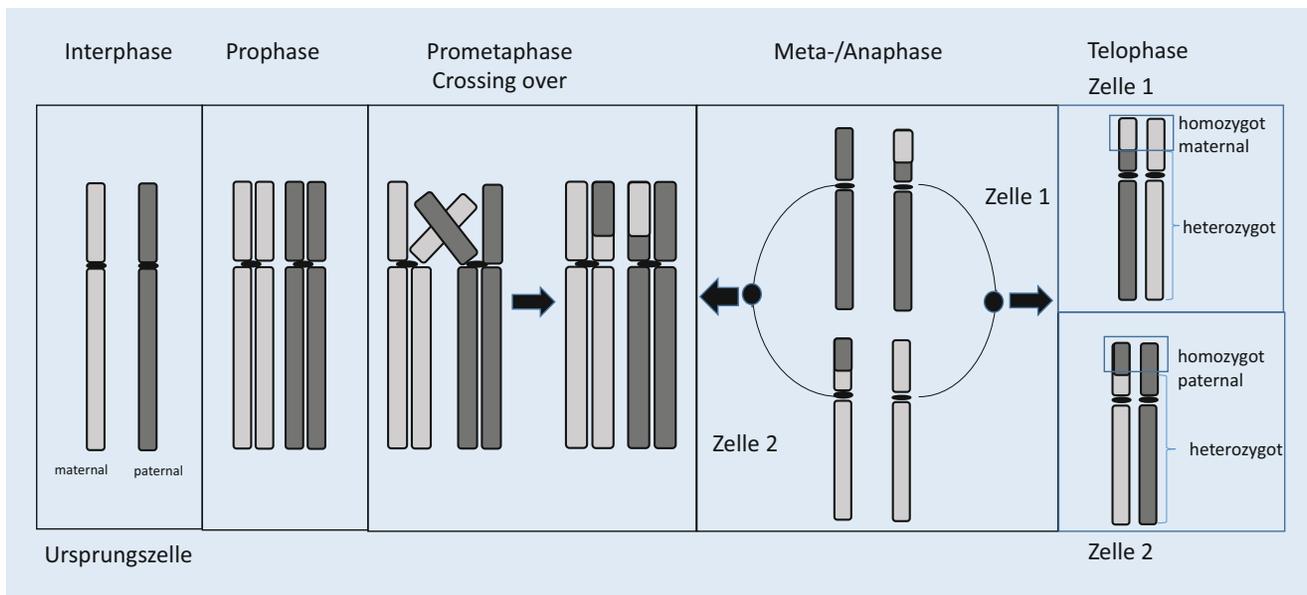


Abb. 3 ▲ Mitotische Rekombination. Durch ein Crossing-over homologer Chromosomenarme während der Mitose kommt es zum Austausch mütterlicher und väterlicher Erbinformation. Dies führt nach der Zellteilung zu 2 genetisch unterschiedlichen Zellen, von denen jede einen Informationsverlust für den betroffenen Chromosomenarm aufweist.

ternteils verlorengelht, während sich die des anderen Elternteils verdoppelt, hat für langlebige Organismen Vorteile. Die mitotische Rekombination erlaubt eine Evolution innerhalb unseres Körpers, bei der minderfunktionelle Geninformationen, z. B. für Stoffwechsellenzyme, bei der Zellteilung ungleich auf die 2 entstehenden Zellen verteilt werden. Zellen mit homozygot guter Genfunktion wird so ein Selektionsvorteil verschafft. Schattenseite der mitotischen Rekombination ist die mit gleicher Regelmäßigkeit auftretende Inaktivierung eines Tumorsuppressorgens bei hereditärer Tumorprädisposition, wie sie für Kolon und Dünndarm beim Lynch-Syndrom in Form der MMR-defizienten Kryptenfoci bei *MLH1*-, *MSH2*- und *MSH6*-LS zu beobachten ist [8].

Das Two-in-one-hit-Modell erklärt nicht nur die Assoziation von *CTNNB1*-Mutation in CRCs bei *MLH1*-LS, sondern auch ein klinisches Phänomen. So haben *MLH1*- und *MSH2*-LS-Anlageträger ein gleich hohes Risiko für die CRC-Entwicklung. Bei *MSH2*-LS finden sich bei Kontrollendoskopien jedoch signifikant mehr Adenome [5]. Es ist davon auszugehen, dass der Two-in-one-hit-Mechanismus bei *MLH1*-LS zu einer raschen malignen Transformation führt und man daher die Tumoren bei Kontrollendoskopien nur selten im Adenomstadium erfasst.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. H. Bläker

Department für Diagnostik, Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Leipzig AöR
Liebigstr. 26, 04103 Leipzig, Deutschland
hendrik.blaeker@medizin.uni-leipzig.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. A. Ahadova, A. Stenzinger, T. Seppälä, R. Hüneburg, M. Kloor und H. Bläker geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

- Ahadova A, Stenzinger A, Seppälä T, Hüneburg R, Kloor M, Bläker H (2023) A "two-in-one hit" model of shortcut carcinogenesis in *MLH1* lynch syndrome carriers. *Gastroenterology* 165(1):267–270.e4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2023.03.007>
- Arnold A, Tronser M, Sers C, Ahadova A, Endris V, Mamlouk S, Horst D, Möbs M, Bischoff P, Kloor M, Bläker H (2020) Correction to: The majority of β -catenin mutations in colorectal cancer is homozygous. *Bmc Cancer* 20(1):1151. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07645-z>
- Berger AW, Raedler K, Langner C, Ludwig L, Dikopoulos N, Becker KF, Slotta-Huspenina J, Quante M, Schwerdel D, Perkhofner L, Kleger A,

- Zizer E, Oswald F, Seufferlein T, Meining A (2018) Genetic biopsy for prediction of surveillance intervals after endoscopic resection of colonic polyps: results of the GENESIS study. *United European Gastroenterol J* 6(2):290–299. <https://doi.org/10.1177/2050640617723810>
- ten Broeke SW, van Bavel TC, Jansen AML, Gómez-García E, Hes FJ, van Hest LP, Letteboer TGW, Olderde-Berends MJW, Ruano D, Spruijt L, Suerink M, Tops CM, van Eijk R, Morreau H, van Wezel T, Nielsen M (2018) Molecular background of colorectal tumors from patients with lynch syndrome associated with Germline variants in *PMS2*. *Gastroenterology* 155(3):844–851. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.05.020>
- Engel C, Ahadova A, Seppälä TT et al (2020) Associations of pathogenic variants in *MLH1*, *MSH2*, and *MSH6* with risk of colorectal Adenomas and tumors and with somatic mutations in patients with lynch syndrome. *Gastroenterology* 158(5):1326–1333. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.12.032>
- Hagstrom SA, Dryja TP (1999) Mitotic recombination map of 13cen-13q14 derived from an investigation of loss of heterozygosity in retinoblastomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 96(6):2952–2957. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.6.2952>
- Huels DJ, Ridgway RA, Radulescu S, Leushacke M, Campbell AD, Biswas S, Leedham S, Serra S, Chetty R, Moreaux G, Parry L, Matthews J, Song F, Hedley A, Kalna G, Ceteci F, Reed KR, Meniel VS, Maguire A, Doyle B, Söderberg O, Barker N, Watson A, Larue L, Clarke AR, Sansom OJ (2015) E-cadherin can limit the transforming properties of activating β -catenin mutations. *Embo J* 34(18):2321–2333. <https://doi.org/10.15252/emboj.201591739>
- Kloor M, Huth C, Voigt AY, Benner A, Schirmacher P, von Knebel Doeberitz M, Bläker H (2012) Prevalence of mismatch repair-deficient crypt foci in Lynch syndrome: a pathological study. *Lancet Oncol* 13(6):598–606. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70109-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70109-2)

9. Nikolaev SI, Sotiriou SK, Pateras IS, Santoni F, Sougioultzis S, Edgren H, Almusa H, Robyr D, Guipponi M, Saarela J, Gorgoulis VG, Antonarakis SE, Halazonetis TD (2012) A single-nucleotide substitution mutator phenotype revealed by exome sequencing of human colon adenomas. *Cancer Res* 72(23):6279–6289. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3869>
10. Samowitz WS, Powers MD, Spirio LN, Nollet F, van Roy F, Slattery ML (1999) Beta-catenin mutations are more frequent in small colorectal adenomas than in larger adenomas and invasive carcinomas. *Cancer Res* 59(7):1442–1444
11. Tischfield JA (1997) Loss of heterozygosity or: how I learned to stop worrying and love mitotic recombination. *Am J Hum Genet* 61(5):995–999. <https://doi.org/10.1086/301617>

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

The two-in-one hit model of the short-cut carcinogenesis of colorectal carcinomas in MLH1-associated Lynch syndrome

In a recently published study a new genetic hypothesis was established that explained the existence of *CTNNB1* mutations in Lynch syndrome-associated colorectal carcinomas (MLH1-LS-CRC). This hypothesis states that a mitotic recombination on chromosome 3p simultaneously leads to inactivation of the mismatch repair gene *MLH1* and to the activation of *CTNNB1*. This explains the increased frequency of *CTNNB1* mutations in MLH1-LS-CRC compared with other colon carcinomas. To test this hypothesis, various experiments were carried out that show that the first phase of recombination occurs in non-cancerous tissues, which favours the development of *CTNNB1* mutations. This mechanism could explain the rapid tumour progression in MLH1-LS-CRC. The results highlight the importance of mitotic recombination in carcinogenesis and provide an insight into the genetic basis of colorectal carcinoma in the context of Lynch syndrome.

Keywords

Adenoma · DNA mismatch repair · Genetic recombination · Human *CTNNB1* protein · Tumor suppressor genes

Interdisziplinäre ultraschallgesteuerte minimal- invasive Autopsie bei COVID-19- Verstorbenen auf der Intensiv- station einer Universitätsklinik

Eine Proof-of-Concept-Studie

T. Lahmer¹ · K. Stock² · S. Rasch¹ · S. Porubsky³ · S. Jeske⁴ · C. Schustetter⁵ · U. Protzer⁴ · U. Heemann² · R. Schmid¹ · W. Weichert⁵ · G. Weirich⁵ · J. Slotta-Huspenina^{5,6}

¹ Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II, Klinikum Rechts der Isar, Technische Universität München, München, Deutschland; ² Abteilung für Nephrologie – Nierenheilkunde, Klinikum Rechts der Isar, Technische Universität München, München, Deutschland; ³ Institut für allgemeine Pathologie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, Deutschland; ⁴ Institut für Virologie, Technische Universität München, München, Deutschland; ⁵ Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, TUM School of Medicine and Health, Technische Universität München, München, Deutschland; ⁶ Pathologie Starnberg MVZ GmbH, Starnberg, Deutschland

Zusammenfassung

In dieser Machbarkeitsstudie führten wir in einem interdisziplinären Team standardisierte ultraschallgesteuerte minimal-invasive Autopsien (US-MIA) unmittelbar am Krankenbett von COVID-19-Verstorbenen auf der Intensivstation des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München (TUM) durch. Die Studie hatte zum Ziel, Machbarkeit, zeitliche Effizienz und infektionshygienische Aspekte des Verfahrens sowie die Qualität der Gewebeproben zu überprüfen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die bettseitige US-MIA geeignet ist, Gewebeproben vor Einsetzen der postmortalen Autolyse zu gewinnen, und dass sie zudem schnell und sicher durchgeführt werden kann. Das bisher wenig beachtete Potenzial der US-MIA verdient besondere Aufmerksamkeit im Kontext der postmortalen Diagnostik, Forschung und Qualitätssicherung. In Zukunft könnten diese Stärken der US-MIA dazu beitragen, die postmortale Diagnostik in die Moderne der pathologischen Tiefenanalytik („Omics“) zu führen.

Schlüsselwörter

Postmortale Biopsie · Gewebesampling · Multidisziplinär · Postmortales Intervall · Nadelbiopsie

Der Autor Herr Prof. Wilko Weichert (†10.7.2023) ist vor der Veröffentlichung dieses Beitrags leider verstorben. Der Artikel ist ihm zum ehrenden Gedenken gewidmet.

Die Studie wurde als Originalarbeit eingereicht unter dem Titel *Postmortem minimally invasive autopsy in critically ill COVID-19 patients at the bedside: a proof-of-concept study at the ICU*.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Obwohl die konventionelle Autopsie nach wie vor als Goldstandard der fachübergreifenden Qualitätssicherung in der klinischen Medizin gilt, beobachten wir seit Jahrzehnten einen rückläufigen Trend bei klinischen Autopsien. Die Gründe dafür sind vielfältig. Aufgrund der Erweiterung des diagnostischen Spektrums durch verbesserte und weit verbreitete bildgebende Verfahren sowie der geringeren Nachfrage von klinischen Ärzten nach Autopsien

hat sich auch der Schwerpunkt der Pathologie im Laufe der Jahrzehnte stark verlagert. Hinzu kommen veränderte gesundheitspolitische und infrastrukturelle Rahmenbedingungen, die eine Anpassung der Obduktionspathologie an die Anforderungen der modernen Medizin erfordern. Die COVID-19-Pandemie hat die Bedeutung der Autopsie für ein besseres Verständnis von Krankheitsprozessen und die Entwicklung von präventiven

und therapeutischen Konzepten unterstrichen und das Interesse verschiedener medizinischer Fachrichtungen an dem Potenzial wissenschaftlicher Erkenntnisse durch Autopsien wiederbelebt. So wurden im Rahmen des interdisziplinären deutschen Obduktionsnetzwerks DEFEAT PANDEMIcs/NATON (BMBF, 01KX2021 und 01KX2121) wichtige Erkenntnisse zur COVID-19-Erkrankung generiert [1] und die Grundlagen für fachübergreifende Konzepte geschaffen.

Autopsie 2.0 oder weiter wie bisher?

An der Technischen Universität München (TUM) haben wir ein Konzept für postmortale Diagnostik und Forschung entwickelt, das die Fachbereiche Pathologie, klinische Bildgebung (Ultraschall, US) und Forschungseinrichtungen wie die Gewebebank des Klinikums Rechts der Isar integriert. Die Gewinnung von Gewebeproben von COVID-19-Verstorbenen erfolgt mittels ultraschallgesteuerter Nadelbiopsien nach standardisierten Verfahrensanweisungen [2]. Solche Verfahren sind in der Literatur als minimal-invasive Autopsie (MIA) oder postmortale minimal-invasive Gewebeprobenentnahme („minimally invasive tissue sampling“, MITS) bekannt. Dabei wird Gewebe ohne Eröffnung der Körperhöhlen in der Regel durch transkutane Nadelbiopsien gewonnen, oft unter Verwendung bildgebender Verfahren wie Ultraschall, Computertomographie oder Magnetresonanztomographie. Obwohl erste Versuche einer nichtinvasiven postmortalen Probenentnahme bereits im 19. Jahrhundert existierten, wurde diesem Ansatz in medizinisch hochentwickelten Ländern bisher wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Veröffentlichte Studien stammen dementsprechend größtenteils aus Ländern mit begrenzten medizinischen Ressourcen [3, 4] und befassten sich hauptsächlich mit Infektionskrankheiten [5–7]. Das diagnostische Potenzial der nicht- oder minimal-invasiven Probenentnahme im Vergleich zur konventionellen Autopsie, insbesondere in Kombination mit bildgebenden Verfahren, wurde wiederholt gezeigt [8, 9].

Eine wichtige Voraussetzung für die Erzeugung valider Untersuchungsergebnis-

se an postmortalen Gewebeproben, insbesondere über die deskriptive Morphologie hinaus, ist der bestmögliche Erhaltungszustand der Gewebe. Das sog. postmortale Intervall (die Zeitspanne zwischen dem Tod und dem Beginn der Gewebekonservierung) und die Art der Konservierung haben einen erheblichen Einfluss auf die Qualität [10, 11]. Es ist daher wünschenswert, die Gewinnung und Konservierung von Gewebeproben so schnell wie möglich nach dem Tod eines Patienten durchzuführen. In den letzten Jahren wurden erfolgreich sogenannte „rapid research autopsies“ (RRA) eingeführt [12]. Die Durchführung erfordert erhebliche personelle und infrastrukturelle Ressourcen und wird daher weiterhin nur in speziellen wissenschaftlichen Kontexten eingesetzt. Auf Grundlage der bei uns erfolgreich etablierten interdisziplinären US-MIA präsentieren wir in diesem Beitrag eine Machbarkeitsstudie, in der wir die US-MIA kurz nach dem Tod von COVID-19-Verstorbenen am Krankbett durchgeführt haben.

Das Ziel der Studie war die Bewertung der organisatorischen Durchführbarkeit, der zeitlichen Effizienz und des infektiöshygienischen Risikos. Hierzu wurden die Zeitpunkte der einzelnen Verfahrensschritte dokumentiert (Tod, Einwilligung, Information des Teams, Beginn der Ultraschalluntersuchung, Beginn und Abschluss der Probenentnahme sowie Probenkonservierung). Nach Abschluss der US-MIA wurden virologische Abstriche von der persönlichen Schutzausrüstung der Beteiligten (Handschuhe, Schürze, Armstulpen) sowie von verschiedenen Oberflächen (Ultraschallsonde, Tastatur, Bildschirm, Ultraschallgefäß, Arbeitsplatte) durchgeführt. Die gemäß Standardprotokoll gewonnenen Multiorganbiopsien wurden hinsichtlich ihrer Qualität (Vitalität und Länge der Biopsie) sowie lichtmikroskopisch erkennbarer pathologischer Veränderungen bewertet. Einschlusskriterien waren eine zu Lebzeiten bestätigte SARS-CoV-2-Infektion und die Zustimmung der nächsten Angehörigen. Nach Eintritt des Todes wurden die Angehörigen der COVID-19-Patienten telefonisch über das Verfahren informiert und um Zustimmung gebeten. Bei positivem Bescheid wurde umgehend das interdisziplinäre Einsatzteam informiert, bestehend aus einem

fachärztlichen Internisten mit besonderer Ultraschallqualifikation (DEGUM III), einem Facharzt für Pathologie und einem technischen Mitarbeiter zur Unterstützung des Probenmanagements. Folgende Geräte und Instrumente wurden verwendet: Siemens Acuson S 3000-Ultraschallsystem (Siemens Medical Solutions, Mountain View, CA, USA), lineare 4-bis-9-MHz- und konvexe 1-bis-4-MHz-Schallköpfe, Nadelführungssystem (Ultra-Pro II; Civco, IA, USA), Einweg-Biopsiegerät (14G, 20 cm Länge, 2,2 cm Hublänge; PlusSpeed®, Pflugbeil, Zorneding, Deutschland). Die Ultraschalluntersuchung und die Punktionen erfolgten bei Rückenlage des Verstorbenen nach standardisierten Protokollen ([13]; **Abb. 1**). Für jedes Organ oder jede Zielregion wurden 3 Proben entnommen und in 4 % gepuffertem Formalin, PAXgene Tissue FIX (Qiagen, Hilden, Deutschland) fixiert oder bei –80 °C kryokonserviert. Die mikroskopische Qualitätskontrolle und diagnostische Bewertung erfolgte an FFPE-Geweben anhand von Hämatoxylin- und Eosin-gefärbten Schnittpräparaten sowie gegebenenfalls weiteren Standardfärbungen (PAS, Elastica van Gieson, Ladewig, Gomori und Chloracetat-Esterase).

Zwischen Dezember 2021 und Januar 2022 verstarben 6 COVID-19-Patienten auf der Intensivstation. Bei 5 von 6 Fällen stimmten die Angehörigen der US-MIA zu. Diese wurden zwischen 129 und 210 min nach dem Tod durchgeführt, im Durchschnitt nach 162 min. Die Ultraschalluntersuchung dauerte durchschnittlich 13 min (5–16 min), die Punktionen und die Gewebegewinnung dauerten im Durchschnitt 54 min (44–75 min). Die Gesamtdauer der US-MIA lag somit im Durchschnitt bei 67 min, das postmortale Intervall betrug durchschnittlich 215 min. Insgesamt wurden 318 Multiorganproben gewonnen und 123 FFPE-Biopsien hinsichtlich ihrer Qualität und Diagnose bewertet. Von den Gewebeproben enthielten 96 % organspezifisches, diagnostisch verwertbares Gewebe. Der Erhaltungszustand der Gewebe war exzellent, mit lichtmikroskopisch und exemplarisch auch elektronenmikroskopisch nachgewiesenen optimal erhaltenen zellulären und subzellulären Strukturen (**Abb. 2**). Die durchschnittliche Biopsielänge betrug 11 mm (4–25 mm). In allen Lungenproben wurden lichtmikroskopisch



Abb. 1 ◀ Postmortale
Unterschalluntersuchung
und ultraschallgesteuerte
Punktion am Krankenbett
auf der Intensivstation

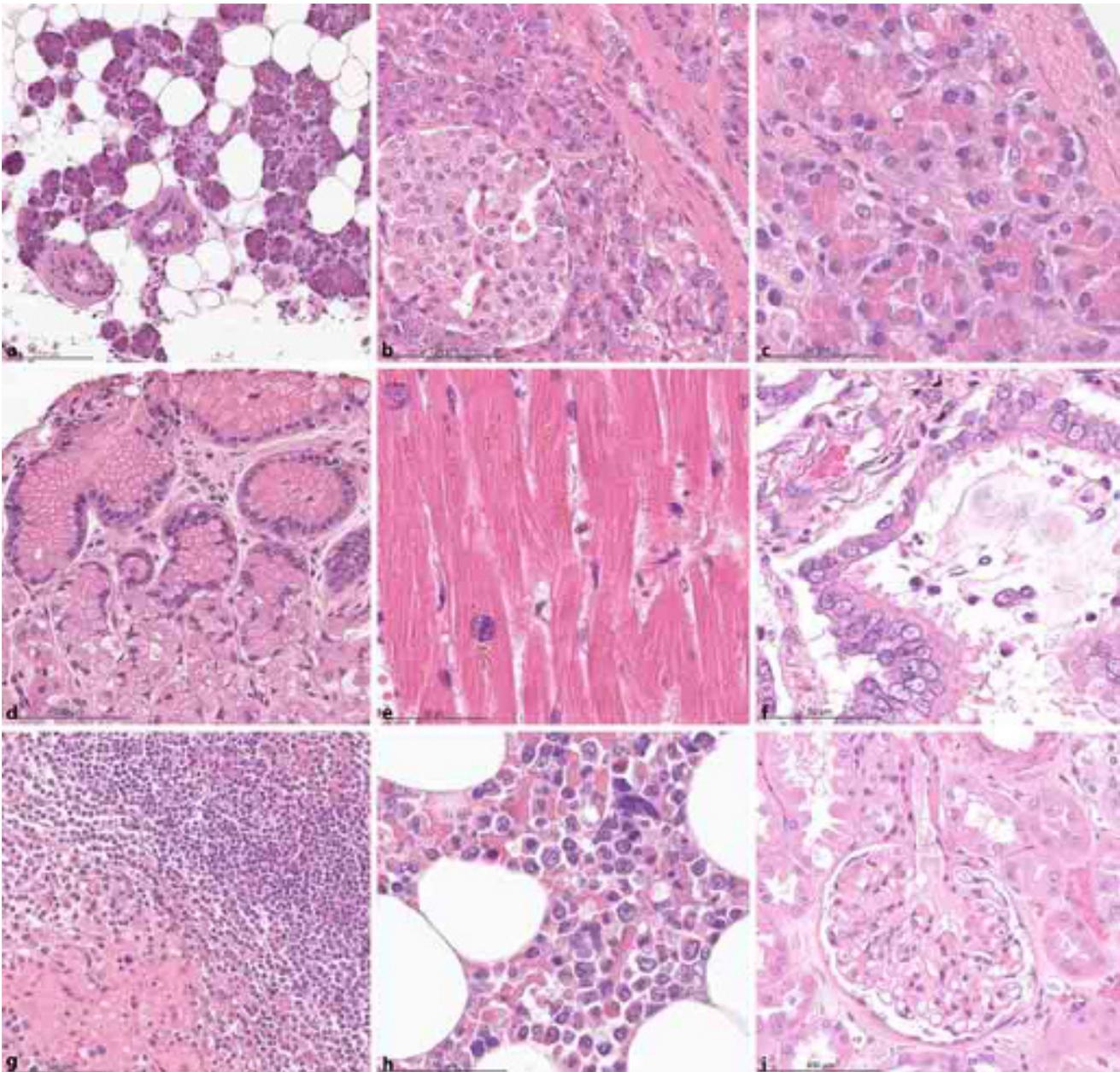


Abb. 2 ▲ Exemplarische Histomorphologie (H&E). **a** Glandula parotis, **b** endokrines Pankreas, **c** exokrines Pankreas, **d** Magen-
schleimhaut, **e** Myokard, **f** Lunge, **g** Milz, **h** Knochenmark, **i** Niere

typische SARS-CoV-2-induzierte Veränderungen in unterschiedlicher Ausprägung beobachtet, darunter ein diffuser Alveolarschaden in verschiedenen Stadien, Metaplasien, Mikrothromben, Endothelitis und in einem Fall eine *Aspergillus*-Superinfektion. Extrapulmonale Befunde umfassten schockbedingte Veränderungen, insbesondere in der Leber und Niere, sowie verschiedene Grunderkrankungen. Die postmortale Ultraschalluntersuchung enthüllte pathologische Befunde an verschiedenen Organen, die vor dem Tod des Patienten nicht bekannt waren, darunter eine Pankreaszyste mit pankreaner intraepithelialer Neoplasie 1a, ein Niereninfarkt bei *Aspergillus*-Sepsis, ein frisches retroperitoneales Hämatom und eine sich organisierende Beinvenenthrombose. In Bezug auf die infektionshygienische Sicherheit des Verfahrens konnten wir erneut bestätigen [14], dass die US-MIA nicht zur Kontamination der Umgebung führt. Bei 54 von 55 auf SARS-CoV-2 getesteten Abstrichen wurde keine virale SARS-CoV-2-RNA nachgewiesen. Lediglich in einem Abstrich (Ultraschallsonde mit unmittelbarem Kontakt zur Nadeleinstichstelle) konnte SARS-CoV-2-RNA nachgewiesen werden (CT/ORF 37).

Die bettseitige US-MIA ist sicher und kann schnell nahezu autolysefreies Gewebe sichern

Angesichts der sinkenden Autopsieraten und der postmortalen Autolyse ist die Entwicklung neuer Konzepte für die postmortale Diagnostik und Forschung bei schweren Erkrankungen dringend erforderlich. Die sog. bettseitige minimal-invasive Autopsie (MIA) oder das „minimally-invasive tissue sampling“ (MITS) bieten vielversprechende interdisziplinäre Ansätze, um den aktuellen Herausforderungen der Obduktionspathologie und den veränderten Qualitätsanforderungen an das Gewebe zu begegnen. Obwohl die klinische Autopsie nach wie vor unverzichtbar ist und weiterhin als Goldstandard der fachübergreifenden Qualitätssicherung in der klinischen Medizin gilt, sollten moderne, fächerübergreifende Konzepte für die postmortale Diagnostik und Forschung verfolgt werden. Möglicherweise kann die Pathologie allein diese Aufgabe aufgrund der Verän-

Interdisciplinary ultrasound-guided, minimally invasive autopsy in COVID-19-deceased patients in the intensive care unit of a university hospital. A proof-of-concept study

In this feasibility study, we carried out in an interdisciplinary team standardised, ultrasound-guided, minimally invasive autopsy (US-MIA) directly at the bedside of patients who died of COVID-19 in the intensive care unit of the Rechts der Isar Hospital of the Technical University Munich (TUM). The aim of the study was to verify the feasibility, time efficiency and infection hygiene aspects of the process, as well as the quality of the tissue samples. Our results show that bedside US-MIA is suitable for obtaining tissue samples before the onset of postmortem autolysis, and that it can also be carried out quickly and safely. The potential of US-MIA, which has gained little recognition so far, deserves special attention in the context of postmortem diagnosis, research and quality assurance. In the future, these strengths of US-MIA could help to lead postmortem diagnosis into the modern age of pathological deep analytics (“omics”).

Keywords

Postmortem-biopsy · Minimally invasive tissue sampling · Multidisciplinary · MIA · MITS

derungen im Fachbereich nicht vollständig bewältigen. Die Interdisziplinarität und hohe Skalierbarkeit des hier vorgestellten Verfahrens bieten Chancen für eine erfolgreiche Modernisierung der Obduktionspathologie.

Fazit für die Praxis

- Die postmortale ultraschallgesteuerte Nadelpunktion am Krankenbett ist zeiteffizient und infektionshygienisch sicher durchführbar und liefert nahezu autolysefreies Gewebe.
- Die ultraschallgesteuerte minimal-invasive Autopsie (US-MIA) könnte zukünftig eine geeignete Ergänzung zur konventionellen klinischen Autopsie darstellen und dazu beitragen, die postmortale Diagnostik in die Moderne der pathologischen Tiefenanalyse (Omics) zu führen.
- Der Erfolg der bettseitigen US-MIA beruht auf einer guten interdisziplinären Zusammenarbeit und der Nutzung vorhandener klinischer Ressourcen.

Korrespondenzadresse

PD Dr. med. J. Slotta-Huspenina
 Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, TUM School of Medicine and Health, Technische Universität München
 Trogerstr. 18, 81675 München, Deutschland
julia.slotta-huspenina@tum.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. T. Lahmer, K. Stock, S. Rasch, S. Porubsky, S. Jeske, C. Schustetter, U. Protzer, U. Heemann, R. Schmid, W. Weichert, G. Weirich und J. Slotta-Huspenina geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Alle beschriebenen Untersuchungen am Menschen oder an menschlichem Gewebe wurden mit Zustimmung der zuständigen Ethikkommission, im Einklang mit nationalem Recht sowie gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975 (in der aktuellen, überarbeiteten Fassung) durchgeführt. Von allen beteiligten Patient/innen liegt eine Einverständniserklärung vor.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Open Access. Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Literatur

1. Jonigk D, Werlein C, Acker T et al (2022) Organ manifestations of COVID-19: what have we learned so far (not only) from autopsies? *Virchows Arch* 481(2):139–159
2. Boor P, Eichhorn P, Hartmann A et al (2021) Praktische Aspekte von COVID-19-Obduktionen [Practical aspects of COVID-19 autopsies]. *Pathologe* 42(2):197–207
3. Paganelli CR, Goco NJ, McClure EM, Banke KK, Blau DM, Breiman RF et al (2020) The evolution of minimally invasive tissue sampling in postmortem examination: a narrative review. *Glob Health* 13:1792682
4. Castillo P, Ussene E, Ismail MR et al (2015) Pathological methods applied to the investigation of causes of death in developing countries: minimally invasive autopsy approach. Cappello F, editor. *PLoS ONE* 10:e132057
5. D'Onofrio V et al (2020) The clinical value of minimal invasive autopsy in COVID-19 patients. *PLoS ONE* 15(11):e242300
6. Bassat Q, Varo R, Hurtado JC et al (2021) Minimally invasive tissue sampling as an alternative to complete diagnostic autopsies in the context of epidemic outbreaks and pandemics: the example of Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Infect Dis* 73(Suppl_5):S472–S479
7. Duarte-Neto AN, Ferraz da Silva LF, Monteiro RAA et al (2021) Ultrasound-guided minimally invasive tissue sampling: a minimally invasive autopsy strategy during the COVID-19 pandemic in Brazil, 2020. *Clin Infect Dis* 73(Suppl_5):S442–S453
8. Blokker BM, Weustink AC, Wagenveld IM, von der Thüsen JH, Pezzato A, Dammers R et al (2018) Conventional autopsy versus minimally invasive autopsy with postmortem MRI, CT, and CT-guided biopsy: comparison of diagnostic performance. *Radiology* 289:658–667
9. Blokker BM, Wagenveld IM, Weustink AC, Oosterhuis JW, Hunink MG (2016) Non-invasive or minimally invasive autopsy compared to conventional autopsy of suspected natural deaths in adults: a systematic review. *Eur Radiol* 26(4):1159–1179
10. Ferreira PG et al (2018) The effects of death and post-mortem cold ischemia on human tissue transcriptomes. *Nat Commun* 9(1):490
11. Stan AD, Ghose S, Gao XM et al (2006) Human postmortem tissue: what quality markers matter? *Brain Res* 1123(1):1–11
12. Pisapia DJ, Salvatore S, Pauli C et al (2017) Next-generation rapid autopsies enable tumor evolution tracking and generation of preclinical models. *JCO Precis Oncol*. <https://doi.org/10.1200/PO.16.00038>
13. Barner A et al (2023) Pulmonary findings in hospitalized COVID-19 patients assessed by lung ultrasonography (LUS)—A prospective registry study. *Ultraschall Med*. <https://doi.org/10.1055/a-2013-8045>
14. Brandner JM, Boor P, Borcharding L et al (2022) Contamination of personal protective equipment during COVID-19 autopsies. *Virchows Arch* 480(3):519–528

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Letale lymphozytäre Myokarditis – eine unterschätzte Diagnose im Säuglings- und Kindesalter?

R. Dettmeyer

Universitätsklinikum Gießen & Marburg, Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen, Deutschland

Zusammenfassung

Die histomorphologische Diagnose einer (post-)viralen lymphozytären Myokarditis basierte in der Vergangenheit auf den sog. Dallas-Kriterien. Deren Wert wird beeinträchtigt durch eine hohe Interobservervariabilität und den sog. Sampling Error. Die immunhistochemische Qualifizierung und Quantifizierung interstitieller intramyokardialer Leukozyten im Myokard führte zur Etablierung von Normwerten, zunächst bei Erwachsenen anhand von Myokardbiopsien. Todesfälle – zumal als Folge einer viralen Myokarditis – sind im Säuglings- und Kindesalter selten („sudden unexpected death in infancy“, SUDI). Im Säuglingsalter werden plötzliche Todesfälle am häufigsten dem „sudden infant death syndrome“ (SIDS) zugeordnet. Bei im Myokard nur fokal nachweisbaren lymphozytären Infiltraten ist vor allem die Zahl der autopsisch entnommenen und untersuchten Proben für die Diagnose zielführend. Die immunhistochemische Qualifizierung und Quantifizierung interstitieller Lymphozyten und Makrophagen erlaubt die Angabe von Normwerten für die Diagnose einer Myokarditis auch im Säuglingsmyokard. In Abhängigkeit vom Verlauf der viralen Infektion des Myokards kann die molekularpathologische Diagnostik zum Nachweis viralen Genoms in autopsisch entnommenen Myokardproben führen. Die stufenweise Ausschöpfung des Spektrums diagnostischer Optionen führt bei mutmaßlichen SIDS-Todesfällen zu einem häufigeren Nachweis (post-)viraler Myokarditiden. Molekularpathologisch sind Enteroviren (Coxsackieviren) und Adenoviren nachweisbar, aber auch das Epstein-Barr-Virus und PVB-19.

Schlüsselwörter

Myokarditis · SIDS · Histologie · Immunhistochemie · Molekularpathologie

Seit Jahrzehnten werden virale Myokarditiden als Erklärung für plötzliche Todesfälle im Säuglings- und Kindesalter („sudden unexpected death in infancy“, SUDI) diskutiert [1, 2]. Bekannt ist die – häufig enterovirale – Neugeborenenmyokarditis [3–5]. Neben dem Phänomen des plötzlichen Säuglingstodes als Tod zwischen dem 8. und 365. Lebensstag („sudden infant death syndrome“, SIDS) wurde beim plötzlichen Welpentod junger Hunde eine Parvovirus-B19-Myokarditis als Todesursache nachgewiesen [6, 7]. Beim SIDS wie bei Myokarditiden sind parallele saisonale Häufungen bzw. Epidemien beschrieben

[8–10]. Zugleich können virale Infektionen im Säuglings- und Kindesalter zu einer Myokarditis und zu einer Insulinitis bzw. Pankreatitis führen – eine Infektion, die als Ursache des juvenilen Diabetes Typ 1 diskutiert wird [11–13]. Virale (Peri-)Myokarditiden können schwerwiegende kardiale Arrhythmien auslösen, was bei Todesfällen zu morphologischen Untersuchungen des kardialen Reizleitungssystems geführt hat [14–18].

Nicht nur, aber insbesondere bezogen auf das SIDS lassen Studien an einer infektiösen Todesursache denken [19–22]. Da die Akuität des Todes sich ebenfalls



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

gut mit einem rhythmogenen Herztod bei viraler Myokarditis vereinbaren lässt, kommt der postmortalen Myokarditidiagnostik bei mutmaßlichen SIDS-Opfern eine besondere Bedeutung zu. Kasuistisch sind Myokarditiden bei plötzlichen Todesfällen im Säuglings- und Kindesalter beschrieben [23, 24]. Dies gilt auch für Fälle, die zunächst dem Phänomen des SIDS zugeordnet wurden [25, 26]. Weniger häufig wurde bisher eine primäre Kardiomyopathie als Todesursache im Säuglings- und Kindesalter, insbesondere bei mutmaßlichen SIDS-Fällen, diagnostiziert [27].

Die Datenlage zur Inzidenz letaler Myokarditiden bei Neugeborenen (1.–7. Lebenstag), Säuglingen (8.–365. Lebenstag), Kleinkindern (1.–6. Lebensjahr) und Kindern (7.–14. Lebensjahr) ist unklar, da derartige Todesfälle nicht gesondert erfasst werden. In der Literatur gibt es neben Kasustiken kleine Fallserien und prospektive Studien mit postautopsisch durchgeführten konventionell-histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen zum Nachweis oder Ausschluss einer letalen lymphozytären (post-)viralen Myokarditis [28, 29]. In einigen Studien konnte zusätzlich molekularpathologisch virales Genom in Myokardproben nachgewiesen werden.

Plötzliche und unerwartete Todesfälle vermeintlich gesunder Neugeborener, Säuglinge, Kleinkinder und Kinder ohne anamnestische Hinweise auf eine Erkrankung werden in Deutschland häufiger in einem Institut für Rechtsmedizin obduziert. Bei Säuglingen und Kindern mit möglicher Myokarditis fehlen nach Abschluss der Obduktion makroskopisch todesursächlich relevante Befunde. Dies führt bei Säuglingen zunächst zu einer Zuordnung des Todesfalles zum sog. SIDS. Eine solche Todesursachenzuordnung ohne eigentliche Todesursache und in der Annahme einer natürlichen Todesart soll allerdings erst dann erfolgen, wenn alle diagnostischen Möglichkeiten zur Klärung der Todesursache ausgeschöpft wurden.

Betroffen vom sog. plötzlichen Säuglingstod sind vor allem Frühgeborene und – auf der Nordhalbkugel – in der kalten Jahreszeit geborene, nicht gestillte, männliche Säuglinge, die nach einer längeren Schlafphase in überwärmter Situation in

Bauchlage leblos gefunden wurden und bei denen ein oder beide Elternteile Raucher sind.

Die Annahme einer möglichen infektiösen Todesursache beim SIDS einschließlich einer Virusinfektion mit (post-)viraler Myokarditis wird indiziell gestützt auf weitere Daten [30]:

- Frühgeborene haben tendenziell ein weniger ausgereiftes Immunsystem und gelten als anfälliger für Infektionen.
- Fälle von plötzlichem Säuglingstod zeigen einen Altersgipfel etwa vom 2. bis 4./5. Lebensmonat, also zu einem Zeitpunkt, wenn der Spiegel erworbener maternaler Antikörper im Organismus sinkt.
- Zeitnahe Bestimmungen der tiefen Rektaltemperatur noch am Leichenfundort ergaben häufig Temperaturen bis 42 °C als Hinweis auf eine febrile Reaktion bzw. Infektion [31].
- Histologische Untersuchungen konnten bei mutmaßlichen SIDS-Fällen unspezifische Hinweise auf eine Infektion zeigen (reaktiv-entzündliche Prozesse im lymphatischen Gewebe – Thymus, Lymphknoten, Milz), insbesondere aber eine lymphozytäre Rhinitis, Tracheobronchitis und/oder Pneumonie, teilweise mit deutlich aktiviertem Bronchus-assoziiertem lymphatischem Gewebe (BALT). Hinzu kommen gelegentlich eine uni- oder bilaterale eitrige Otitis media zum Todeszeitpunkt und/oder eine lymphozytäre Sialoadenitis, vor allem Parotitis, nicht selten mit Nachweis von Zytomegalie-Viren (histologisch, immunhistochemisch, mittels In-situ-Hybridisierung [ISH]).
- Bei mutmaßlichen SIDS-Fällen sind Entzündungsparameter teilweise erhöht, z. B. Interleukin-6.
- Bei subtiler Nachfrage bzw. Anamneseerhebung gaben betroffene Eltern häufiger an, ihr Kind habe vor dem Tode, etwa 2–4 Wochen zuvor, einen Infekt gehabt mit oder ohne Diarrhöen. Zum Todeszeitpunkt sei der Säugling symptomfrei gewesen. Einen solchen Hinweis auf einen früheren Infekt geben auch erwachsene Patienten mit klinisch gesicherter Myokarditis.

Vor dem Hintergrund der genannten Daten können weitere Überlegungen die These einer letalen Myokarditis nicht nur beim plötzlichen Säuglingstod stützen. Eine Myokarditis kann zwanglos die Akuität des Todesintritts während des Schlafes erklären, möglicherweise begünstigt durch eine Bauchlagenposition. So gelten Myokarditiden als Arrhythmietrigger, zeigen im EKG gehäuft T-Negativierungen, können im EKG zu infarktähnlichen Bildern führen, ventrikuläre Tachyarrhythmien induzieren, auch AV-Blockierungen Grad I–III und insbesondere bei Perimyokarditiden kann das kardiale Reizleitungssystem betroffen sein.

Gleichzeitig finden sich bei Fällen von plötzlichem Säuglingstod histologisch kaum Zeichen eines (protrahierten) Schockgeschehens: keine Mikrothromben, keine sog. hyalinen Membranen, keine „Schocknekrosen“ in der Leber, keine oder kaum Megakaryozytenembolie oder Knochenmarkembolie im Lungengewebe, beides wird als Schockäquivalent interpretiert.

Konventionell-histologische Diagnose einer Myokarditis

In der Vergangenheit stützte sich die Diagnose einer Myokarditis anhand konventionell-histologischer Färbungen auf die sog. Dallas-Kriterien [32]. Diese wurden für Myokardbiopsien entwickelt und verlangen neben myokardialen Nekrosen (Myozytolysen) eine lymphozytäre Infiltration und ein begleitendes interstitielles Ödem. Gegebenenfalls sollte eine Rebiopsie zur Verlaufsbeurteilung erfolgen.

Diese Dallas-Kriterien haben frühzeitig Kritik erfahren, einerseits weil die biopsisch entnommene Probe nicht repräsentativ sein muss, sog. Sampling Error [33], und andererseits wird eine erhebliche Interobservervariabilität kritisiert [34].

In der Literatur wurde kritisch angemerkt, dass – je nach Phase der myokardialen viralen Infektion [35] – histologische Befunde minimal sein können. Schließlich wurde argumentiert, auch eine histologisch nekrosefreie Myokarditis könne einen letalen Verlauf nehmen: „SUDI may occur at a very early stage of viral infection, when anatomic lesions are still minimal“

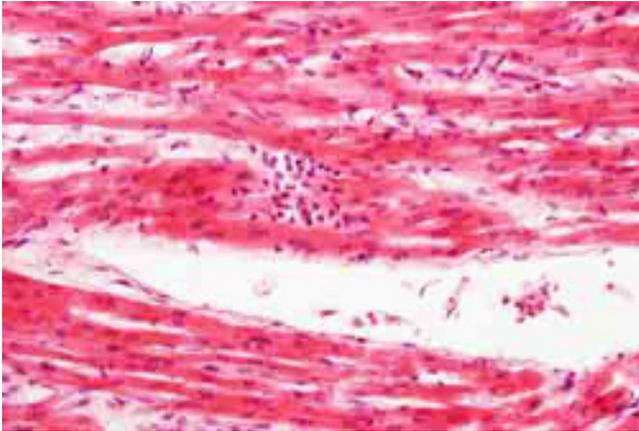


Abb. 1 ▲ Auch ein singuläres fokales lymphozytäres Infiltrat in einer von 4 Myokardproben sollte bei Säuglingen und Kindern Anlass für die Untersuchung weiterer Proben sein. HE-Färbung, Vergr. 200:1. (Aus Dettmeyer [38])

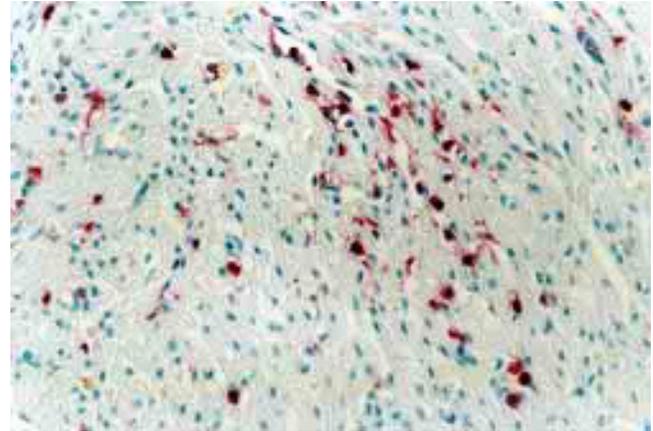


Abb. 2 ▲ Erhöhte Zahl an T-Lymphozyten im basinsnahen Septum interventriculare eines Säuglingsmyokards. Zunächst dem „sudden infant death syndrome“ (SIDS) zugeordneter Todesfall. CD45R0-Immunhistochemie, Vergr. 400:1

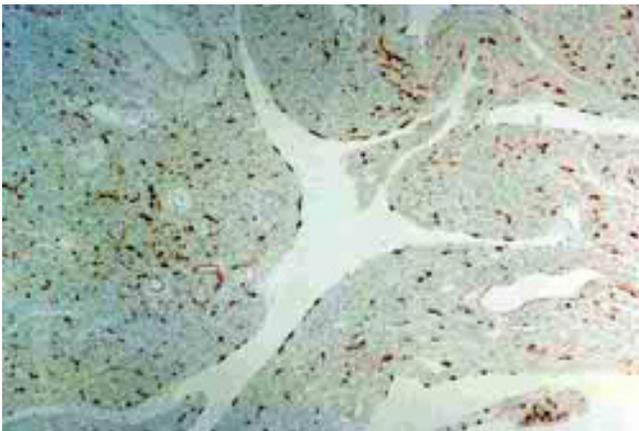


Abb. 3 ◀ Säuglingsmyokard mit immunhistochemisch verstärkter Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen (MHC-DP, DQ, DR) in endothelialen Zellen, dem Endokard und in infiltrierenden Leukozyten. Vergr. 125:1

[36] und „Also a necrosis-free myocarditis can kill“ [37].

Die Bedeutung des sog. Sampling Errors zeigt sich in der Praxis, wenn vom Säuglings- bzw. Kinderherzen eine zu geringe Zahl an Proben der histologischen Diagnostik zugeführt wird. So können eine Reihe von Gewebeschnitten histologisch unauffällig sein, andere Proben vom Myokard können fokale lymphozytäre Infiltrate enthalten. Kasustisch ist dies demonstriert worden mit einem zunächst dem SIDS zugeordneten Todesfall eines Säuglings, in dem in 4 Myokardproben lediglich ein fokales lymphozytäres Infiltrat nachweisbar war (▣ **Abb. 1**), in 8 Proben waren es 3 Infiltratherde. Schließlich fanden sich in 32 Gewebeschnitten 19 lymphomonozytäre Infiltrate im Myokard, was die Diagnose einer lymphozytären Myokarditis sicher erlaubt [38].

Der tatsächliche Anteil letaler Myokarditiden bei ungeklärter Todesursache im Säuglings- und Kindesalter kann nur aufgedeckt werden, wenn die Qualität der Diagnostik verbessert wird. Dabei sind die postautoptische konventionell-histologische Myokarditisdiagnostik, die immunhistochemische Diagnostik und der molekularpathologische Nachweis von viralem Genom (DNA- sowie RNA-Viren) im Myokard zu unterscheiden. Immunhistochemie und Molekularpathologie haben hier Fortschritte gebracht [39–42]. Eine Auswahl publizierter Studien findet sich in **Tab. 1**.

Das wünschenswerte Spektrum postautoptischer Diagnostik, von der konventionellen Histologie über die immunhistochemische Myokarditisdiagnostik bis zum molekularpathologischen Nachweis viralen Genoms im Myokard, kommt nur in Einzelfällen zur Anwendung und erfordert

die Beachtung methodischer Besonderheiten.

Immunhistochemische Diagnose einer Myokarditis

Die immunhistochemische Myokarditisdiagnostik war anhand von Myokardbiopsien von erwachsenen Patienten etabliert worden mit der Festlegung von Normwerten für die Zahl interstitieller Leukozyten, Lymphozyten und Makrophagen im Myokard. Ergänzt werden kann die Diagnostik durch die immunhistochemische Darstellung weiterer proinflammatorischer Marker. Die ermittelten Werte für die zelluläre Infiltration im Myokard lassen sich auf autoptisch entnommene Myokardproben übertragen, zumal im Rahmen einer Autopsie ausreichend Myokardproben für die Diagnostik entnommen werden können.

In Kenntnis der Schwächen der konventionellen Myokarditisdiagnostik (s. Abschn. „Konventionell-histologische Diagnose einer Myokarditis“) führte die immunhistochemische Qualifizierung und Quantifizierung – durchschnittliche Zellzahl pro High Power Field (HPF) bei 20 ausgezählte HPF (x 400) oder Auszählung in 20 mm² – interstitieller intramyokardialer Leukozyten (LCA), T-Lymphozyten (CD3, CD45, CD45R0) und Makrophagen (CD68) zur Etablierung von Normwerten auch für das Säuglingsalter, bei deren Überschreiten die Diagnose einer Myokarditis gestellt werden kann [43–46]. Um

Tab. 1 Studien zur Myokarditis im Säuglings- und Kindesalter (Auswahl)	
Quelle	Angaben zur Häufigkeit einer Myokarditis
Schatz et al. (1997) [25]	7× Myokarditis bei 35 Säuglingstodesfällen
Mounds et al. (2001); 9 Säuglinge mit Zeichen einer Myokarditis vor dem Tode [9]	4 von 9 Fällen mit einer Myokarditis, 2 Fälle mit myokardialer Fibrose
Grangeot-Keros et al. (1996) [36]	33 Kinder, 29 < 1 Jahr; 13 Fälle assoziiert mit einer viralen Infektion, Todesfälle zwischen September und März
Foulis et al. (1990) – 18 Kinder < 1 Jahr mit Zeichen einer Myokarditis vor dem Tode [12]	17 × Myokarditis 7 × Insulinitis
Rambaud et al. (1992) [28]	143 Todesfälle von Säuglingen, 24 × Myokarditis (17 %)
Rasten-Almqvist et al. (2002) [29]	410 mutmaßliche Säuglingstodesfälle, 69 × Myokarditis (aber auch 2 × Myokarditis bei 27 Fällen von gewaltsamem Tod)
Noren et al. (1975) [21]	90 mutmaßliche Säuglingstodesfälle, davon 15 × Myokarditis (17 %)
Dettmeyer et al. (2004) [43]	63 mutmaßliche SIDS-Todesfälle, 17 Kontrollen 7 × Myokarditis, 11 × Verdacht auf Myokarditis; 14 × Enteroviren (4 × CVB3), 2 × Adenoviren, 3 × EBV, 7 × PVB19, 1 × HHSV6
Gaaloul et al. (2016) [45]	35 Säuglingstodesfälle, 17 Kontrollen 3 × Myokarditis + 6 × Perimyokarditis (23 %), in diesen 9 Fällen Nachweis von viralem Genom (CVB3)

Tab. 2 Lokalisationen autoptisch entnommener Myokardproben nach Dettmeyer et al. [39]. Es wird für alle Proben die Aufarbeitung in Serienschnitten empfohlen	
Probe	Lokalisation
Probe A	Rechte Herzkammer, basisnah
Probe B	Rechte Herzkammer, spitzennah
Probe C	Septum interventriculare, basisnah
Probe D	Septum interventriculare, spitzennah
Probe E	Herzkammervorderwand links, basisnah
Probe F	Herzkammervorderwand links, spitzennah
Probe G	Herzkammerhinterwand links, basisnah
Probe H	Herzkammerhinterwand links, spitzennah

eine vorschnelle immunhistochemische (Verdachts-)Diagnose einer Myokarditis zu vermeiden, wurden die Grenzwerte bei Säuglingen höher angesetzt im Vergleich zu angegebenen Werten für Myokardbiopsien von erwachsenen Patienten [43]. Danach kann bei einer durchschnittlichen Zahl von 15 und mehr Leukozyten (LCA) bzw. 10 und mehr T-Lymphozyten (CD45R0, CD3) in 20 HPF bei Säuglingen eine Myokarditis diagnostiziert werden, Werte von 5–10 T-Lymphozyten und/oder mehr als 10 Makrophagen (CD68) begründen den Verdacht auf eine Myokarditis und sollten dazu führen, dass Myokardproben molekularpathologisch auf virales Genom überprüft werden [43].

Die Übertragung dieser immunhistochemischen Diagnostik der Darstellung von u. a. T-Lymphozyten (Abb. 2) zum Nachweis zellulärer Infiltrate kann ergänzt werden durch die Erfassung proinflammatorischer Marker, z. B. MHC-Klasse-I- und MHC-Klasse-II-Moleküle (Abb. 3), Zytokine etc., mit semiquantitativer Beurteilung der Expressionsintensität. Dabei können nichtzelluläre proinflammatorische Marker möglicherweise ubiquitär im Myokard bereits vermehrt exprimiert werden, bevor es zur zellulären Infiltration kommt. Nekrosemarker, wie z. B. C5b9 (m), sind offenbar (noch) nicht oder selten fokal nachweisbar.

Einzelne prospektive Studien konnten zeigen, dass mit einem solchen diagnostischen Vorgehen Fälle von Myokarditiden zuverlässiger erfasst werden [43, 45]. Die prospektiven Studien hatten dafür Voraussetzungen festgelegt: eine ausreichend hohe Zahl an Myokardproben aus definierten Lokalisationen (Tab. 1), Verwendung neutral mit Phosphat gepufferten Formaldehyds, befristete Fixierdauer im Formaldehyd von möglichst 48 h bis maximal 78 h. Soweit möglich sollte auf eine kurze Leichenliegezeit bis zur Obduktion geachtet werden. Retrospektive Studien, die diese methodischen Anforderungen nicht erfüllen, sind im Hinblick auf die Nachweisbarkeit einer Myokarditis kritisch zu bewerten [47, 48].

Molekularpathologischer Nachweis viralen Genoms im Myokard

Bei histomorphologisch bzw. immunhistochemisch gesicherter Myokarditis kann der molekularpathologische Virusnachweis die Diagnose zusätzlich untermauern. Bei den nicht seltenen Fällen eines morphologisch – konventionell-histologisch oder immunhistochemisch – begründeten Myokarditisverdachts kann der Nachweis gerade kardiotroper Viren die Diagnose entscheidend stützen [49]. Bei viralen Myokarditiden im Säuglingsalter dominieren nach den Studien Enteroviren, speziell die bekannt kardiotropen Viren der Gruppe Coxsackie B3, aber auch andere Viren kommen als Erreger in Betracht (Tab. 2). Dabei ist an die Existenz eines coxsackie-adenoviralen Rezeptors (CAR) zu denken, der möglicherweise postnatal herunterreguliert wird [50]. So könnte erklärt werden, dass es nach dem 1. Lebensjahr das Phänomen des SIDS nicht mehr gibt. Zugleich darf auf Erkenntnisse zur Wirkungsweise von Enteroviren im Myokard hingewiesen werden [51–55]. Noch nicht geprüft, aber denkbar ist eine höhere Quote beim molekularpathologischen Virusnachweis mittels (RT-)PCR, wenn statt formaldehydfixiertem Gewebe autoptisch entnommene und sofort tiefgefrorene Myokardproben zur Untersuchung vorliegen. Möglicherweise muss jedoch eine höhere Zahl an Proben

untersucht werden, je nach Viruslast und Stadium der Myokarditis.

Nebenbefunde

Bei der beschriebenen dreistufigen Diagnostik – Histologie, Immunhistochemie, Molekularpathologie – fanden sich in eigenen Untersuchungen einzelne andere Todesursachen, z. B. Kardiomyopathien und ein MCAD-Syndrom. In einem Fall wurde bei einer Coxsackievirus-B3-Myokarditis zugleich eine Insulinitis im Pankreas diagnostiziert [11]. Eine prospektive histologische Aufarbeitung des kardialen Reizleitungssystems in Serienschnitten unter Einbeziehung der Region des Sinusknotens und des AV-Knotens liegt für die Gruppe der Säuglinge bzw. mutmaßlichen SIDS-Opfer bisher offenbar nicht vor. Kasuistisch konnte hier eine lymphozytäre perineurale Infiltration nahe des Sinusknotens in einem Fall von mutmaßlichem plötzlichen Säuglingstod nachgewiesen werden [56]. Auch insoweit muss die Qualität der postmortalen Myokarditisiagnostik – von konventionell-histologisch eindeutigen Fällen abgesehen, die es auch im Kindesalter immer wieder mal gibt – als unzureichend angesehen werden.

Fazit für die Praxis

- Bei der postautoptischen konventionell-histologischen Myokarditisiagnostik ist auf eine ausreichende Zahl an Myokardproben zu achten (Vermeidung des sog. Sampling Errors). Empfohlen werden 8–12 Proben.
- Myokardproben für die Immunhistochemie sollten in neutral mit Phosphat gepuffertem Formaldehyd kurzzeitig (48–72 h) fixiert werden.
- Zum molekularpathologischen Virusnachweis sollten Myokardproben zusätzlich zur kurzzeitigen Fixierung in Formaldehyd tiefgefroren asserviert werden.
- Die immunhistochemische Qualifizierung und Quantifizierung interstitieller Leukozyten im Myokard von Säuglingen und Kindern kann zu der begründeten Verdachtsdiagnose einer Myokarditis führen. In diesen Fällen sollte – wenn dies nicht generell möglich ist – ein molekularpathologischer Virusnachweis im Myokard angestrebt werden.
- Das kardiale Reizleitungssystem sollte gesondert histologisch, immunhistochemisch und molekular-pathologisch (Nach-

weis viralen Genoms) aufgearbeitet werden.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Dr. R. Dettmeyer
Universitätsklinikum Gießen & Marburg, Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Str. 58, 35392 Gießen, Deutschland
reinhard.dettmeyer@forens.med.uni-giessen.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. R. Dettmeyer gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. Yagmur G, Ziyade N, Elgormus N, Das T, Sahin MF, Yildirim M, Ozgun A, Akcay A, Karayel F, Koc S (2016) Postmortem diagnosis of cytomegalovirus and accompanying other infection agents by real-time PCR in cases of sudden unexpected death in infancy (SUDI). *J Forensic Leg Med* 38:18–23
2. Forcada P, Beigelman J, Milei J (1996) Inapparent myocarditis and sudden death in pediatrics. Diagnosis by immunohistochemical staining. *Int J Cardiol* 56:93–97
3. Haddad J, Gut J, Wendling M, Struc D, Jernite M, Obert G, Messer J (1993) Enterovirus infections in neonates. A retrospective study of 21 cases. *Eur J Med* 2:209–214
4. Verboon-Macole MA, Krediet TG, Gerards LJ, de Vries LS, Groenendaal F, van Loon AM (2008) Severe neonatal parechovirus infection and similarity with enterovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 27:241–245
5. Daley AJ, Isaacs D, Dwyer DE, Gilbert GL (1998) A cluster of cases of neonatal coxsackievirus B meningitis and myocarditis. *J Paediatr Child Health* 34:196–198
6. Hayes MA, Russell RG, Babiuk LA (1979) Sudden death in young dogs with myocarditis caused by parvovirus. *J Am Vet Med Assoc* 174:1197–1203
7. Lenghaus C, Studdert MJ, Finnie JW (1980) Acute and chronic canine parvovirus myocarditis following intrauterine inoculation. *Vet J* 56:465–468
8. Douglas AS, Helm PJ, Jolliffe IT (1998a) Seasonality of sudden infant death syndrome in mainland Britain and Ireland 1985–95. *Arch Dis Child* 79:269–270
9. Mounts AW, Amr S, Jamshidi R, Graves C, Dwyer D, Guarnier J, Dawson JE, Oberstse MS, Parashar U, Spevak P, Alexander J (2001) A cluster of fulminant myocarditis cases in children, Baltimore, Maryland, 1997. *Pediatr Cardiol* 22:34–39
10. Philipps CA, Aronson MD, Tomkow J, Philipps ME (1980) Enteroviruses in Vermont 1969–1978: an important cause of illness throughout the year. *J Infect Dis* 141:162–164
11. Dettmeyer R, Padosch SA, Madea B (2006) Lethal enterovirus-induced myocarditis and pancreatitis in a 4-month-old boy. *Forensic Sci Int* 156:51–54
12. Foulis AK, Farquharson MA, Cameron SO, McGill M, Schonke H, Kandolf R (1990) A search for the presence of the enteroviral capsid protein VP1 in pancreases of patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes and pancreases and hearts of infants who died of coxsackieviral myocarditis. *Diabetologia* 33:290–298
13. Roivainen M, Rasilainen S, Ylipaasto P, Nissinen R, Ustinov J, Bouwens L, Eizirik D, Hovi T, Otonkoski T (1995) Mechanisms of coxsackievirus-induced damage to human pancreatic cells. *J Clin Endocrinol Metab* 85:432–440
14. Heusch A, Kühl U, Rammos S, Krogmann ON, Schultheiss HP, Bourgeois M (1996) Complete AV-block in two children with immunohistological proven myocarditis. *Eur J Pediatr* 155:633–636
15. Klein RM, Vester EG, Perings C, Strauer BE (1995) Arrhythmien bei Myokarditis. *Internist* 36:458–468
16. Valdes-Dapena M, Greene M, Basavanand N, Catherman R, Truex RC (1973) The myocardial conduction system in sudden death in infancy. *N Engl J Med* 289:1179–1180
17. Jankus A (1976) The cardiac conduction system in sudden infant death syndrome: a report of three cases. *Pathology* 8:275–280
18. Suarez-Mier MP, Aguilera B (1998) Histopathology of the conduction system in sudden infant death. *Forensic Sci Int* 93:143–154
19. Shimizu H, Rambaud C, Cheron G, Rouzioux C, Anuradha R, Stanway G et al (1995) Molecular identification of viruses in sudden infant death associated with myocarditis and pericarditis. *Pediatr Infect Dis J* 14:584–588
20. Towbin J, Ni J, Demmler G, Martin A, Kearney D, Bricker JT (1993) Evidence for adenovirus as common cause of myocarditis in children using polymerase chain reaction (PCR). *Pediatr Res* 33:27A
21. Noren GR, Stanley NA, Bandt CM, Kaplan EL (1975) Occurrence of myocarditis in sudden death in children. *J Forensic Sci* 22:188–196
22. Vege A, Rognum TO, Scott H, Aasen AO, Saugstad OD (1995) SIDS cases have increased levels of interleukin-6 in cerebrospinal fluid. *Acta Paediatr* 84:193–196
23. deSa DJ (1986) Isolated myocarditis as a cause of sudden death in the first year of life. *Forensic Sci Int* 30:113–117
24. Astrup BS, Johnsen IBG, Engsbro AL (2016) The role of coxsackievirus A16 in a case of sudden unexplained death in an infant – a SUDI case. *Forensic Sci Int* 259:e9–e13
25. Shatz A, Hiss J, Arensburg B (1997) Myocarditis misdiagnosed as sudden infant death syndrome (SIDS). *Med Sci Law* 37:16–18
26. Dettmeyer R, Baasner A, Schlamann M, Haag C, Madea B (2002) Coxsackie B3 myocarditis in 4 cases of suspected sudden infant death syndrome: diagnosis by immunohistochemical and molecular-pathologic investigations. *Pathol Res Pract* 198:689–696
27. Dettmeyer RB, Kandolf R (2010) Cardiomyopathies – misdiagnosed as sudden infant death syndrome (SIDS). *Forensic Sci Int* 194:e21–e24
28. Rambaud C, Cieuta C, Canioni D, Rouzioux C, Lavaud J, Hubert P, Brousse N, Rudle M, Chéron G (1992) Cot death and myocarditis. *Cardiol Young* 2:266–271

29. Rasten-Almqvist P, Eksborg S, Rajs J (2002) Myocarditis and sudden infant death syndrome. *Apmis* 110:469–480
30. Dettmeyer R (2004) Plötzlicher Kindstod (Sudden Infant Death Syndrome; SIDS). Neue Aspekte zur Bedeutung der virusbedingten Herzmuskelerkrankung. Shaker-Verlag, Aachen
31. Pfeifer K (1980) Bedeutung der Rektaltemperaturmessung und der Umgebungsuntersuchungen beim plötzlichen Kindstod. *Dtsch Med Wschr* 105:1065
32. Aretz HT, Billingham ME, Edwards W, Factor SM, Fallon JT, Fenoglio JJ, Olsen E, Schoen FJ (1987) Myocarditis: a histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol* 1:5–14
33. Hauck AJ, Kearney DI, Edwards W (1989) Evaluation of postmortem endomyocardial biopsy specimens from 38 patients with lymphocytic myocarditis: Implications for the role of sampling error. *Mayo Clin Proc* 64:1235–1245
34. Shanes JG, Ghali J, Billingham ME, Ferrans VJ, Fenoglio JJ, Edwards WD, Tsai CC, Saffitz JE, Isner J, Furner S (1987) Interobserver variability in the pathologic interpretation of endomyocardial biopsy results. *Circulation* 75:401–405
35. Feldmann AM, McNamara D (2000) Myocarditis. *N Engl J Med* 343:1388–1398
36. Grangeot-Keros L, Broyer M, Briand E, Gut JP, Turkoglü S, Chretien P, Emilie D, Dussainx E, Lazizi Y, Dehan M (1996) Enterovirus in sudden unexpected death in infants. *Pediatr Infect Dis J* 15:123–128
37. Casali MB, Lazzaro A, Gentile G, Blandino A, Ronchi E, Zoja R (2012) Forensic grading of myocarditis: an experimental contribution to the distinction between lethal myocarditis and incidental myocarditis. *Forensic Sci Int* 223:78–86
38. Dettmeyer R (2016) Postmortem diagnostics of a (post-)viral myocarditis in putative sudden infant death syndrome. Case report for avoidance of errors in the diagnostics. *Rechtsmedizin* 26:514–519
39. Dettmeyer R, Schlamann M, Madea B (1999) Immunohistochemical techniques improve the diagnosis of myocarditis in cases of suspected sudden infant death syndrome (SIDS). *Forensic Sci Int* 105:83–94
40. Baasner A, Dettmeyer R, Graebe M, Rissland J, Madea B (2003) PCR-based diagnosis of enterovirus and parvovirus B19 in paraffin-embedded heart tissue of children with suspected sudden infant death syndrome. *Lab Invest* 83:1451–1452
41. Dettmeyer R, Padosch SA, Baasner A, Madea B (2004) PCR-based diagnosis of adenovirus and Epstein-Barr virus in paraffin-embedded heart tissue. *Int Congr Ser* 1261:605–607 (Doutremépuich C, Morling N (eds.) *Progress in forensic genetics 10. Proceedings of the 20th international ISFG congress, Arcachon, 9–13 September 2003*)
42. Dettmeyer R, Müller J, Poster S, Madea B (2006) PCR-based diagnosis of cytomegalovirus in paraffin-embedded heart tissues in cases of suspected sudden infant death syndrome (SIDS). *Int Congr Ser* 1288:771–773 (*Progress in forensic genetics 11. Proceedings of the 21st international ISFG congress, Ponta Delgada, 2006.*)
43. Dettmeyer R, Baasner A, Schlamann M, Padosch SA, Haag C, Kandolf R, Madea B (2004) Role of virus-induced myocardial affections in sudden infant death syndrome (SIDS): a prospective postmortem study. *Pediatr Res* 55:947–952
44. Dettmeyer R, Baasner A, Haag C, Bruch S, Schlamann M (2009) Immunohistochemical and molecular-pathological diagnosis of myocarditis in cases of suspected sudden infant death

Lethal lymphocytic myocarditis—an underestimated diagnosis in infancy and childhood?

In the past, histological diagnosis of (post-)viral myocarditis was based on the so-called Dallas criteria, which have been criticized because of high interobserver variability and sampling error. Immunohistochemical qualification and quantification of interstitial intramyocardial leucocytes was established and standard values concerning adults were published. Fatal casualties due to a viral myocarditis are rare as far as babies and children are concerned (sudden unexpected death in infancy; SUDI). Cases of sudden unexpected death in the first year of life are frequently regarded as sudden infant death syndrome (SIDS). To diagnose myocarditis when there are only single focal lymphocytic infiltrates in the myocardium, the number of samples taken by autopsy is relevant. But even in babies, immunohistochemical qualification and quantification of interstitial lymphocytes and macrophages can lead to standard values allowing diagnosis of myocarditis. Depending on the course of a viral infection, molecular pathological detection of viral genome in the myocardium is possible to support the diagnosis. Using the mentioned methods gradually, there are more cases of suspected SIDS, which are in fact cases of virus-induced myocarditis as cause of death. Primary enteroviruses (coxsackie viruses) and adenoviruses were found but also Epstein-Barr virus and PVB-19.

Keywords

Myocarditis · SIDS · Histology · Immunohistochemistry · Molecular pathology

- syndrome (SIDS) – a multicenter study. *Leg Med* 11:S124–S127
45. Gaaloul I, Riabi S, Evans M, Hunter T, Huber S, Aouni M (2016) Postmortem diagnosis of infectious heart diseases: a mystifying cause of sudden infant death. *Forensic Sci Int* 262:166–172
 46. Gaaloul I, Riabi S, Evans M, Hunter T, Huber S, Aouni M (2016) Coxsackievirus B heart infections and their putative contribution to sudden unexpected death: an 8-year review of patients and victims in the coastal region of Tunisia. *Forensic Sci Int* 268:73–80
 47. Krous HF, Ferandos C, Masoumi H, Arnold J, Haas EA, Stanley C, Crossfeld PD (2009) Myocardial inflammation, cellular death, and viral detection in sudden infant death, caused by SIDS, suffocation, or myocarditis. *Pediatr Res* 66:17–21
 48. Dettmeyer R, Bruch S, Haag C (2009b) Letter to the editor. *Pediatr Res* 66:714
 49. Pauschinger M, Kühl U, Dörner A, Schieferecke K, Petschauer S, Rauch U, Schwimmbeck PL, Kandolf R, Schultheiss HP (1998) Nachweis enteroviraler RNA in endomyokardialen Biopsien bei inflammatorischer Kardiomyopathie und idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie. *Z Kardiologie* 87:443–452
 50. Bergelson JM, Cunningham JA, Droguett G, Kurt-Jones EA, Krithivas A, Hong JS, Horwitz MS, Crowell RL, Finberg RW (1997) Isolation of a common receptor for coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science* 275:1320–1323
 51. Badorff C, Lee GH, Lamphear BJ, Martone ME, Campbell KP, Rhoads RE, Knowlton KU (1999) Enteroviral protease 2A cleaves dystrophin: evidence of cytoskeletal disruption in an acquired cardiomyopathy. *Nat Med* 5:320–326
 52. Badorff C, Berkely N, Mehrotra S, Talhouk JW, Rhoads RE, Knowlton KU (2000a) Enteroviral protease 2A directly cleaves dystrophin and is inhibited by a dystrophin-based substrate analogue. *J Biol Chem* 275:1191–1197
 53. Badorff C, Lee GH, Knowlton KU (2000) Enteroviral cardiomyopathy: bad news for the dystrophin-glycoprotein-complex. *Herz* 25:227–232
 54. Klingel K, Rieger P, Selinka HC, Zell R, Kandolf R (1994) Nachweis virusinduzierter zytopathogener Effekte bei der enteroviralen Myokarditis durch elektronenmikroskopische in situ Hybridisierung. *Verh Dtsch Ges Pathol* 78:469
 55. Klingel K, Kandolf R (2008) Virale Myokarditis im Kindesalter. Stellenwert der modernen kardiopathologischen Diagnostik. *Rechtsmedizin* 18:349–358
 56. Dettmeyer R, Baasner A, Haag C, Schlamann M, Gaaloul I et al (2016) Postmortem diagnosis of infectious heart diseases: a mystifying cause of sudden infant death. *Forensic Sci Int* 267:e18

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Testicular cancer: new developments, molecular pathology, and current research keynote

Antonio Lopez-Beltran

Department of Morphological Sciences, Cordoba University Medical School, Cordoba, Spain

Abstract

Germ cell tumors (GCTs) are now considered a curable cancer, with a > 95% cure rate in all patients and about 90% cure rate in patients with metastatic disease. The success of physicians in curing the disease is underpinned by multidisciplinary advances. Of relevance in this regard are the nowadays-applied homogeneous terminology based on pathologically better characterized testicular neoplasms and the development of a widely used risk stratification model for metastatic disease introduced by the International Germ Cell Cancer Collaborative Group in 1997 and updated in 2021. Non-pulmonary visceral metastases, high levels of the serum tumor markers alpha-fetoprotein (AFP) and human chorionic gonadotropin (HCG), and primary mediastinal non-seminoma are currently identified as determinants of poor prognosis. In addition, the presence of distinct microRNA profiles between seminomas and non-seminoma GCTs has opened up important perspectives in terms of noninvasive biomarkers that can be used in diagnosis and treatment monitoring.

Keywords

Testis cancer · Pathology · Classification · Molecular features

Introduction

Testicular cancer is a curable cancer. Germ cell tumors (GCTs) are now considered a curable cancer with > 95% cure rate in all patients and about 90% cure rate in patients with metastatic disease [1]. The success of physicians in curing the disease is underpinned by multidisciplinary advances. Cisplatin-based combination chemotherapy and the refinement of post-chemotherapy surgical procedures and diagnostic strategies have greatly improved long-term survival in most patients [1].

Testicular cancer is the most common malignant tumor in young men, with rising incidence worldwide [2–4]. Data reported in 2020 showed that the highest incidence was estimated in Scandinavian countries, Western and Central Europe (7–11 cases per 100,000), US and Canada (5–6 cases per 100,000), and Australia and Japan (7 and

4 cases per 100,000, respectively). The incidence has doubled in some countries of Northern Europe over the past two decades. European countries are expected to experience rising burdens of incidence between 2010 and 2035 [2–4]. However, the incidence is expected to attenuate in high-incidence countries such as Denmark, Norway, Switzerland, and Austria, and decline in Italy and Spain, while the largest increase is expected in Baltic and Eastern European countries. The reasons for the change in the ethnical and geographical landscape of GCTs in the US and Europe are currently unknown [2–4].

Molecular pathogenesis

The trigger point in the pathogenesis of GCTs is centered within primordial germ cells, which are responsible for carrying heritable genetic information. Primordial



Scan QR code & read article online

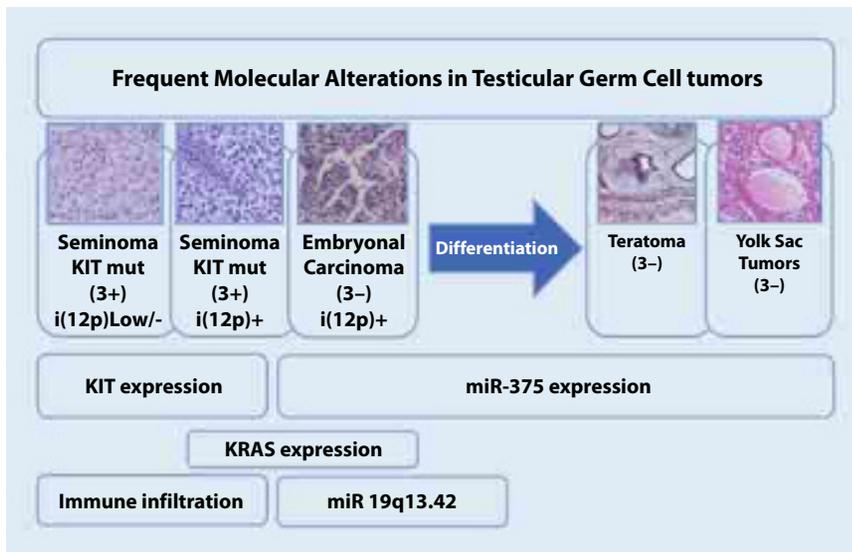


Fig. 1 ▲ Molecular features of common histotypes of germ cell tumors of the testis

germ cells undergo a malignant transformation in utero that leads to formation of germ cell neoplasia in situ, a lesion considered the precursor of GCTs [5, 6].

While the exact tumorigenic trigger leading to the developmental switch is unknown, several characteristics in the molecular landscape of this event have been described; among them, polyploidization and aneuploidization are considered the early key events for malignant transformation of primordial germ cells. Polyploidy and aneuploidy with X chromosomal gains are pathognomonic for GCTs, along with anomalies of the short arm of chromosome 12. Isochromosome 12p, which is a gain of the short arm of chromosome 12, has been historically recognized as a genetic hallmark found in most, but not all, GCTs. However, a single driver alteration does not seem to be responsible for the leading carcinogenic event. Besides, driver mutations were discovered in the *KIT*, *KRAS*, and *CDC27* genes in small cohorts of patients mostly with seminoma. However, the evidence to support their role in all GCTs remains elusive ([5, 6]; ■ Fig. 1).

Germ cell neoplasia in situ consists of cells resembling primordial germ cells arrested before their first step of maturation into gonocytes. As such, these cells maintain totipotent properties allowing progression into seminoma or embryonal carcinoma. They characteristically express embryonic stem cell markers such as *KIT*,

PLAP1, *OCT4*, *NANOG*, *SOX17*, *LIN28*, and several embryonic mRNAs and miRNAs, but the drivers behind progression towards seminoma or embryonal carcinoma are as yet unknown. Nonetheless, when germ cell neoplasia in situ expresses mostly *SOX17* or *SOX2*, the anticipated emerging tumor will be a seminoma or embryonal carcinoma, respectively. Primordial germ cells undergo deletion of genomic imprinting in their physiological stage, which is later re-established as a paternal imprint in premeiotic germ cells [5].

This epigenetic reprogramming serves for gain of totipotent properties in primordial germ cells. Upon polyploidization at this stage, further maturation is blocked, and the cells undergo a transformation into germ cell neoplasia in situ. Here, gain of 12p frequently occurs during the progression into GCT. Development of overt cancer from germ cell neoplasia in situ is associated with several possible differentiation pathways. Substantial epigenetic changes accompany this transition and emerging histological subtypes of GCTs express distinct epigenetic signatures. The molecular landscape of seminomas is significantly different from non-seminomas in terms of DNA methylation, mRNA, miRNA, and proteomic profiling. Seminomas manifest a completely unmethylated global DNA methylation pattern. Non-seminomas show a diverse methylation profile depending on the level of differentiation [5, 6].

Novelties from the 2022 World Health Organization (WHO) classification of urinary and male genital tumors

The subdivision of germ cell tumors into the vast majority derived from germ cell neoplasia in situ and those unrelated has been retained by the 2022 WHO revision [7, 8]. Gonadoblastoma has now been added to the noninvasive lesions derived from germ cell neoplasia in situ, and is composed of neoplastic germ cells set in a matrix of immature sex cord cells [7, 8].

Although the term "seminoma" remains unchanged, it is recognized that in the testis and in any other organ, the terms dysgerminoma, seminoma, and germinoma are used for the same tumor with a similar appearance everywhere in the body. To this end, seminoma was placed in the "germinoma" family of tumors in the 2022 WHO revision, but greater unification of terminology would appear desirable in the future [7, 8]. Other nomenclature changes include replacement of the term "primitive neuroectodermal tumor" by "embryonic neuroectodermal tumor" to assist in separating these tumors clearly from Ewing sarcoma [7–9].

A teratoma with somatic-type malignancy is a teratoma that develops a distinct secondary component that resembles a somatic-type malignant neoplasm. Criteria for the diagnosis of "teratoma with somatic transformation" have been modified and it is now recommended to make all measurements in millimeters to gain accuracy and reproducibility. The size criterion has been changed to a 5-mm diameter in the 2022 WHO revision. It is also recommended to avoid the term "teratoma with a secondary malignant component" or "teratoma with malignant transformation," since it may lead to a misconception that testicular teratomas lacking any somatic-type malignancy are benign [7, 8]. Most examples of neuroendocrine tumors (formerly referred to as carcinoid) in the testis are now classified as "prepubertal-type testicular neuroendocrine tumor" [10].

Table 1 Risk stratification of metastatic non-seminoma per the IGCCCG volume 2 guidelines [11, 12]

Disease risk	Disease extent	Prognostic factor (independent)	5-year PFS/OS (%)
Good	Regional and/or distant lymph nodes and/or pulmonary metastases	LDH > 2.5 × ULN (in the absence of NPVM), lung metastases, 10-year age increase	90/96
Intermediate	Regional and/or distant lymph nodes and/or pulmonary metastases and AFP 1000–10,000 ng/mL and/or HCG 5000–50,000 mIU/mL	Tumor markers, lung metastases, 10-year age increase	78/89
Poor	NPVM and/or AFP > 10,000 ng/mL and/or HCG > 50,000 mIU/mL	NPVM, tumor markers, mediastinal primary, 10-year age increase, lung metastases	54/67

AFP alpha-fetoprotein, *HCG* human chorionic gonadotropin, *IGCCCG* International Germ Cell Cancer Collaborative Group, *LDH* lactate dehydrogenase, *NPVM* non-pulmonary visceral metastases, *OS* overall survival, *PFS* progression free survival, *ULN* upper limit of normal

Prognostic and diagnostic biomarkers in the clinic

Our ability to predict prognosis in GCTs has undergone substantial advancements in the past decades. A widely accepted risk stratification model for metastatic disease was introduced by a seminal study of the International Germ Cell Cancer Collaborative Group (IGCCCG) in 1997 and updated in 2021 [11, 12]. Non-pulmonary visceral metastases, high levels of serum tumor markers alpha-fetoprotein (AFP) and human chorionic gonadotropin (HCG), and primary mediastinal non-seminoma were identified as determinants of poor prognosis. Based on these criteria, patients were stratified into good, intermediate, and poor risk categories, with a 5-year overall survival in non-seminoma of 96% in the good risk group, 89% in the intermediate risk group, and 67% in the poor risk group. Moreover, the 5-year overall survival in seminoma showed 95% in good-risk disease and 88% in intermediate-risk disease. Lactate dehydrogenase more than 2.5 times the upper limit of normal was an independent adverse prognostic factor in good-risk disease. Further refinements were published introducing unfavorable (slower) marker decline after the first cycle of chemotherapy as a way of identifying patients with a 23% higher risk of death within the next 2 years. Unfavorable marker decline also proved to be prognostic in relapsed patients undergoing salvage chemotherapy. The positive predictive values for AFP, HCG, and lactate dehydrogenase (LDH) of about 50% are the main limitation of these biomarkers in the clinic ([1, 11, 12]; **Table 1**).

Earlier data from The TCGA analysis confirmed prior reports of the presence of distinct microRNA profiles between semi-

nomas and non-seminoma GCTs. Within the past 20 years, several microRNA molecular biomarkers have been shown to have prognostic significance, one of them is miRNA371a-3p. This short, non-coding miRNA involved in epigenetic regulation of gene expression proved to be the most sensitive (>80%) and specific (>90%) in GCTs of all miRNAs that were investigated [6, 13, 14]. The level of miRNA371a-3p, which can be examined from peripheral blood, correlates with the presence of all germ cell tumor subtypes except for teratoma and it seems to be associated with disease burden and prognosis with a sensitivity of 90.1%, specificity of 94%, and positive predictive value of 97.2%. The levels of miRNA371a-3p drop rapidly after orchiectomy for stage I disease [6, 13, 14]. This microRNA has been proposed as a serum biomarker for monitoring disease status in patients with germ cell tumors. Reportedly, miR-375 is highly expressed in teratoma and yolk sac tumor, but not in seminoma or embryonal carcinoma. miRNA371a-3p shows great promise to become a reliable marker outperforming conventional serum markers and is expected to soon be implemented into clinical practice. The most likely scenarios for the use of miRNA371a-3p are in stage I disease and post-chemotherapy residual disease, to identify possible viable cancer not detectable by imaging [6, 13, 14].

Assessing the expression DNA methyltransferase 3B (DNMT3B) in tissue samples might be a new biomarker of relapse in stage I seminoma, with limited data suggesting an increased risk of relapse in patients with any DNMT3B expression compared with none [6, 13, 14].

Immune mechanisms seem to be involved in the pathogenesis and outcome of GCTs. The immune modulator pro-

grammed death ligand 1 (PD-L1) is considered a potent predictor of prognosis in patients with metastatic disease. Patients with low expression of PD-L1 on tumor cells had significantly longer progression-free survival and overall survival, but when expressed on tumor-infiltrating lymphocytes, high expression of PD-L1 was associated with significantly longer progression-free survival and overall survival. This is an area in which more pathology research is needed [6, 13, 14].

Early data suggest that artificial intelligence (AI) applied to testicular MRI might differentiate seminoma from non-seminoma germ cell tumors. A retrospective study of 42 patients using machine learning achieved an accuracy of 89% and 86% [15]. Machine learning was also used in predicting the histology in post-chemotherapy retroperitoneal lymphadenectomies using radiomics of a retrospective study including 80 cases and was able to identify benign (necrosis/fibrosis) and malignant (viable cancer/teratoma) tissue with 88% specificity, 72% sensitivity, and 88% negative predictive value [15].

Practical conclusion

- Using novel terminology refinements, as provided by the current World Health Organization (WHO) revision, will likely facilitate the understanding between pathologists and oncologists worldwide.
- Future research directions may include assessing the optimal implementation of miRNA 371a-3p and other miRNAs into clinical practice, since this represents one of the most promising areas in molecular pathology of germ cell tumors (GCTs).
- The post-chemotherapy assessment to predict residual tumor requires dedication, since it can spare unnecessary surgical interventions in this young population.

- As in other areas of modern oncology, having more data on resistance to the current treatments (cisplatin-based chemotherapy or immunotherapy) would greatly help in improving patients' quality of life.

Corresponding address

Prof. Dr. Antonio Lopez-Beltran

Department of Morphological Sciences,
Cordoba University Medical School
Avda. Menendez-Pidal S/N, 14004 Cordoba,
Spain
em1lobea@uco.es
em1lobea@gmail.com

Declarations

Conflict of interest. A. Lopez-Beltran declares that he has no competing interests.

For this article no studies with human participants or animals were performed by any of the authors. All studies mentioned were in accordance with the ethical standards indicated in each case.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

References

- Chovanec M, Cheng L (2022) Advances in diagnosis and treatment of testicular Cancer. *BMJ* 379:e70499. <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-070499>
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2018) Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin* 68:7–30. <https://doi.org/10.3322/caac.21442>
- Ghazarian AA, Kelly SP, Altekruze SF, Rosenberg PS, McGlynn KA (2017) Future of test germ cell tumor incidence in the United States: Forecast through 2026. *Cancer* 123:2320–2328. <https://doi.org/10.1002/cncr.30597>
- Znaor A, Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E et al (2020) Testicular cancer incidence predictions in Europe 2010–2035: A rising burden despite population ageing. *Int J Cancer* 147:820–828. <https://doi.org/10.1002/ijc.32810>
- Looijenga LHJ, Van der Kwast TH, Grignon D et al (2020) Report from the international society of urological pathology (ISUP) consultation conference on molecular pathology of urogenital cancers IV: current and future utilization of molecular-genetic tests for testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 44:e66–e79
- Shen H, Shih J, Hollen DP et al (2018) Cell Rep 23:3392–3406. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.039>
- Berney DM, Cree I, Rao V et al (2022) An introduction to the WHO 5th edition 2022 classification of testicular tumours. *Histopathology* 81:459–466. <https://doi.org/10.1111/his.14675>
- Moch H, Amin MB, Berney DB et al (2022) The 2022 world health organization classification of tumours of the urinary system and male genital organs—part A: renal, penile, and testicular tumours. *Eur Urol* 82:458–468

Hodenkrebs: neue Entwicklungen, Molekularpathologie und aktuelle Forschungsschwerpunkte

Keimzelltumoren gelten heute mit einer Heilungsrate von über 95 % bei sämtlichen Patienten und mit einer Heilungsrate von über 90 % bei Patienten mit Metastasen als heilbare Krebsform. Der Erfolg der Medizin bei der Heilung dieser Krankheit beruht auf multidisziplinären Fortschritten. Relevant ist in dieser Hinsicht die heute verwendete homogene Terminologie, deren Grundlage die pathologisch besser charakterisierten Hodentumoren und die Entwicklung eines weitverbreiteten Risikostratifizierungsmodells bei Vorliegen von Metastasen darstellen, welches 1997 von der International Germ Cell Cancer Collaborative Group eingeführt und 2021 aktualisiert wurde. Nichtpulmonale viszerale Metastasen, hohe Werte für die Serumtumormarker Alpha-Fetoprotein (AFP) und humanes Choriongonadotropin (HCG) sowie ein primäres mediastinales Nichtseminom sind derzeit die Determinanten einer schlechten Prognose. Darüber hinaus hat das Vorliegen unterschiedlicher microRNA-Profile zwischen Seminomen und nichtseminomatösen Keimzelltumoren bedeutende Perspektiven hinsichtlich nichtinvasiver Biomarker eröffnet, die für die Diagnose und Therapieüberwachung eingesetzt werden können.

Schlüsselwörter

Hodenkrebs · Pathologie · Klassifikation · Molekulare Aspekte

- Flood TA, Ulbright TM, Hirsch MS (2021) “Embryonic-type neuroectodermal tumor” should replace “primitive neuroectodermal tumor” of the testis and gynecologic tract: a rationale for new nomenclature. *Am J Surg Pathol* 45:1299–1302
- Rindi G, Klimstra DS, Abedi-Ardekani B et al (2018) A common classification framework for neuroendocrine neoplasms: an International Agency for Research on Cancer (IARC) and World Health Organization (WHO) expert consensus proposal. *Mod Pathol* 31:1770–1786
- International Germ Cell Cancer Collaborative Group (1997) International Germ Cell Consensus Classification: a prognostic factor-based staging system for metastatic germ cell cancers. *J Clin Oncol* 15:594–603. <https://doi.org/10.1200/JCO.1997.15.2.594>
- International Germ Cell Cancer Classification Update Consortium, Beyer J, Collette L, Sauv e N et al (2021) Survival and new prognosticators in metastatic seminoma: results from the IGCCCG-update consortium. *J Clin Oncol* 39:1553–1562. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.03292>
- Fischer S, Rothermundt C, Stalder O et al (2023) The value of tumour markers in the detection of relapse—lessons learned from the Swiss Austrian German testicular cancer cohort study. *Eur Urol Open Sci* 50:57–60
- Chavarriaga J, Hamilton RJ (2023) miRNAs for testicular germ cell tumours: contemporary indications for diagnosis, surveillance and follow-up. *Andrology* 11:628–633
- Feliciani G, Mellini L, Carnevale A et al (2021) The potential role of MR based radiomic biomarkers in the characterization of focal testicular lesions. *Sci Rep* 11:3456. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83023-4>

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Zoonosen bei einheimischen Wildsäugetieren

Reiner Ulrich

Institut für Veterinär-Pathologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Leipzig, Deutschland

Zusammenfassung

Hintergrund: Zoonosen sind Krankheiten und Infektionen, die auf natürliche Weise zwischen Tieren und Menschen übertragen werden können. Direkte und indirekte Kontakte von Menschen mit Wildtieren finden bei der Jagd ausübung, beim Auffinden und Versorgen erkrankter Wildtiere und in gemeinsam genutzten Feldern, Wäldern, Parks, Gärten und Häusern statt. Zoonosen können nur bei ganzheitlicher Betrachtung von Ökosystemen, Tieren und Menschen verstanden und bekämpft werden.

Fragestellung: In dieser Arbeit werden wichtige Zoonoseerreger vorgestellt, die aktuell in Deutschland in wildlebenden Säugetieren als Reservoir vorkommen.

Material und Methoden: Mittels Literaturrecherche wurde die Prävalenz von aktuell in wildlebenden Säugetieren vorkommenden Zoonoseerregern ermittelt.

Ergebnisse: Aktuell in Deutschland in Wildsäugetieren als natürlichem Reservoir vorkommende virale Zoonoseerreger sind Bornaviren, Lyssaviren, Hepatitis-E-Virus Genotyp 3 und *Puumala orthohantavirus*. Die über typische Wund- und Lebensmittelinfektionserreger hinausgehenden bakteriellen Zoonoseerreger beinhalten *Brucella suis* Biovar 2, *Francisella tularensis* ssp. *holarctica*, *Leptospira interrogans sensu lato*, *Mycobacterium caprae* und *Yersinia pseudotuberculosis*. Bei Wildtieren häufige parasitäre Zoonoseerreger sind insbesondere *Alaria alata*, *Baylisascaris procyonis*, *Echinococcus multilocularis*, *Sarcoptes scabiei* und *Trichinella* spp.

Schlussfolgerung: Bei zahlreichen heimischen Wildtieren, insbesondere Hundartigen, Kleinbären, Nagetieren, Insektenfressern und Fledertieren ist regulär mit dem Vorliegen von zoonotischen Infektionserregern der Risikogruppen 2 bis 3 zu rechnen. Tierpfleger, Jäger, Tiermediziner und Humanmediziner sollten dieses Risiko kennen und situationsgerechte Schutzmaßnahmen ergreifen.

Schlüsselwörter

Infektionskrankheiten · One Health · Prävalenz · Veterinärpathologie · Epidemiologie

In der Diskussion um die Entstehung von COVID-19 wurde in zahlreichen Medienbeiträgen auch die Nutzung von Tieren durch den Menschen in der Form von „Bushmeat“ in anderen Kulturen kritisch thematisiert. Dabei wurde selten beleuchtet, welche Zoonoseerreger bei Wildtieren in Deutschland vorkommen. Dieser Artikel stellt die wichtigsten viralen, bakteriellen und parasitären Zoonoseerreger vor, die aktuell in heimischen Wildsäugetieren als natürlichem Reservoir existieren. Besonders Tierpfleger,

Jäger, Tiermediziner und Humanmediziner sollten diese Zoonosen und ihre typischen pathomorphologischen Befunde kennen.

Zoonosen

Menschen und Wildtiere kommen unter verschiedenen Umständen miteinander in Kontakt, wie beispielsweise durch das Eindringen von Menschen in bisher unbewohnte Lebensräume, Jagd, Fang und den Verkauf von lebenden Wildtieren, Schlach-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Tab. 1 Einteilung von Krankheitserregern in Risikogruppen gemäß Biostoffverordnung § 3 [27]

Risiko-gruppe	Krankheitsrisiko	Gefährdung der Bevölkerung	Vorbeugung und Be-handlung
1	Unwahrscheinlich	Keine	Nicht erforderlich
2	Erkrankung möglich	Gering	Normalerweise möglich
3**	Schwere Erkrankung mög-lich, aber in der Regel keine aerogene Übertragung	Signifikantes Risiko, aber in der Regel keine aerogene Übertragung	Normalerweise möglich
3	Schwere Erkrankung möglich	Signifikant	Normalerweise möglich
4	Schwere Erkrankung	Groß	Normalerweise nicht möglich

Tab. 2 Übersicht über einige bekannte Naturreservoir von Zoonoseerregern in wildlebenden Säugetieren in Deutschland

Ordnung/Familie	Spezies	Zoonoserisiko*
Hirschartige (<i>Cervidae</i>)	Rehwild, Rotwild, Damwild, Sikawild	<i>Mycobacterium caprae</i> (nur regional)
Hornträger (<i>Bovidae</i>)	Mufflon, Wisent	–
Echte Schweine (<i>Suidae</i>)	Wildschwein	<i>Brucella suis</i> (nur regional), Hepatitis-E-Virus, <i>Trichinella spiralis</i>
Hundeartige (<i>Canidae</i>)	Fuchs, Marderhund, Wolf	<i>Alaria allata, Echinococcus multilocularis, Sarcoptes scabiei</i>
Katzen (<i>Felidae</i>)	Wildkatze, Luchs	–
Marder (<i>Mustelidae</i>)	Dachs, Stein- & Baumrarder, Iltis, Nerz, Wiesel, Fischotter	–
Kleinbären (<i>Procyonidae</i>)	Waschbär	<i>Baylisascaris procyonis</i>
Hasenartige (<i>Lagomorpha</i>)	Feldhase, Kaninchen	<i>Brucella suis</i> (nur regional), <i>Francisella tularensis</i> (nur regional), <i>Yersinia paratuberculosis</i>
Hörnchen (<i>Sciuridae</i>)	Eichhörnchen	–
Nagetiere (<i>Rodentia</i>)	Mäuse, Ratten	<i>Leptospira spp.</i> , Puumala orthohantavirus
Insektenfresser (<i>Eulipotyphla</i>)	Igel, Maulwurf, Spitzmäuse	Borna Disease Virus 1
Fledertiere (<i>Chiroptera</i>)	Fledermäuse	Lyssaviren

* Basierend auf den aktuellen epidemiologischen Daten sollte bei Spezies, die ein wichtiges Reservoir für einen zoonotischen Erreger darstellen, ein erhöhtes Zoonoserisiko angenommen werden. Ordnungen/Familien, in denen Zoonoseerreger in besonders hoher Frequenz vorkommen, sind **fett gedruckt**. Pathogene der Risikogruppe 3 sind **fett gedruckt**

tung und Verzehr von Wildtieren sowie den Kontakt von Wild- und Haustieren untereinander [3]. Dieser Kontakt an der Mensch-Tier-Grenze wird in einer immer stärker bevölkerten Welt immer häufiger [15].

Es ist bekannt, dass es hierbei zu Übertragungen von viralen, bakteriellen und parasitären Krankheitserregern und in der Folge zur Entstehung von neuartigen Erkrankungen wie COVID-19 kommen kann [15]. Krankheiten und Infektionen, die auf natürliche Weise zwischen Tieren und Menschen übertragen werden können, werden als Zoonosen bezeichnet. Je nach

Richtung der Übertragung können Zoonosen (Tier → Mensch), Anthroponosen (Mensch → Tier) und Amphixenosen (Mensch ↔ Tier) unterschieden werden. Etwa 60 % aller menschlichen Infektionskrankheiten sind tierischen Ursprungs und mindestens 75 % aller neu auftretenden Infektionskrankheiten des Menschen haben ihren Ursprung bei Tieren [26]. Bekannte Beispiele für zoonotische Erkrankungen sind AIDS, Ebola, MERS, COVID, Tollwut, Hendra, Nipah und Influenza [15].

Krankheitserreger können durch verschiedene Mechanismen über lange

Zeiträume in einer Population vorhanden sein oder aus Reservoir in eine Zielpopulation einbrechen. Hierbei ist ein Reservoir eine epidemiologisch zusammenhängende Population oder Umgebung, wie z.B. eine Wildtierspezies, in denen sich ein Erreger dauerhaft halten kann und von der aus eine Infektion auf eine Zielpopulation, wie z.B. das gleiche Habitat nutzende Menschen, übertragen wird [9]. Krankheitserreger können durch einen Wirtswechsel eine stark veränderte, manchmal auch deutlich gesteigerte Virulenz aufweisen. Beispielsweise sind bei Bornavirus-infizierten Spitzmäusen [18], Puumala orthohantavirus-infizierten Rötelmäusen [23] und mit *Leptospira kirschneri* Serovar Grippothypsose infizierten Wühl- und Feldmäusen [8] trotz langanhaltender und starker Erregerausscheidung keine klinischen Symptome oder charakteristischen pathomorphologischen Läsionen feststellbar.

Krankheitserreger werden in Abhängigkeit ihrer Gefährlichkeit für den Menschen in 4 Risikoklassen eingeteilt (■ Tab. 1). Gezielte Tätigkeiten mit Krankheitserregern müssen in einem behördlich zugelassenen Labor der adäquaten Schutzstufe durchgeführt werden. Im Gegensatz dazu handelt es sich bei einer Sektion um eine ungerichtete diagnostische Tätigkeit, bei der weder Todesursache, Erkrankungsursache noch die Anzahl, Art und Menge an Krankheitserregern *a priori* bekannt ist. Die Schutzmaßnahmen, die bei veterinärmedizinischen Sektionen eingehalten werden müssen, richten sich deshalb nach den technischen Regeln für biologische Arbeitsstoffe (TRBA 260) [2]. Bei der Sektion eines Wirbeltiers ist im Regelfall vom Vorliegen einer hohen Menge an Bakterien einschließlich solcher der Risikoklasse 2, insbesondere im Magen-Darm-Trakt auszugehen. Aus diesem Grund entspricht die bauliche Minimalanforderung an veterinärmedizinische Sektionshallen dem Standard eines Labors der Schutzstufe 2. In Fällen, bei denen aus epidemiologischen, anamnestischen oder klinischen Daten ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Erregers einer höheren Risikostufe besteht, sollen gemäß den Richtlinien der TRBA 260 weitere, primär bauliche, sekundär organisatorische und tertiär persönliche Schutzmaßnahmen wie eine persönliche Schutz-

Infobox 1

Die für Deutschland geltenden Einstufungen von Pathogenen in Risikogruppen finden sich hier

Viren: TRBA-462-Einstufung von Viren in Risikogruppen: <https://www.baua.de/DE/Angebote/Regelwerk/TRBA/TRBA-462.html>
Bakterien: TRBA-466-Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen: <https://www.baua.de/DE/Angebote/Regelwerk/TRBA/TRBA-466.html>
Pilze: TRBA-460-Einstufung von Pilzen in Risikogruppen: <https://www.baua.de/DE/Angebote/Regelwerk/TRBA/TRBA-460.html>
Parasiten: TRBA-464-Einstufung von Parasiten in Risikogruppen: <https://www.baua.de/DE/Angebote/Regelwerk/TRBA/TRBA-464.html>

ausrüstung genutzt werden, die vor dem potenziellen Risiko schützen. Für die Planung und den Betrieb von Wildauffangstationen und sonstigen Haltungen von Tieren, die aus der Wildnis entnommen wurden, sollten vergleichbare Risikoeinschätzungen durchgeführt werden.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, eine aktuelle Übersicht über die in einheimischen Wildsäugetieren vorkommenden zoonotischen Pathogene zu erstellen (■ Tab. 2). Zur Fokussierung auf das erhöhte Risiko im Umgang mit spezifischen Wildtierarten werden hierbei nur solche Erreger berücksichtigt, die keine ubiquitären Schmutzkeime, Eitererreger und Lebensmittelvergifter darstellen, in heimischen Wildtieren ihr Reservoir haben und nicht auch bei den verwandten Haussäugetieren oder dem Menschen in vergleichbarer oder höherer Prävalenz vorkommen.

Bornaviren

Die Bornaviren gehören zur Ordnung *Mononegavirales*, Familie *Bornaviridae* und zum Genus *Orthobornavirus*. Sie sind behüllt und weisen ein sphärisches Nukleokapsid sowie ein Genom aus einzelsträngiger RNA [18] negativer Polarität auf. Der Erreger, der in der Veterinärmedizin bereits seit 1885 bekannten Borna-Erkrankung, ist das Borna Disease Virus 1 und wird aktuell in die Risikogruppe 2 eingeordnet. Das Reservoir für das Borna Disease Virus 1 ist die Feldspitzmaus (*Crocidura leucodon*). Infizierte Feldspitzmäuse zeigen keine Symptomatik, scheiden aber für lange Zeit Viren mit allen Se- und Exkreten aus [18]. Bei den vermutlich

nasal und neurogen-aszendierend infizierten Pferden, Schafen, Menschen und anderen Säugetieren kann es zu einer in der Regel fatalen lymphohistioplasmazellulären Polioenzephalitis mit gelegentlich nachweisbaren, charakteristischen Joest-Deegen-Einschlusskörperchen kommen [13].

Eine weitere Spezies ist das Bunthörnchen-Bornavirus 1 (VSBV 1), das bisher nur bei exotischen Bunthörnchen (*Sciurus variegatoides*) und Schönhörnchen (*Callosciurus prevostii*) nachweisbar war, aber nicht in einheimischen Eurasischen Eichhörnchen (*Sciurus vulgaris*) [24]. Das Bunthörnchen-Bornavirus ist ein Erreger der Risikogruppe 3. Bunt- und Schönhörnchen zeigen keine Symptomatik, aber beim Menschen kann es zu tödlicher Enzephalitis kommen.

Lyssaviren

Lyssaviren gehören zur Ordnung *Mononegavirales*, Familie *Rhabdoviridae* und zum Genus *Lyssavirus*. Sie sind behüllt, geschossförmig und weisen ein Genom aus einzelsträngiger RNA negativer Polarität auf. Die aktuell in Deutschland vorkommenden Spezies sind die in Risikogruppe 3** eingruppierten European Bat Lyssavirus (EBLV-1) und EBLV-2. Reservoir sind Fledertiere, insbesondere die Breitflügel-Fledermaus (*Eptesicus serotinus*) mit einer Prävalenz von etwa 1% [11]. Alle Säugetiere sind empfänglich für die als Tollwut bezeichnete Erkrankung. Die Tollwut äußert sich als fatale zentralnervöse Störung ohne typische makroskopische Befunde, jedoch mit oft schwach ausgeprägter lymphohistiozytärer Polioenzephalitis mit als Babes-Knötchen bezeichneten Mikroglionen und gelegentlich nachweisbaren, charakteristischen Negri-Einschlusskörperchen.

Hepatitis-E-Virus Genotyp 3

Das Hepatitis-E-Virus gehört zur Familie der *Hepeviridae* und zum Genus *Orthohepevirus*. Es ist variabel behüllt oder unbehüllt und weist ein Genom bestehend aus einzelsträngiger RNA positiver Polarität auf. Während die Genotypen 1 und 2 nur beim Menschen vorkommen, handelt es sich beim Genotyp 3 um eine Zoonose. Das Hepatitis-E-Virus ist ein Erreger

der Risikogruppe 2. Insbesondere Wildschweine stellen mit einer Prävalenz von über 10% vermutlich Reservoirwirte dar, seltener auch Rotwild und Rehwild [25]. Bei allen bisher untersuchten Wildtieren verläuft die Infektion in der Regel ohne klinische Symptome und ohne morphologische Läsionen. Beim Menschen kann das Hepatitis-E-Virus eine klinisch inapparente oder milde Hepatitis induzieren.

Puumala orthohantavirus (PUUV)

Das *Puumala orthohantavirus* gehört zur Familie der *Hantaviridae* und zum Genus *Orthohantavirus*. Es ist behüllt, segmentiert und weist ein Genom bestehend aus einzelsträngiger RNA negativer Polarität auf. Das *Puumala orthohantavirus* ist ein Erreger der Risikogruppe 2. Das wichtigste Wildreservoir stellt die Rötelmaus (*Clethrionomys glareolus*) mit einer Prävalenz von etwa 20% dar, aber auch andere Nagetiere, Insektenfresser und Fledertiere können infiziert sein [23]. Die Wildtiere zeigen in der Regel keine klinischen Symptome oder morphologische Läsionen, während beim Menschen ein hämorrhagisches Fieber mit urologischem Syndrom auftreten kann.

Brucella suis Biovar 2

Das gramnegative, fakultativ intrazelluläre, kokkobazilläre Bakterium *Brucella suis* gehört zur Familie *Brucellaceae*. *Brucella suis* ist ein Erreger der Risikogruppe 3. *Brucella suis* Biovar 2 kann in manchen Gegenden Deutschlands bei Wildschweinen mit einer Prävalenz von bis zu 20% sowie bei Feldhasen als vermutlichen Reservoirs nachgewiesen werden [14]. Die als Brucellose bezeichnete Erkrankung zeigt sich bei den betroffenen Tieren und auch dem Menschen als chronische, multifokale, pyogranulomatöse Entzündung, häufig in Hoden, Uterus, Gelenken, Sehnenscheiden und Schleimbeuteln.

Francisella tularensis ssp. *holarctica*

Francisella tularensis ssp. *holarctica* gehört zur Familie *Francisellaceae*, bei der es sich um gramnegative, fakultativ intrazelluläre, stäbchenförmige Bakterien handelt. *Francisella tularensis* ssp. *holarctica*

ist ein Erreger der Risikogruppe 2. Der Erreger wird regional variabel in einigen Regionen in Deutschland bei Feldhasen mit Prävalenzen von ca. 1 % nachgewiesen. Auch bei anderen Nagetieren, Hörnchen, Füchsen und Marderhunden kann *Francisella tularensis* ssp. *holarctica* gelegentlich nachgewiesen werden [4, 16, 22]. Die Erkrankung, auch Tularämie oder Hasenpest genannt, zeigt sich bei betroffenen Tieren typischerweise als disseminierte nekrotisierende Hepatitis, Splenitis und Lymphadenitis. Beim Menschen kann sie verschiedene Verlaufsformen mit Lymphadenitis, Pneumonie, Haut- und Augenläsionen, Hepatitis, Nephritis, Meningitis und Endokarditis annehmen.

Leptospira interrogans sensu lato

Leptospira interrogans sensu lato sind Spirochäten und gehören zur Familie *Leptospiraceae*. Sie sind schlecht anfärbare, versilberbare, häkchenförmige Bakterien. *Leptospira interrogans* und *Leptospira kirschneri* sind Erreger der Risikogruppe 2. Nagetiere, insbesondere Wühlmäuse (*Microtus arvalis*) und Feldmäuse (*Microtus agrestis*), stellen mit einer Prävalenz von ca. 30 % ein bedeutendes Naturreservoir für zahlreiche Serovare dar [8]. Weiterhin können auch Insektenfresser, Wildschweine und prinzipiell alle Säugetiere infiziert sein. Die Leptospirose genannte Erkrankung äußert sich bei Tieren je nach Erreger-Wirts-Gleichgewicht bei Infektionen mit einem wirtsadaptierten Serovar entweder ohne klinische Symptome oder mit chronischer tubulointerstitieller Nephritis. Bei wirtsfremden Serovaren können akute nekrotisierende Nephritis und Hepatitis, Hämolyse, Ikterus, Anämie und Aborte auftreten. Beim Menschen äußert sich die Leptospirose häufig als hämorrhagisches Fieber mit urologischem Syndrom.

Mycobacterium caprae

Mycobacterium caprae gehört zur Familie *Mycobacteriaceae* und zum *Mycobacterium-tuberculosis*-Komplex. Es handelt sich um grampositive, säurefeste, fakultativ intrazelluläre, stäbchenförmige Bakterien der Risikogruppe 3. Aktuell wird für einzelne Landkreise im bayerischen Alpenraum im Rotwild eine regionale Prävalenz

von 2 % berichtet [6]. Potenziell können auch andere Spezies betroffen sein. So wird aus Großbritannien ein Persistieren von *Mycobacterium bovis* in einem Naturreservoir in Dachsen berichtet [1]. Die als Tuberkulose bezeichnete Erkrankung äußert sich bei betroffenen Wirbeltieren und dem Menschen als chronische, fokale oder multifokale Granulome, teils mit typischer zentraler Verkäsung in den inneren Organen, insbesondere Lunge, Darm sowie den Lymphknoten.

Yersinia pseudotuberculosis

Das gramnegative, fakultativ intrazelluläre, stäbchenförmige Bakterium *Yersinia pseudotuberculosis* gehört zur Familie *Enterobacteriaceae*. *Yersinia pseudotuberculosis* ist ein Erreger der Risikogruppe 2. Das vermutlich wichtigste Wildreservoir stellen Feldhasen dar. Aufgrund der hohen Seroprävalenz von über 55 % und einer Erregerprävalenz von ca. 6 % in Totfundmonitoringuntersuchungen ist davon auszugehen, dass viele Feldhasen die Infektion überleben und klinisch inapparente Träger sein können. Auch andere Nagetiere, Hasenartige, Hundartige, Katzenartige, Vögel und gelegentlich andere Säugetiere können infiziert sein [7]. Die als Rodentiose oder Pseudotuberkulose bezeichnete Erkrankung äußert sich bei Tieren und Menschen in multifokalen nekrotisierenden Entzündungen in den Mesenteriallymphknoten, Leber und Milz, oft begleitet von einer fibrinös-hämorrhagischen Enteritis.

Alaria alata (Dunker-Muskegel)

Der Saugwurm *Alaria alata* gehört zum Stamm *Platyhelmintha*, Klasse *Trematoda*, Ordnung *Strigeatida* und Familie *Diplostomatidae*. *Alaria allata* ist ein Endoparasit der Risikogruppe 2. Die höchsten Prävalenzen finden sich mit 44 % bei Marderhunden, 25 % bei Füchsen und 5 % bei Wildschweinen [28]. Auch Wölfe können als Endwirte dienen. Der Parasit hat einen komplexen Lebenszyklus mit den 2 Zwischenwirten Süßwasserschnecken und Fröschen sowie multiplen möglichen Stapelwirten wie Amphibien, Reptilien und Säugetieren, einschließlich Wildschweinen. Die Alariose genannte Erkrankung

verläuft bei Tieren in der Regel ohne klinische Symptome [12]. Beim Menschen wird sie insbesondere nach dem Verzehr nicht ausreichend erhitzter Schnecken und Frösche beobachtet und äußert sich ähnlich wie die Trichinellose mit Myalgien, Organbeteiligung, Fieber und Schock.

Baylisascaris procyonis

Der Spulwurm *Baylisascaris procyonis* gehört zum Stamm *Nematoda*, Klasse *Enoplea*, Ordnung *Ascaridida* und Familie *Ascarididae*. *Baylisascaris procyonis* ist ein Endoparasit der Risikogruppe 2. Der sich seit der Mitte des 20. Jahrhunderts in Europa ausbreitende Waschbär hat als zoonotische Bürde seinen Spulwurm *Baylisascaris procyonis* mitgebracht. Mit einer Prävalenz von ca. 95 % kann der Endwirt Waschbär als grundsätzlich mit diesem Spulwurm infiziert angenommen gelten [20]. Zwischen- und Fehlwirte können Säugetiere und Vögel sein. Eine für Mensch und Tier lebensbedrohliche und als Larva migrans bezeichnete Erkrankung entsteht durch wandernde Larven des Spulwurms in den inneren Organen, insbesondere im Gehirn.

Echinococcus multilocularis

Der Bandwurm *Echinococcus multilocularis* gehört zum Stamm *Platyhelmintha*, Klasse *Cestoda*, Ordnung *Cyclophyllidea* und Familie *Taeniidae*. *Echinococcus multilocularis* ist ein Endoparasit der Risikogruppe 3**. Der Fuchs ist der natürliche Endwirt mit einer Prävalenz von ca. 27 %, aber auch Marderhunde und Wölfe können infiziert sein [28]. Zwischenwirte sind Nagetiere und andere Säugetiere. Die Erkrankung, alveoläre Echinokokkose genannt, verläuft in der Regel bei Tieren und Menschen lange Zeit ohne klinische Symptome. Es kann sich aber in den inneren Organen, insbesondere der Leber, infiltratives, progredientes Parenchym irreversibel zerstörendes Metazestodengewebe bilden, in dem histologisch in der Regel eine typische azelluläre, hyaline, eosinophile und PAS-positive Laminarschicht und seltener Protoscolices nachweisbar sind [5].

Sarcoptes scabiei var. *vulpes*

Die Grabmilbe (Synonym: Krätzmilbe) *Sarcoptes scabiei* var. *vulpes* gehört zum Stamm *Arthropoda*, Klasse *Arachnida*, Ordnung *Sarcoptiformes* und Familie *Sarcoptidae*. Für Ektoparasiten wie *Sarcoptes scabiei* var. *vulpes* existieren aktuell keine Richtlinien zur Einteilung in Risikogruppen. Bei Füchsen löst *Sarcoptes scabiei* var. *vulpes* die häufige und gelegentlich tödlich verlaufende Räude aus [21]. Es handelt sich um eine chronische, proliferative Dermatitis mit borkigen Krusten und Alopezie. Aufgrund der nur unvollständig ausgeprägten Wirtsselektivität kann *Sarcoptes scabiei* var. *vulpes* auch Wildschweine und andere Säugetiere einschließlich des Menschen befallen und eine als Pseudokrätze bezeichnete ähnliche, in der Regel milde Erkrankung auslösen.

Trichinella spp.

Die winzigen Fadenwürmer der Gattung *Trichinella* spp. gehören zum Stamm *Nematoda*, Klasse *Adenophorea*, Ordnung *Trichocephalida* und Familie *Trichinellidae*. Die insbesondere aus medizinhistorischen Gründen bekannteste Hauptart ist *Trichinella spiralis*. *Trichinella spiralis* ist ein Erreger der Risikogruppe 2. Durch die Einführung der als Trichinenschau bezeichneten Pflichtuntersuchung von zum menschlichen Verzehr bestimmtem Fleisch von Hausschweinen, Wildschweinen, Einhufern, Dachsen, Nutrias, Füchsen und Bären Ende des 19. Jahrhunderts konnte die Trichinellose effektiv bekämpft werden [17]. Auch heute noch können Wildschweine infiziert sein, wobei die Inzidenz in Deutschland bei weniger als 10 Einzelfällen pro Jahr liegt [19]. Weit weniger bekannt ist, dass bei Hundartigen mit einer hohen Prävalenz zu rechnen ist. So werden für Füchse im Baltikum Prävalenzen von mehr als 50% berichtet [10]. Marderhunde, Waschbären, Dachse und Wölfe können ebenfalls von der Trichinellose betroffen sein. Die Erkrankung verläuft bei Tieren in der Regel ohne klinische Symptome und ohne makroskopische Läsionen, da die mikroskopisch kleinen Larven über Jahrzehnte in der Skelettmuskulatur persistieren können. Beim

Menschen äußert sich die Trichinellose in einer gastrointestinalen Phase und einer Myalgiephase und kann schwerwiegende Komplikationen wie Myokarditis und Enzephalitis verursachen.

Diskussion

In dieser Studie werden einige wichtige zoonotische Erreger vorgestellt, die aktuell in wildlebenden Säugetieren in Deutschland als Reservoir vorkommen und eine potenzielle Gefahr für den Menschen darstellen.

Viele infektionsmedizinische Experten halten es für gewiss, dass die Menschheit in der Zukunft von weiteren zoonotischen Pandemien betroffen sein wird [30]. Heute aber bereits eindeutig einschätzen zu wollen, wann genau und welcher Erreger die nächste Zoonose auslösen wird, gleicht einer Lotterie, bei der man mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht richtig liegen wird. Im Sinne eines ganzheitlichen One-Health-Konzepts sollte sich die Forschung deshalb auch mit den Fragilitäten und Vulnerabilitäten von Ökosystemen beschäftigen. Das Wissen, welche Spezies neben dem Menschen im gleichen Habitat existieren, welche Krankheitserreger sie aktuell als Reservoir beherbergen und für welche sie potenziell empfänglich sind, stellt bezüglich des Auftretens neuer Pathogene wichtiges Grundlagenwissen für eine gute Risikoeinschätzung dar.

Aktuell fällt die enorm hohe Prävalenz von *Baylisascaris procyonis* bei Waschbären [20] sowie *Alaria alata* bei Marderhunden auf [28]. Der Waschbär hat seinen Spulwurm mit Sicherheit mit nach Deutschland gebracht. Für den Marderhund und die Alariose kann eine vergleichbare Situation vermutet werden. Neue Pathogene breiten sich in der Folge auch auf andere empfindliche Spezies aus. Die Neuansiedelung der Tigermücke (*Aedes albopictus*) mit ihrer Vektorkompetenz für Chikungunya-Virus, Dengue-Virus und Zika-Virus in Deutschland ist ein weiteres Beispiel dafür, wie durch einen Neozoen die potenzielle Risikolage in einem Ökosystem geändert wird [29].

Andererseits kann auch das Verschwinden von Pathogenen aus einem Ökosystem zu auf den ersten Blick unerwarteten Folgen führen. So ist die Ausrottung der sylvatischen Tollwut in Deutschland im

Jahr 2008 durch die orale Immunisierung von Füchsen primär ein gutes Beispiel für eine erfolgreiche Seuchenbekämpfung. In der Folge ist es aber, auch in Verbindung mit einer geringeren Fuchsbejagung, zu ansteigenden Fuchspopulationen gekommen, was vermutlich den Weg für die heute sehr hohe Prävalenz von *Echinococcus multilocularis* bereitet hat.

Bezüglich der Nutzung von heimischen Wildtieren als Nahrungsmittel folgt aus den aktuellen Prävalenzdaten, dass die Nutzung von Hirschartigen bis auf die bayerischen Landkreise, in denen *Mycobacterium caprae* vorkommt, kein gegenüber dem Fleisch von Haustieren systematisch erhöhtes Zoonoserisiko mit sich bringt. Bei Wildschweinen und Feldhasen besteht in manchen Regionen ein zusätzliches Risiko aufgrund von *Brucella suis*, *Francisella tularensis* ssp. *holarctica* und *Yersinia pseudotuberculosis*. Beim Ausnehmen, der Zerlegung und dem Anfassen von rohem Fleisch von Wildschweinen und Feldhasen sollten Schutzhandschuhe getragen und aufgrund der Hitzeempfindlichkeit der Erreger das Fleisch grundsätzlich nur durchgegart verzehrt werden. Von der Verwendung von Hundartigen, Kleinbären, Nagetieren, Insektenfressern und Fledertieren als Nahrungsmittel sollte aufgrund der hohen Prävalenzen von Zoonoseerregern bei diesen Spezies abgeraten werden.

Die Verbreitung der Risikogruppe-3**-Erreger EBLV-1, EBLV-2 und *Echinococcus multilocularis* sowie regional auch der Risikogruppe-3-Erreger *Brucella suis* und *Mycobacterium caprae* bei heimischen Wildtieren zeigt, dass Menschen beim Umgang mit lebenden Exemplaren, Kadavern, Tierkörperteilen und Ausscheidungen auf die jeweilige Spezies abgestimmte besondere Vorsichtsmaßnahmen einhalten sollten, um das Risiko einer zoonotischen Infektion zu minimieren. Sektionsräume sollten baulich so gestaltet sein, dass sie z. B. durch Hygieneschleusen, Dekontaminationsmöglichkeiten für Kadaver und Abwasser sowie Filtration der Abluft eine Ansteckung des Personals und eine Verbreitung von Pathogenen in die Umwelt verhindern können.

Statt aus Sorge vor zoonotischen Erkrankungen auf Sektionen zu verzichten, sollten bauliche, organisatorische und per-

sönliche Schutzmaßnahmen ergriffen werden [2]. Nur so können Humanmediziner, Tiermediziner und Biologen einen Überblick über die Fragilitäten in unserem Ökosystem bekommen, der für einen Schutz der Gesundheit von Menschen und Tieren notwendig ist.

Fazit für die Praxis

- Zoonosen sind Krankheiten, die zwischen Menschen und Tieren übertragen werden können.
- In Deutschland leben wildelebende Säugetiere aus den Ordnungen/Familien der Hirschartigen, Hornträger, Echten Schweine, Hundartigen, Katzen, Marder, Kleinbären, Hasenartigen, Hörnchen, Nagetiere, Insektenfresser und Fledertiere.
- Jede Spezies beherbergt eine Vielzahl von teils wirtsspezifischen, teils auch auf andere Spezies übertragbaren viralen, bakteriellen und parasitären Pathogenen.
- Das Ausmaß der Virulenz eines Pathogens und damit des bei einer Infektion zu erwartenden pathomorphologischen Schadens kann, insbesondere bei einem Sprung über Artgrenzen hinweg, stark variieren.
- Insbesondere beim Kontakt mit Hundartigen, Kleinbären, Nagetieren, Insektenfressern und Fledertieren ist in Deutschland mit Zoonoseerregern zu rechnen.
- Tierpfleger, Jäger, Tiermediziner und Humanmediziner sollten die mit dem Umgang mit Wildtieren verbundenen Risiken kennen und adäquate Schutzmaßnahmen ergreifen.

Korrespondenzadresse



Prof. Dr. Reiner Ulrich, Ph.D.

Institut für Veterinär-Pathologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig
An den Tierkliniken 33, 04103 Leipzig, Deutschland
reiner.ulrich@vetmed.uni-leipzig.de

Zoonoses in endemic, free-ranging mammals

Background: Zoonoses are diseases and infections that can be transmitted naturally between animals and humans. Direct and indirect contact of humans with wildlife occur during hunting activities, when diseased wildlife is found and treated, and in shared fields, forests, parks, gardens, and homes. Zoonoses can only be understood and controlled when ecosystems, animals, and humans are considered holistically.

Objective: This paper presents important zoonotic pathogens that are currently present in wild mammals as reservoirs in Germany.

Material and Methods: The literature was searched to determine the prevalence of zoonotic pathogens currently occurring in wild mammals.

Results: Viral zoonotic agents currently present in free-ranging, mammalian animals in Germany as reservoirs of natural origin are bornaviruses, lyssaviruses, hepatitis E virus genotype 3, and *Puumala orthohantavirus*. Bacterial zoonotic agents beyond typical wound and foodborne pathogens include *Brucella suis* Biovar 2, *Francisella tularensis* ssp. *holarctica*, *Leptospira interrogans sensu lato*, *Mycobacterium caprae*, and *Yersinia pseudotuberculosis*. In particular, parasitic zoonotic agents common in wildlife are *Alaria alata*, *Baylisascaris procyonis*, *Echinococcus multilocularis*, *Sarcoptes scabiei*, and *Trichinella* spp.

Conclusion: The presence of zoonotic infectious agents of risk groups 2 and 3 has to be regularly expected in numerous endemic wildlife species, especially canines, small bears, rodents, insectivores, and bats. Animal caretakers, hunters, veterinarians, and human health professionals should be aware of this risk and take protective measures appropriate to the situation.

Keywords

Infectious diseases · One Health · Prevalence · Veterinary pathology · Epidemiology

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. R. Ulrich gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. Atkins PJ, Robinson PA (2013) Bovine tuberculosis and badgers in Britain: relevance of the past. *Epidemiol Infect* 141(7):1437–1444
2. Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe (4. Dez. 2018) TRBA 260 Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in der Veterinärmedizin und bei vergleichbaren Tätigkeiten
3. Bachmann ME, Nielsen MR, Cohen H et al (2020) Saving rodents, losing primates—why we need tailored bushmeat management strategies. *People Nat* 2(4):889–902
4. Borgschulte HS, Jacob D, Zeeh J et al (2022) Ulceroglandular form of tularemia after squirrel bite: a case report. *J Med Case Rep* 16(1):309
5. Böttcher D, Bangoura B, Schmäsckhe R et al (2013) Diagnostics and epidemiology of alveolar echinococcosis in slaughtered pigs from large-scale husbandries in Germany. *Parasitol Res* 112(2):629–636
6. Dorn-In S, Körner T, Büttner M et al (2020) Shedding of *mycobacterium caprae* by wild red deer (*cervus elaphus*) in the Bavarian alpine regions, Germany. *Transbound Emerg Dis* 67(1):308–317
7. Faehndrich M, Klink JC, Roller M et al (2023) Status of infectious diseases in free-ranging European brown hares (*lepus europaeus*) found dead between 2017 and 2020 in Schleswig-Holstein, Germany. *Pathogens* 12(2)
8. Fischer S, Mayer-Scholl A, Imholt C et al (2018) *Leptospira* genomospecies and sequence type prevalence in small mammal populations in Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis* (Larchmont, NY) 18(4):188–199
9. Haydon DT, Cleaveland S, Taylor LH et al (2002) Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg Infect Dis* 8(12):1468–1473
10. Kärssin A, Häkkinen L, Niin E et al (2017) *Trichinella* spp. biomass has increased in raccoon dogs (*nyctereutes procyonoides*) and red foxes (*vulpes vulpes*) in Estonia. *Parasites Vectors* 10(1):609
11. Klein A, Calvelage S, Schlottau K et al (2021) Retrospective enhanced bat lyssavirus surveillance in Germany between 2018–2020. *Viruses* 13(8)
12. Lempp C, Jungwirth N, Grilo ML et al (2017) Pathological findings in the red fox (*vulpes vulpes*), stone marten (*martes foina*) and raccoon dog (*nyctereutes procyonoides*), with special emphasis on infectious and zoonotic agents in northern Germany. *PLoS One* 12(4):e175469
13. Liesche F, Ruf V, Zoubaa S et al (2019) The neuropathology of fatal encephalomyelitis in human Borna virus infection. *Acta Neuropathol* 138(4):653–665
14. Macías Luaces L, Boll K, Klose C et al (2023) Seroprevalence of brucella infection in wild boars

- (sus scrofa) of Bavaria, Germany, 2019 to 2021 and associated genome analysis of five *B. suis* biovar 2 isolates. *Microorganisms* 11(2)
15. Magouras I, Brookes VJ, Jori F et al (2020) Emerging zoonotic diseases: should we rethink the animal-human interface? *Front Vet Sci* 7:582743
 16. Müller W, Hotzel H, Otto P et al (2013) German francisella tularensis isolates from european brown hares (*Lepus europaeus*) reveal genetic and phenotypic diversity. *BMC Microbiol* 13:61
 17. Neghina R, Moldovan R, Marincu I et al (2012) The roots of evil: the amazing history of trichinellosis and trichinella parasites. *Parasitol Res* 110(2):503–508
 18. Nobach D, Bourg M, Herzog S et al (2015) Shedding of infectious Borna disease virus-1 in living bicolored white-toothed shrews. *PLoS One* 10(8):e137018
 19. Pannwitz G, Mayer-Scholl A, Balicka-Ramis A et al (2010) Increased prevalence of trichinella spp., northeastern Germany, 2008. *Emerg Infect Dis* 16(6):936–942
 20. Peter N, Dörge DD, Cunze S et al (2023) Raccoons contraband—the metazoan parasite fauna of free-ranging raccoons in central europe. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 20:79–88
 21. Renteria-Solis Z, MIN AM, ALASAAD S et al (2014) Genetic epidemiology and pathology of raccoon-derived sarcoptes mites from urban areas of Germany. *Medical Vet Entomology* 28(Suppl 1(51)):98–103
 22. Runge M, von Keyserlingk M, Braune S et al (2011) Prevalence of francisella tularensis in brown hare (*Lepus europaeus*) populations in Lower Saxony, Germany *Eur J Wildl Res* 57(5):1085–1089
 23. Schlohsarczyk EK, Drewes S, Koteja P et al (2023) Tropism of puumala orthohantavirus and endoparasite coinfection in the bankvole reservoir. *Viruses* 15(3)
 24. Schlottau K, Jenckel M, van den Brand J et al (2017) Variegated squirrel bornavirus 1 in squirrels, Germany and the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 23(3):477–481
 25. Schotte U, Martin A, Brogden S et al (2022) Phylogeny and spatiotemporal dynamics of hepatitis E virus infections in wild boar and deer from six areas of Germany during 2013–2017. *Transbound Emerg Dis* 69(5):e1992–e2005
 26. Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME (2001) Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356(1411):983–989
 27. (21. Juli 2021) Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit Biologischen Arbeitsstoffen. Biostoffverordnung (BioStoffV)
 28. Waindok P, Raue K, Grilo ML et al (2021) Predators in northern Germany are reservoirs for parasites of one health concern. *Parasitol Res* 120(12):4229–4239
 29. Werner D, Kampen H (2015) *Aedes albopictus* breeding in southern Germany, 2014. *Parasitol Res* 114(3):831–834
 30. World Health Organization (2022) WHO R&D blueprint for epidemics

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Der Riesenzelltumor des Knochens – ein Update

Felix Tschavoll · Gianluca Lutteri · Benedikt Leinauer · Kevin Mellert · Peter Möller · Thomas F. E. Barth

Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Ulm, Ulm, Deutschland

Zusammenfassung

In den letzten Jahren konnten zahlreiche neue Erkenntnisse auf dem Gebiet des Riesenzelltumors des Knochens (RZTK) gewonnen werden. Einerseits erlangt der diagnostische Nachweis der für diesen Tumor hochcharakteristischen Mutation im Histongen *H3F3A* immer mehr an Wichtigkeit in der Abgrenzung von anderen riesenzellreichen Läsionen des Knochens, zumal der RZTK ein breites histopathologisches Spektrum zeigen kann, inklusive seltener Varianten ohne osteoklastäre Riesenzellen. Andererseits konnte gezeigt werden, dass die Auswirkungen der *H3F3A*-Mutation einen Einfluss auf das epigenetische Profil der tumortreibenden Stromazellen haben und somit neue Einblicke zur Genese des RZTK geben.

Schlüsselwörter

Riesenzelltumor des Knochens · Riesenzellen · *H3F3A*-Mutation · Epigenom · Methylierungsanalyse

Epidemiologie

Der Riesenzelltumor des Knochens (RZTK) wird als ein intermediär maligner, lokal aggressiver, aber selten metastasierender Tumor klassifiziert (ICD-O: 9250/1) [1, 2]. Der RZTK macht in etwa 4–10% aller primären Knochentumoren und in etwa 20% aller benignen Knochentumoren aus [3]. Die Mehrheit der Patienten erkrankt zwischen dem 20. und dem 55. Lebensjahr. Es zeigt sich ein leicht erhöhtes Risiko für Frauen, an einem RZTK zu erkranken (Verhältnis 1:1,1 bis 1:1,5). Aus bisher noch unerklärten Gründen tritt der Tumor mit besonders hoher Prävalenz (20–30%) im chinesischen und südindischen Raum auf. In 75–90% der Fälle entwickelt sich der RZTK in den metaepiphysären Regionen der langen Röhrenknochen. Prädilektionsstellen befinden sich vor allem im Bereich des Kniegelenks (50–65%). Davon entfallen 20–30% auf das distale Femur und 20–25% auf die proximale Tibia. Weiterhin manifestiert sich der Tumor am distalen Radius (10–12%), am Sakrum (4–9%) und im proximalen Humerus (4–8%). In 2–5% aller Fälle metastasiert der RZTK in

die Lunge, wobei das Risiko in der Rezidivsituation steigt. Die Prognose ist auch in der metastasierten Situation aufgrund des langsamen Wachstums und der guten Operabilität der Metastasen in 70% der Fälle gut [4]. Der RZTK ist sehr selten primär maligne (<1%). Sekundär maligne Formen konnten vor allem bei Zustand nach Strahlentherapie beobachtet werden [5–7].

Symptomatik

Zum Diagnosezeitpunkt ist das Tumorstadium meist schon lokal fortgeschritten. Der RZTK weist häufig eine unspezifische, lokalisationsabhängige Symptomatik auf [1]. Häufig kommt es zu Schmerzen, Schwellungen und Bewegungseinschränkung der nahe des Tumors gelegenen Gelenke. Die Schmerzen treten über mehrere Monate auf und sind nur langsam progredient. In etwa 10–12% kommt es zu pathologischen Frakturen und akuter Exazerbation der Schmerzen [3, 4].



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

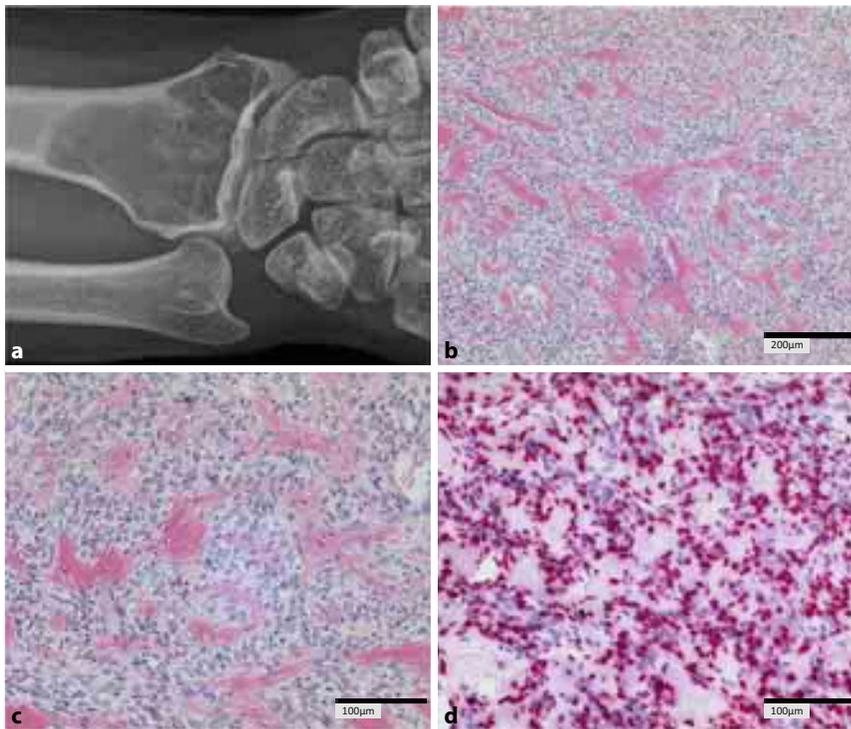


Abb. 1 ▲ Riesenzelltumoren des Knochens (RZTK) ohne Riesenzellen. **a** Röntgenaufnahme des Handgelenks mit osteolytischer Läsion an der distalen Ulna (© Benedikt Leinauer, Ulm; mit freundl. Genehmigung). **b** Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung zeigt mononukleäre Zellen und dazwischen Kollagenbündel. Osteoklasten sind nicht zu sehen. **c** Die mononukleäre Zellen sind oval und zeigen keine Atypien. **d** Der Großteil der mononukleären Zellen sind G34W-positiv gefärbt. (**b-d** © Felix Tschavoll, Ulm; mit freundl. Genehmigung)

Diagnostik

Bei klinischem Verdacht auf einen RZTK werden zuerst bildgebende Verfahren eingesetzt, allen voran das konventionelle Röntgen und als weiterführende Untersuchung die Magnetresonanztomographie. Eine native Computertomographie ist sinnvoll, um kortikale Ausdünnungen und pathologische Frakturen festzustellen sowie die Frakturheilung zu überwachen. Im Röntgenbild zeigt der RZTK eine meist exzentrisch gelegene, osteolytische Läsion mit gut definiertem, nichtsklerotischem Randsaum (■ **Abb. 1a**; [4, 8]). Im nächsten Schritt sollte eine Biopsie zur Histologiegewinnung angestrebt werden. Diese kann entweder chirurgisch durch Inzision oder minimal-invasiv, ultraschall- oder computertomographiegestützt durchgeführt werden [9]. Das biopsierte Gewebe zeigt im Regelfall ein charakteristisches histologisches Bild mit der mononukleären, neoplastischen und der reaktiven, osteoklastären Zellkomponente [2, 6]. Die reaktive Zellkomponente wird neben

den namensgebenden multinukleären, osteoklastischen Riesenzellen von mononukleären Zellen mit runden bis ovoiden Zellkernen gebildet, die die osteoklastären Vorläuferzellen darstellen. Die neoplastische Zellkomponente besteht aus den *H3F3A*-mutierten, spindelförmigen Stromazellen und deren Vorläuferzellen [1, 10, 11]. Die *H3F3A*-Mutation ist die charakteristische Treibermutation des RZTK und wird entweder durch Gensequenzanalyse oder gleichwertig durch immunhistochemische Färbung an formalinfixiertem Material mit einem mutationspezifischen Antikörper detektiert [12, 13]. Auch wenn die Mutation hochcharakteristisch für einen RZTK ist, gibt es in seltenen Fällen auch Osteosarkome, die *H3F3A*-mutiert sind. Dies konnte bisher nur für eine Subgruppe von Patienten, die älter als 30 Jahre sind, gezeigt werden. *H3F3A*-mutierte Osteosarkome zeigen außerdem ein Methylierungsprofil, das dem eines RZTK ähnelt, weshalb nicht auszuschließen ist, dass es sich bei diesen Osteosarkomen um transformierte RZTK handelt [14].

Riesenzelltumor ohne Riesenzellen

Der RZTK ist charakterisiert durch die hochspezifische Mutation im *H3F3A*-Gen. Der Nachweis dieser Mutation mittels Gensequenzanalyse oder immunhistochemischer Färbung ist ein wichtiger Bestandteil der RZTK-Diagnostik, um den RZTK von anderen riesenzellhaltigen Läsionen des Knochens wie der aneurysmatischen Knochenzyste, dem Chondroblastom, dem braunen Tumor im Rahmen eines Hyperparathyreoidismus und dem riesenzellhaltigen Osteosarkom abzugrenzen. Durch den Einsatz dieser Techniken konnte zudem gezeigt werden, dass das Spektrum des RZTK breit ist. Im Speziellen konnten in seltenen Fällen Tumoren beschrieben werden, die die *H3F3A*-Mutation tragen, ohne dass sich osteoklastäre Riesenzellen im Tumor nachweisen lassen ([2, 15–17]; ■ **Abb. 1b, c**). Diese RZTK ohne Riesenzellen zeigen neben der mononukleären, *H3F3A*-mutierten, neoplastischen Population uncharakteristische, sekundäre Veränderungen wie Einblutungen, die Ausbildung von Pseudozysten sowie Hämosiderinablagerungen und/oder resorptive Prozesse mit Nachweis von Schaumzellen [2]. Weiterhin treten histologische Veränderungen auf, die charakterisiert sind durch die Neubildung von Knochengewebe und morphologisch an Veränderungen des RZTK nach Denosumab-Therapie erinnern. Diese Veränderungen zeichnen sich neben dem Fehlen von Riesenzellen durch Neubildung von Geflechtknochen, dem Fehlen von nukleären Atypien und atypischen mitotischen Figuren bei niedriger mitotischer Aktivität sowie dem Fehlen von Nekrosen aus und unterstreichen den Stellenwert der *H3F3A*-Mutationsdiagnostik, um die Diagnose dieser speziellen Form eines RZTK zu sichern ([2, 15–17]; ■ **Abb. 1d**).

Therapie

Goldstandard in der Therapie des RZTK ist die bestmögliche chirurgische Entfernung. Dabei stehen je nach Ausdehnung sowie Lokalisation 2 Verfahren im Vordergrund: zum einen die Kürettage mit anschließender Auffüllung des Defekts mit Polymethylmethacrylat (PMMA) und zum anderen die En-bloc-Resektion. Beide Verfahren haben

Vor- und Nachteile. Während die totale Resektion im Vergleich zur Kürettage erhöhte Komplikationsgefahr, schlechtere funktionelle Resultate und gesteigerte Morbidität nach sich zieht, ist das Rezidivrisiko nach Kürettage höher als nach Resektion [1, 18]. Deshalb kommt die En-bloc-Resektion vor allem bei aggressiven, extraossär lokalisierten und wiederkehrend rezidivierenden RZTK zum Einsatz. Durch Kürettage des RZTK besteht eine Rezidivwahrscheinlichkeit von 20–65 % [4]. Das Rezidivrisiko kann durch den Einsatz von Hochgeschwindigkeitsbohrern, flüssigem Stickstoff, Phenol, Wasserstoffperoxid oder PMMA verringert werden [4, 19, 20]. Die PMMA-Zementierung bietet als weitere Vorteile, dass sie eine schnellere Mobilisierung der Patienten und eine bessere radiologische Früherkennung von Rezidiven ermöglicht [19, 21].

Aufgrund einer topographisch bedingten, primären Inoperabilität, z. B. im Becken, können auch Systemtherapien indiziert sein, die entweder neoadjuvant zum präoperativen Downstaging oder adjuvant zur Verbesserung des postoperativen Verlaufs eingesetzt werden [1]. Als Systemtherapien werden vor allem Bisphosphonate, Interferon- α (IFN- α) und Denosumab angewandt [1, 22]. Eine Strahlentherapie wird laut Leitlinie aufgrund des erhöhten Risikos der malignen Entartung nicht mehr empfohlen [4, 7, 23].

Denosumab

Der monoklonale, humanisierte IgG-2-Antikörper imitiert die physiologische Funktion von Osteoprotegerin (OPG), indem er mit hoher Affinität den Receptor-Activator-of-NF- κ B-Ligand (RANKL) bindet. Dadurch verringert Denosumab die für RZTK typische RANK-RANKL-Interaktion und den damit verbundenen übermäßigen Knochenabbau [24, 25].

Unter der Therapie mit Denosumab kommt es zu einer Pathomorphose des RZTK: Es finden sich nur noch sehr wenige bis gar keine Riesenzellen mehr, die Anzahl an neoplastischen Stromazellen nimmt ab und es kommt zur Sklerosierung und Neubildung von Geflechtknochen [26]. Diese Verknöcherung führt bei der neoadjuvanten Verabreichung von Denosumab dazu, dass es intraoperativ oft schwierig ist, die

genauen Ausmaße des Tumors zu erkennen und diesen vollständig zu kürettieren. Dieses Vorgehen scheint mit einer erhöhten Rezidivrate im Vergleich zur Kürettage ohne Vorbehandlung vergesellschaftet zu sein [27, 28].

Zu den möglichen Nebenwirkungen von Denosumab gehören Arthralgien, Kopfschmerzen, Übelkeit, Durchfall, Rückenschmerzen, Erschöpfung, Anämie und Kieferosteonekrosen. Zudem werden seltene Fälle von assoziierten Malignomen diskutiert [1, 22].

Pathophysiologie

Im gesunden Knochen wird die Homöostase durch eine Balance der Aktivität von Osteoklasten und Osteoblasten sowie durch die Differenzierung der letzteren zu reifen Osteozyten gesteuert. Diese Aktivität wird durch 3 Hauptmoleküle reguliert: RANK, seinen Liganden RANKL und Osteoprotegerin, ein lösliches Molekül aus der Familie der TNF-Rezeptoren [29, 30].

Im Knochen wird RANKL sowohl als Transmembranprotein als auch als lösliches Molekül von Osteoblasten exprimiert. Es kann an RANK, welches an der Oberfläche von Osteoklasten lokalisiert ist, binden. Durch diese Interaktion werden Osteoklastenvorläufer zur Reifung stimuliert und reife Osteoklasten aktiviert. Gleichzeitig exprimieren und sezernieren Osteoblasten OPG, das RANKL abfangen kann und seine Bindung an RANK verhindert. Dadurch wird eine Überaktivierung der Osteoklasten und so eine hohe Knochenresorption verhindert. Um den Knochenumsatz zu beschreiben, ist das Verhältnis von RANKL zu Osteoprotegerin wichtig (RANKL/OPG-Ratio) [29–31].

Im RZTK sind mindestens 3 Zellpopulationen beschrieben. Die mononukleären Stromazellen sind die eigentliche neoplastische Zellpopulation und tragen die Treibermutation im *H3F3A*-Gen. In ihrem Expressionsprofil findet man mehrere Proteine, die auch von Osteoblasten exprimiert werden, u. a. RANKL, Osteonectin, Sialoprotein, Osteopontin, Osterix und Runx2, während die mononukleären, histiozytären Zellen und die multinukleären Riesenzellen monozytären Ursprungs sind [10, 32–34].

Das lytische Verhalten des RZTK wird durch eine Disbalance im RANK-RANKL-OPG-System erklärt: In den neoplastischen Stromazellen wird RANKL überexprimiert und OPG unterexprimiert, wodurch sich das Verhältnis von RANKL zu OPG zugunsten eines erhöhten Knochenabbaus verschiebt. Dies wiederum verursacht eine gesteigerte Reifung und Aktivierung der Osteoklasten, die sich zu multinukleären Riesenzellen weiterentwickeln [35].

Die vermehrten Osteoklasten im RZTK synthetisieren verstärkt Moleküle wie Katespin K, V-ATPase und TRAP, die Hydroxylapatitkristalle im Knochen demineralisieren, die Knochenmatrix dephosphorylieren und die organischen Anteile des Knochens auflösen [10]. Ebenso scheinen Metalloproteinasen, die von den Riesenzellen sezerniert werden, eine wichtige Rolle im Abbauprozess des Knochens zu spielen [10].

Histon 3.3 und die Mutation G34W

Der RZTK ist durch die *G34W*-Mutation im Histon H3.3 charakterisiert. Histonmutationen können die Transkription der DNA beeinflussen und scheinen dadurch eine wichtige Rolle in der Tumorgenese zu spielen.

Lutsik et al. haben ausführlich die Folgen der Mutation H3.3-G34W im RZTK untersucht. Dieser Tumor zeigt eine sehr geringe Gesamtmutationshäufigkeit in H3.3-mutierten Zellen. Es konnte gezeigt werden, dass die H3.3-G34W die einzige wiederkehrende Mutation im RZTK ist und dass sie mit Veränderungen in epigenetischen Markern korreliert: Die mutierten Stromazellen zeigen genomweit ein reduziertes Methylierungsniveau und dadurch eine erhöhte Zugänglichkeit des Heterochromatins. Insbesondere wurde eine Hypomethylierung des RANKL-Promotors in den mutierten Zellen detektiert, was die Überexpression des Liganden in den neoplastischen Zellen erklärt. Gleichzeitig wurden verringerte Werte der Histonmarker H3K4me3 und H3K27ac im OPG-Lokus gemessen. Diese Histonmarker dienen normalerweise einer Aktivierung der Transkription naheliegender Gene. Wenn sie abwesend sind, ist die Transkription herunterreguliert. Eine weitere Untersuchung durch RNA-Sequenzierung zeigte eine re-

duzierte Expression des Tumorsuppressors EBF3 und eine nahezu erloschene Expression des Transkriptionsfaktors EBF2. Eine fokale Hypermethylierung der *EBF2*-Promotorregion, erhöhte Werte für H3K9me3 und H3K27me3 sowie verringerte Werte von H3K27ac belegen zudem eine Blockade von Osteoprotegerin. Zusätzlich ergab sich ein Verlust der Signale in ATAC-Sequenzen, was auf ein geschlossenes Chromatin im Bereich der *EBF2*-Promotorregion hindeutet [36].

Um die Auswirkungen der H3.3-G34W-Mutation auf das Epigenom zu überprüfen, wurde diese in HeLa-Zellen eingeführt. Die Folge war eine Hypomethylierung im Genom mit lediglich fokalen Hypermethylierungen, ähnlich wie in den Tumorzellen des RZTK [36].

Diese Ergebnisse stellen erstmalig eine Verbindung zwischen der einzigen wiederkehrenden Mutation im RZTK, H3.3-G34W, und den epigenetischen Veränderungen in den neoplastischen Stromazellen im Sinne einer genomweiten Hypomethylierung mit folgender Heterochromatininstabilität her. Diese epigenetischen Veränderungen können folglich direkt mit dem lytischen Verhalten des Tumors assoziiert werden [36].

Die Ergebnisse dieser Forschung sind nicht nur für das Verständnis des RZTK wichtig, welcher in dieser Arbeit als Modell benutzt wurde, sondern auch für weitere Tumoren gültig, die Mutationen in Histongenomen enthalten, wie z. B. Gliome und Chondroblastome [36].

Fazit und Ausblick

Charakteristisch für den RZTK ist ein gestörtes Verhältnis von RANKL zu OPG. Daraus resultiert eine starke Überstimulation von Vorläuferzellen von Osteoklasten und reifen Osteoklasten, welche sich zu Riesenzellen zusammenschließen und verstärkt Knochensubstanz abbauen. Diese vermehrte Sekretion von RANKL ist in RZTK assoziiert mit der hochcharakteristischen Histonmutation im *H3F3A*-Gen in der neoplastischen Stromazellpopulation. Der Nachweis dieser Mutation spielt in der Diagnostik eine wesentliche Rolle, da sie ein verlässlicher Marker für die Diagnose des RZTK ist und sich der RZTK dadurch sicher von riesenzellhaltigen Läsio-

nen wie der aneurysmatischen Knochenzyste, dem Chondroblastom, dem braunen Tumor im Rahmen eines Hyperparathyreoidismus und dem riesenzellhaltigen Osteosarkom abgrenzen lässt. Durch den Nachweis der Mutation konnte das Spektrum der RZTK erweitert und RZTK ohne osteoklastäre Riesenzellen beschrieben werden. Zudem konnte gezeigt werden, dass die *H3F3A*-Genmutation mit für die Überexpression von RANKL verantwortlich ist, da das veränderte epigenetische Profil der Tumorzellen und der resultierenden Hypomethylierung des Promotors des *H3F3A*-Gens zu einer Überexpression von RANKL führt. Dies ist nicht nur eine bahnbrechende Erkenntnis auf dem Gebiet des RZTK, sondern kann möglicherweise auch auf andere Tumorarten, in denen eine Histonmutation ursächlich für die Entstehung ist, ausgedehnt werden.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Thomas F. E. Barth

Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Ulm
Albert-Einstein-Allee 23, 89081 Ulm, Deutschland
thomas.barth@uniklinik-ulm.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. F. Tschavoll, G. Lutteri, B. Leinauer, K. Mellert, P. Möller und T.F.E. Barth geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. van der Heijden L, Dijkstra PDS, van de Sande MAJ, Kroep JR, Nout RA, van Rijswijk CSP et al (2014) The clinical approach toward giant cell tumor of bone. *The Oncol* 19(5):550–561
2. Antonescu CR, Blay J, Bovée JVMG et al (2020) WHO Classification of Tumors. Soft tissue and bone tumors. *International Agency for Research on Cancer*, S440–443
3. Turcotte R (2006) Giant cell tumor of bone. *Orthop Clin North Am* 37:35–51
4. Mavrogenis AF, Igoumenou VG, Megalokonomos PD, Panagopoulos GN, Papagelopoulos PJ, Soucacos PN (2017) Giant cell tumor of bone revisited. *SICOT J* 3:54
5. Aponte-Tinao L, Piuze N, Roitman P, Farfalli G (2015) A high-grade sarcoma arising in a patient with recurrent benign giant cell tumor of the proximal tibia while receiving treatment with denosumab. *Clin Orthop* 473:3050–3055
6. Brien E, Mirra J, Kessler S, Suen M, Ho J, Yang W (1997) Benign giant cell tumor of bone with osteosarcomatous transformation („dedifferentiated“ primary malignant GCT): Report of two cases. *Skelet Radiol* 26:246–255
7. Horvai A, Unni K (2006) Premalignant conditions of bone. *J Orthop Sci* 11:412–423
8. Chakarun C, Forrester D, Gottsegen C, Patel D, White E, Matcuk G (2013) Giant cell tumor of bone: review, mimics, and new developments in treatment. *Radiographics* 33:197–211
9. Mavrogenis AF, Angelini A, Errani C, Rimondi E (2014) How should musculoskeletal biopsies be performed? *Orthopedics* 37(9):585–588
10. Cowan R, Singh G (2013) Giant cell tumor of bone: a basic science perspective. *Bone* 52(1):238–246
11. Behjati S, Tarpey PS, Presneau N, Scheipl S, Pillay N, Van Loo Petal (2013) Distinct *H3F3A* and *H3F3B* driver mutations define chondroblastoma and giant cell tumor of bone. *Nat Genet* 45(12):1479–1482
12. Lücke J, von Baer A, Schreiber J, Lübbehüsen C, Breining T, Mellert K et al (2017) *H3F3A* mutation in giant cell tumour of the bone is detected by immunohistochemistry using a monoclonal antibody against the G34W mutated site of the histone H3.3 variant. *Histopathology* 71(1):125–133
13. Lübbehüsen C, Lücke J, Seeling C, Mellert K, Marienfeld R, von Baer A et al (2019) Characterization of three novel *H3F3A*-mutated giant cell tumor cell lines and targeting of their *wee1* pathway. *Sci Rep* 9(1):6458
14. Koelsche C, Schimpf D, Tharun L, Roth E, Sturm D, Jones DTW et al (2017) Histone 3.3 hotspot mutations in conventional osteosarcomas: a comprehensive clinical and molecular characterization of six *H3F3A* mutated cases. *Clin Sarcoma Res* 7:9
15. Leinauer B, Wolf E, Werner M, Baumhoer D, Breining T, Luecke AM et al (2021) *H3F3A*-mutated giant cell tumour of bone without giant cells—clinical presentation, radiology and histology of three cases. *Histopathology* 79(5):720–730
16. Takase H, Kato I, Ito J, Kawabata Y, Okabe T, Takeyama M et al (2023) Giant cell tumor of bone without giant cells with a long clinical course: a case report. *Int J Surg Pathol* 31(2):190–194
17. Yakoub MA, Torrence D, Hwang S, Bartelstein M, Healey JH, Hameed M (2023) Giant-cell-poor giant cell tumor of bone: report of two cases and literature review. *Skelet Radiol* 52(9):1791–1798
18. Sobti A, Agrawal P, Agarwala S, Agarwal M (2016) Giant cell tumor of bone—an overview. *Arch Bone Jt Surg* 4(1):2–9
19. Balke M, Schremper L, Gebert C, Ahrens H, Streitburger A, Koehler G et al (2008) Giant cell tumor of bone: treatment and outcome of 214 cases. *J Cancer Res Clin Oncol* 134(9):969–978
20. Errani C, Ruggieri P, Asenzio MAN, Toscano A, Colangeli S, Rimondi E et al (2010) Giant cell tumor of the extremity: a review of 349 cases from a single institution. *Cancer Treat Rev* 36(1):1–7
21. Kivioja AH, Blomqvist C, Hietaniemi K, Trovik C, Walloe A, Bauer HCF et al (2008) Cement is recommended in intralesional surgery of giant cell tumors: a Scandinavian Sarcoma Group study of 294 patients followed for a median time of 5 years. *Acta Orthop* 79(1):86–93
22. Chawla S, Henshaw R, Seeger L, Choy E, Blay JY, Ferrari S et al (2013) Safety and efficacy of denosumab for adults and skeletally mature

- adolescents with giant cell tumour of bone: interim analysis of an open-label, parallel-group, phase 2 study. *Lancet Oncol* 14(9):901–908
23. Feigenberg SJ, Marcus RB Jr, Zlotecki RA, Scarborough MT, Berrey BH, Enneking WF (2003) Radiation therapy for giant cell tumors of bone. *Clin Orthop* 411:207–216
 24. Dougall WC, Hohen I, González Suárez E (2014) Targeting RANKL in metastasis. *Bonekey Rep* 3:519
 25. Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS, Kostenuik PJ, Dougall WC, Sullivan JK et al (2012) Bench to bedside: elucidation of the OPG-RANK-RANKL pathway and the development of denosumab. *Nat Rev Drug Discov* 11(5):401–419
 26. Li H, Gao J, Gao Y, Lin N, Zheng M, Ye Z (2020) Denosumab in giant cell tumor of bone: current status and pitfalls. *Front Oncol* 10:580605
 27. Yang Y, Li Y, Liu W, Xu H, Niu X (2018) A nonrandomized controlled study of sacral giant cell tumors with preoperative treatment of denosumab. *Medicine* 97(46):e13139
 28. Errani C, Tsukamoto S, Mavrogenis AF (2017) How safe and effective is denosumab for bone giant cell tumour? *Int Orthop* 41(11):2397–2400
 29. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S et al (1998) Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(7):3597–3602
 30. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R et al (1997) Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89(2):309–319
 31. Boyce BF, Xing L (2008) Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys* 473(2):139–146
 32. Wülling M, Dellling G, Kaiser E (2003) The origin of the neoplastic stromal cell in giant cell tumor of bone. *Hum Pathol* 34(10):983–993
 33. Roux S, Amazit L, Meduri G, Guiochon-Mantel A, Milgrom E, Mariette X (2002) RANK (receptor activator of nuclear factor kappa B) and RANK ligand are expressed in giant cell tumors of bone. *Am J Clin Pathol* 117(2):210–216
 34. Kim Y, Nizami S, Goto H, Lee FY (2012) Modern interpretation of giant cell tumor of bone: predominantly osteoclastogenic stromal tumor. *Clin Orthop Surg* 4(2):107–116
 35. Huang L, Xu J, Wood DJ, Zheng MH (2000) Gene expression of osteoprotegerin ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappaB in giant cell tumor of bone: possible involvement in tumor cell-induced osteoclast-like cell formation. *Am J Pathol* 156(3):761–767
 36. Lutsik P, Baude A, Mancarella D, Öz S, Kühn A, Toth R et al (2020) Globally altered epigenetic landscape and delayed osteogenic differentiation in H3.3-G34W-mutant giant cell tumor of bone. *Nat Commun* 11(1):5414

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Giant cell tumor of bone—an update

In the past few years, numerous new insights have been gained in the field of giant cell tumor of bone (GCTB). On the one hand, the detection of the highly characteristic histone mutation in the *H3F3A* gene in GCTB is becoming increasingly important in diagnostics in differentiating GCTB from other giant cell-rich lesions of bone as well as for defining rare variants of GCTB without osteoclastic giant cells. On the other hand, the effects of the *H3F3A* mutation were shown to have an impact on the epigenetic profile of tumor-driving stromal cells, providing new insights into tumorigenesis of GCTB.

Keywords

Giant cell tumor of bone · Giant cells · *H3F3A* mutation · Epigenome · Methylation analysis

Weiterbildung zum Facharzt für Pathologie in der DDR

Eckhardt Schneider

Institut für Pathologie am Elspark, Standort Parkklinikum, Leipzig, Deutschland

Zusammenfassung

Die Pathologie in der DDR stand fest in der Tradition der deutschen Pathologie. Die Weiterbildung vermittelte fundierte morphologische Kenntnisse. Bis in die späten 1970er-Jahre war sie in erster Linie Obduktionspathologie. Wissenschaftliche Beziehungen mit dem Westen – vor allem mit Zentren, wo sich das Fach dynamisch entwickelte – waren aus politischen Gründen stark behindert; normale Tagungsbesuche waren nur wenigen ausgewählten Kadern möglich. Die ineffiziente Planwirtschaft führte zu zunehmenden materiellen Engpässen. Am Ende des DDR-Regimes wurde die Pathologie zum Relikt.

Schlüsselwörter

Pathologie · Weiterbildung · DDR · Obduktionen · Fortbildung · Berufsperspektiven

Historische und gesellschaftliche Prämissen. Die DDR war eine Diktatur, die sich euphemistisch „sozialistische Demokratie“ nannte. Die SED als Staatspartei organisierte die Gesellschaft straff zentralistisch und die Wirtschaft nach den Prinzipien der Planwirtschaft. Sie hat auf allen Ebenen der Gesellschaft ihren Macht- und Führungsanspruch konsequent durchgesetzt. Ohne ihr Plazet wurde keine Führungsposition besetzt. Der Staat war so das genaue Gegenteil der alten BRD.

Von der Deutschen Gesellschaft für Pathologie zur einer eigenen Fachgesellschaft in der DDR. Im Rahmen der Zwei-Staaten-Theorie mussten in der Mitte der 1960er-Jahre auf Druck der SED die DDR-Pathologen aus der DGP austreten. Nur wenige Kollegen verweigerten diesen Schritt. Im Jahr 1967 wurde die Gesellschaft für Pathologie der DDR gegründet. Die Akademie für Ärztliche Fortbildung der DDR war eine (virtuelle) Hochschule, die direkt dem Ministerium für Gesundheitswesen unterstellt war. Die Lehrstühle für die medizinischen Fächer hatten das Promotions- und Habilitationsrecht. Der Lehrstuhlinhaber war Vorsitzender der zen-

tralen Fachkommission, die aus weiteren Professoren und Dozenten bestand. Diese Fachkommission erarbeitete ein Weiterbildungsprogramm, das alle 5 Jahre aktualisiert wurde. Sie bestimmte auch den Modus des Facharztkolloquiums.

Pathologie in der DDR in Zahlen. Insgesamt gab es 62 Institute, davon 10 an Universitäten und Medizinischen Akademien, 32 an Bezirks-, 17 an Kreiskrankenhäusern und 3 sonstige (Wismut, Akademie der Wissenschaften und Polizeikrankenhaus). Im Jahr 1987 arbeiteten 379 Ärzte im Fach (44.000 Einwohner/Pathologe). Zum Vergleich: 2022 gab es in Deutschland 1709 berufstätige Pathologen (49.000 Einwohner/Pathologe). 1987: 52.478 Obduktionen (20,18% aller Verstorbenen) und 1,789 Mio. zytologische Untersuchungen. 1985: 717.693 histologische Untersuchungen [1].

Fachliches Umfeld für die Weiterzubildenden. Bis zum Ende der 1970er-Jahre war die Pathologie in der DDR in erster Linie Obduktionspathologie. Der „Turn to Biopsy“ fand in der BRD ca. 10 Jahre eher statt. Das lag an den zunehmenden ma-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

teriellen Engpässen der ineffizienten Planwirtschaft. Moderne westliche Geräte wurden nur sporadisch importiert. Sie fehlten sowohl in der Klinik (z. B. Endoskope) als auch in den Laboren der Pathologien. Die aufkommende Immunhistochemie konnte nie routinemäßig eingeführt werden. Sie war punktuell möglich durch Privatbeziehungen von Kollegen in den Westen! Die internationalen Fachbücher (Standardwerke) waren – für die tägliche Diagnostik unerreichbar – in Bibliotheken gelagert. Tagungsbesuche waren nur innerhalb der DDR möglich, auch manchmal im sogenannten sozialistischen Ausland, jedoch nie dort, wo sich das Fach dynamisch entwickelte. Regelmäßige klinische Demonstrationen von Obduktionsbefunden im Hörsaal waren dagegen Orte lebhafter fachlicher Dispute. Anwesend waren immer die Leiter der Kliniken, die Oberärzte und viele Assistenten. Die Allgemeine Pathologie war in allen fachlichen Diskussionen immer präsent. Sie nahm 50 % des studentischen Unterrichts ein.

Die Weiterbildung zum Facharzt. Die Weiterbildung zum Facharzt dauerte 4–5 Jahre. In dieser Zeit mussten 500 Obduktionen selbst durchgeführt und 5000 Biopsien begutachtet werden. Insgesamt 3 Monate mussten in der Gerichtsmedizin, 6 Monate in der Paidopathologie und 3 Monate in der Neuropathologie absolviert werden. Die Facharztprüfung fand am Arbeitsort des Vorsitzenden der zentralen Fachkommission statt und nahm 1–2 Tage in Anspruch – in Abhängigkeit von der Zahl der Kandidaten. Sie begann mit einer schriftlichen Klausur mit jeweils 20 Fragen aus der Allgemeinen und 20 Fragen aus der Speziellen Pathologie. Nach einer Pause musste jeder 20 histologische Präparate befunden. Danach begann die mündliche Prüfung, deren Dauer vom Wissensstand des Kandidaten abhing und bis 1,5 h dauern konnte. Die Prüfungskommission bestand aus mindestens 6 Professoren und Chefärzten.

Zusammenfassend stand die Pathologie in der DDR fest in der Tradition der deutschen Pathologie. Die Weiterbildung vermittelte fundierte morphologische Kenntnisse. Kollegen, die vor 1989 in die BRD übersiedelten, konnten dort rasch im Fach Fuß fassen. Sie war aber zunehmend von al-

Further training to become a specialist in pathology in the GDR

Pathology in the GDR was firmly rooted in the tradition of German pathology. Further training imparted sound morphological knowledge. Until the late 1970s, it was primarily autopsy pathology. Scientific relations with the West—with centers where the discipline was developing dynamically—were severely hampered for political reasons; normal conference attendance was reserved for a few selected cadres. The inefficiency of the planned economy led to increasing material bottlenecks. GDR pathology had become a relic by the end of the GDR regime.

Keywords

Pathology · Residency · GDR · Autopsy · Education · Professional perspectives

len modernen Entwicklungen abgeschnitten, besonders von denen im angloamerikanischen Raum. So ist sie am Ende des DDR-Regimes (1990) mehr oder weniger zum Relikt geworden.

Korrespondenzadresse

Dr. med. Eckhardt Schneider

Institut für Pathologie am Elspark, Standort
Parkklinikum
Strümpellstr. 41, 04289 Leipzig, Deutschland
schneider@pathologie.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. E. Schneider gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. Loppar M (1989) Zur Geschichte der Gesellschaft für Pathologie der DDR. In: Diss., Akademie für Ärztliche Fortbildung der DDR

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Digital image analysis and artificial intelligence in pathology diagnostics—the Swiss view

Sabina Berezowska¹ · Gieri Cathomas² · Rainer Grobholz^{3,4} · Maurice Henkel^{5,6,7} · Wolfram Jochum⁸ · Viktor H. Koelzer⁹ · Mario Kreuzfeldt^{10,11} · Kirsten D. Mertz¹² · Matthias Rössle¹³ · Davide Soldini¹⁴ · Inti Zlobec¹⁵ · Andrew Janowczyk^{16,17,18}

¹Institut Universitaire de Pathologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV), Lausanne, Switzerland; ²Institute of Tissue Medicine and Pathology, University of Bern, Bern, Switzerland; ³Medical Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland; ⁴Institute of Pathology, Cantonal Hospital Aarau, Aarau, Switzerland; ⁵Research & Analytic Services, University Hospital Basel, Basel, Switzerland; ⁶Institute of Radiology, University Hospital Basel, Basel, Switzerland; ⁷University Basel, Basel, Switzerland; ⁸Institute of Pathology, Cantonal Hospital St. Gallen, St. Gallen, Switzerland; ⁹Department of Pathology and Molecular Pathology, University and University Hospital of Zurich, Zurich, Switzerland; ¹⁰Department of Pathology and Immunology, University of Geneva, Geneva, Switzerland; ¹¹Division of Clinical Pathology, Geneva University Hospital, Geneva, Switzerland; ¹²Institute of Pathology, Cantonal Hospital Baselland, Liestal, Switzerland; ¹³Pathologie, Luzerner Kantonsspital, Luzern 16, Switzerland; ¹⁴Pathologie Zentrum Zürich medica, Zürich, Switzerland; ¹⁵Institute of Tissue Medicine and Pathology, University of Bern, Bern, Switzerland; ¹⁶Department of Biomedical Engineering, Emory University, Atlanta, USA; ¹⁷Department of Oncology, Division of Precision Oncology, Geneva University Hospitals, Geneva, Switzerland; ¹⁸Department of Diagnostics, Division of Clinical Pathology, Geneva University Hospitals, Geneva, Switzerland

Abstract

Digital pathology (DP) is increasingly entering routine clinical pathology diagnostics. As digitization of the routine caseload advances, implementation of digital image analysis algorithms and artificial intelligence tools becomes not only attainable, but also desirable in daily sign out. The Swiss Digital Pathology Consortium (SDiPath) has initiated a Delphi process to generate best-practice recommendations for various phases of the process of digitization in pathology for the local Swiss environment, encompassing the following four topics: i) scanners, quality assurance, and validation of scans; ii) integration of scanners and systems into the pathology laboratory information system; iii) the digital workflow; and iv) digital image analysis (DIA)/artificial intelligence (AI). The current article focuses on the DIA-/AI-related recommendations generated and agreed upon by the working group and further verified by the Delphi process among the members of SDiPath. Importantly, they include the view and the currently perceived needs of practicing pathologists from multiple academic and cantonal hospitals as well as private practices.

Keywords

Pathology · Digitalization · Image analysis · Artificial intelligence · Delphi process



Scan QR code & read article online

In early 2021, the Swiss Digital Pathology Consortium (SDiPath) initiated a Delphi process to generate best-practice recommendations for various phases of the process of digitization in pathology for the local Swiss environment, encompassing the following four topics: (i) scanners, quality

assurance, and validation of scans; (ii) integration of scanners and systems into the pathology laboratory information system; (iii) the digital workflow; and (iv) digital image analysis (DIA)/artificial intelligence (AI). As digital pathology (DP) is increasingly integrated into routine clinical

cal pathological diagnostics by academic and private pathology institutes, setting up national recommendations to standardize procedures and support implementation was perceived as a current need [1–4]. This includes the implementation of DIA algorithms and AI tools, as they have become increasingly attainable and desirable in daily sign out.

Herein, we briefly outline the recommendations related to the validation and use of DIA and AI as it applies to the algorithm-aided extraction of information from histological images to support clinical decision making. The recommendations generated were drafted by a dedicated DIA/AI working group and were subsequently verified by members of SDiPath ($N=25$) using a Delphi process. All members of SDiPath ($N>170$) were encouraged to participate. Importantly, the recommendations include the view and the currently perceived needs of practicing pathologists from multiple academic and cantonal hospitals as well as private practices, who comprised 76% of the responding participants. The rest of the participants were scientists, IT personnel, and laboratory staff. We refer the reader to the original guideline publication for an in-depth discussion of the recommendations [5].

Compliance with general quality guidelines

The SDiPath guidelines affirm that DIA/AI intended for diagnostic use needs to be designed in compliance with current laws and regulatory requirements for medical devices, i.e., only officially certified systems (e.g., IVD-CE certified, FDA-approved) or lab-developed systems properly validated with respect to quality control and quality assurance can be applied. Also, and equally important, it is the board-certified pathologist who determines and is legally responsible for the finally rendered diagnosis. If DIA/AI output is used without being approved by a board-certified pathologist, this is considered off-label use. In line with the existing legal requirement to store all glass slides the diagnoses were generated on, we recommend storing the results of the DIA/AI analysis to allow diagnosis retracing. All

steps should be documented in a standard operating procedure (SOP) document.

An internal validation of the system on relevant specimens mirroring the real-world clinical use is recommended, even if the system is officially certified (e.g., IVD-CE certified, FDA-approved) to ensure consistency of performance. Documentation of metadata of the scans, the software used, and the validation protocol as well as the performance of the software (reproducibility, intra-observer variability, and known problems regarding performance) should be provided. When validating the system, a concordance testing needs to be carried out and revalidation shall be performed whenever changes are made in the workflow.

Workflow considerations

Quality control steps verifying that the scans are suitable for analysis and that all relevant areas have been analyzed are required. User training, personnel, and technical requirements, as well as SOPs for hardware and software malfunctions and management updates, need to be provided. In-depth information about the type and application of the DIA/AI system used in the diagnostic process (including quality control measures and validation steps) needs to be included into the pathology report. There are also multiple technical properties that were agreed on to be paramount. In short, the DIA/AI systems need to be well integrated into the pathology workflow environment and automated, in order to enable streamlining of the diagnostic process in the era of increasing workload.

Importantly, for the pathologist, it is most desirable to have visual control of the algorithm's results, and this should highlight the regions which determined its output. Understanding how the system is generating output and decisions becomes increasingly more critical as the level of autonomy of these systems will rise in the future. It is suggested that the systems should enable a feedback loop to improve performance.

As a last comment, finding parallels with the multiple comments regarding where "Back to the Future II" was wrong in predicting current everyday life and

technology [6, 7], we appreciate that the technological possibilities and standards as well as knowledge in the field of digital pathology are developing rapidly. The current recommendations, published elsewhere in full length [5], have been generated to facilitate current development and implementation and shall be reviewed and updated as technology advances.

Corresponding address

Prof. Dr. med. Sabina Berezowska
Institut Universitaire de Pathologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV)
Rue du Bugnon 25, 1011 Lausanne, Switzerland
sabina.berezowska@chuv.ch

Funding. Open access funding provided by University of Lausanne

Declarations

Conflict of interest. V.H. Koelzer reports being an invited speaker for Sharing Progress in Cancer Care (SPCC) and Indica Labs; advisory board of Takeda; sponsored research agreements with Roche and IAG, all unrelated to the current study. S. Berezowska, G. Cathomas, R. Grobholz, M. Henkel, W. Jochum, M. Kreutzfeldt, K.D. Mertz, M. Rössle, D. Soldini, I. Zlobec and A. Janowczyk declare that they have no competing interests.

For this article no studies with human participants or animals were performed by any of the authors. All studies mentioned were in accordance with the ethical standards indicated in each case.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Open Access. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

1. Hanna MG, Reuter VE, Samboy J, England C, Corsale L, Fine SW et al (2019) Implementation of digital pathology offers clinical and operational increase in efficiency and cost savings. *Arch Pathol Lab Med* 143(12):1545–1555

2. Janowczyk A, Baumhoer D, Dirnhofer S, Grobholz R, Kipar A, de Leval L et al (2022) Towards a national strategy for digital pathology in Switzerland. *virchows Arch* 481(4):647–652
3. Koelzer VH, Grobholz R, Zlobec I, Janowczyk A, Swiss Digital Pathology C (2021) Update on the current opinion, status and future development of digital pathology in Switzerland in light of COVID-19. *J Clin Pathol* 75(10):687–689
4. Unternaehrer J, Grobholz R, Janowczyk A, Zlobec I, Swiss Digital Pathology C (2020) Current opinion, status and future development of digital pathology in Switzerland. *J Clin Pathol* 73(6):341–346
5. the Swiss Digital Pathology Consortium, Janowczyk A, Zlobec I, Walker C, Berezowska S, Huschauer V et al (2023) Swiss digital pathology recommendations: results from a Delphi process conducted by the Swiss digital pathology consortium of the Swiss society of pathology. *medRxiv* (2023.09.15.23295616)
6. Schofeld Z (2014) Everything 'back to the future part II' got right and wrong about 2015, according to futurists. *Newsweek*
7. Shoard C (2015) Back to the future day: what part II got right and wrong about 2015—an A–Z. *Guardian*

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Digitale Bildanalyse und künstliche Intelligenz in der Pathologie – die Schweizer Perspektive

Digitale Pathologie (DP) wird zunehmend in der Routinediagnostik der klinischen Pathologie eingesetzt. Mit fortschreitender Digitalisierung der Routinefälle wird die Implementierung digitaler Bildanalysealgorithmen und künstlicher Intelligenz nicht nur machbar, sondern auch für die tägliche Praxis wünschenswert. Das Schweizer Konsortium für Digitale Pathologie (Swiss Digital Pathology Consortium, SDiPath) hat einen Delphi-Prozess initiiert, um Empfehlungen für das beste Vorgehen in Bezug auf verschiedene Phasen des Digitalisierungsprozesses in der Pathologie für die lokalen Verhältnisse in der Schweiz zu erstellen, dazu gehören die folgenden 4 Themen: i) Scanner, Qualitätssicherung und Validierung der eingescannten Schnittpräparate; ii) Integration von Scannern und Systemen in das Laborinformationssystem; iii) der digitale Arbeitsablauf; und iv) digitale Bildanalyse (DIA)/künstliche Intelligenz (KI). Im vorliegenden Beitrag liegt der Schwerpunkt auf den Empfehlungen hinsichtlich DIA und KI, die von einer Arbeitsgruppe erarbeitet und mittels Delphi-Prozess durch die Mitglieder des SDiPath-Konsortiums bestätigt wurden. Wichtig ist, dass sie die Ansichten und die aktuellen Bedürfnisse praktisch tätiger Pathologen aus verschiedenen Lehr- und Kantonsspitalern sowie aus privaten Praxen einbeziehen.

Schlüsselwörter

Pathologie · Digitalisierung · Bildanalyse · Künstliche Intelligenz · Delphi Befragung

National digital pathology projects in Switzerland: A 2023 update

Rainer Grobholz^{1,2} · Andrew Janowczyk^{3,4,5} · Ana Leni Frei⁶ · Mario Kreutzfeldt⁷ · Viktor H. Koelzer⁸ · Inti Zlobec⁶

¹ Medical Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland; ² Institute of Pathology, Kantonsspital Aarau, Aarau, Switzerland; ³ Department of Biomedical Engineering, Emory University, Atlanta, USA; ⁴ Department of Oncology, Division of Precision Oncology, University Hospital of Geneva, Geneva, Switzerland; ⁵ Department of Diagnostics, Division of Clinical Pathology, University Hospital of Geneva, Geneva, Switzerland; ⁶ Institute for Tissue Medicine and Pathology, University Bern, Bern, Switzerland; ⁷ Department of Pathology and Immunology, Division of Clinical Pathology, University & University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland; ⁸ Department of Pathology und Molecular Pathology, University Hospital Zurich, University of Zurich, Zurich, Switzerland

Abstract

The Swiss Digital Pathology Consortium (SDiPath) was founded in 2018 as a working group of the Swiss Society for Pathology with the aim of networking, training, and promoting digital pathology (DP) at a national level. Since then, two national surveys have been carried out on the level of knowledge, dissemination, use, and needs in DP, which have resulted in clear fields of action. In addition to organizing symposia and workshops, national guidelines were drawn up and an initiative for a national DP platform actively codesigned. With the growing use of digital image processing and artificial intelligence tools, continuous monitoring, evaluation, and exchange of experiences will be pursued, along with best practices.

Keywords

Digital pathology · National strategies · Digital image analysis · National Guidelines · National Surveys

Digitization in medicine is advancing in leaps and bounds, particularly in the areas of data processing, data transmission, and accessibility of stored data. In the field of diagnostics, computer-aided systems have been in operation for many years in the context of research or, in some cases, clinical applications. Systems first developed in the early 1980s used video technology to enable live transmission of image material for collaborative diagnostics between hospitals. During this time, the term “telepathology” was coined under the generic term “telemedicine” [1]. As early as 1986, “robotic dynamic telepathology” was demonstrated for the first time, using satellite-based remote control of a motorized microscope and simultaneous video image transmission [1]. From these first steps, digitization

in pathology slowly evolved together with the new possibilities offered by computer technology. However, the term “digital pathology” (DP) was only first coined in 1999 [2]. Interestingly, since both terms were coined, the PubMed database has listed only 1346 (1986–07/2023) articles for the search term “telepathology,” while the term “digital pathology” has produced 2583 (1999–07/2023) articles, suggesting a strong recent uptake by the community (■ Fig. 1). The first vision of scanned slide preparations and an “electronic microscope” for use in consultation pathology was expressed in the literature in the year 2000 [3]. Due to the advancement of technology and the consistent development of the digitization of slides through scanner technology, the systems were able to reach market maturity [4]. Approval for



Scan QR code & read article online

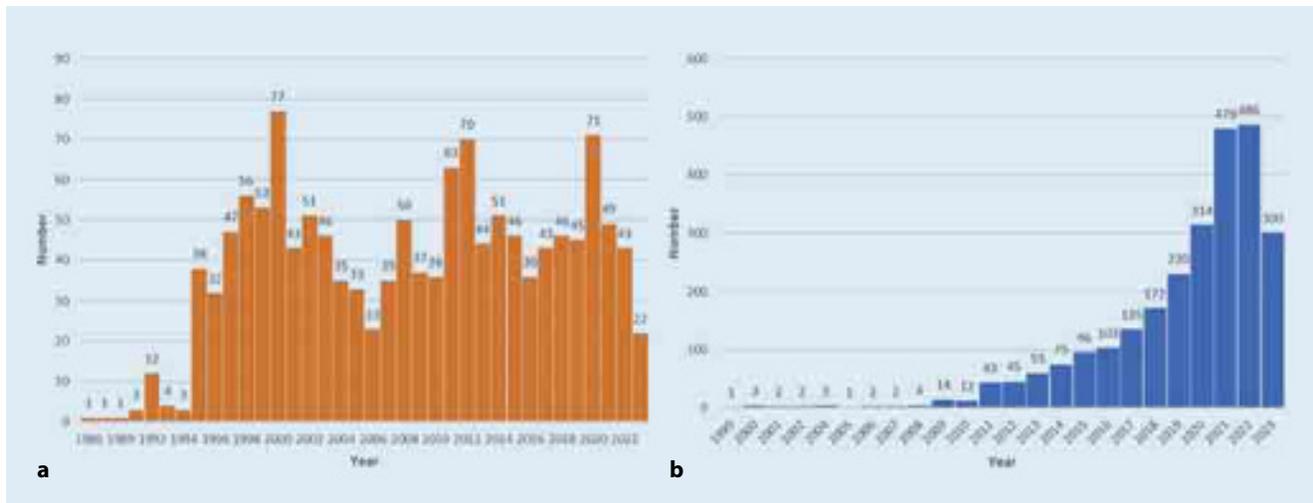


Fig. 1 **a** PubMed-listed publications for “telepathology” 1986–07/2023 ($n = 1346$), **b** PubMed-listed publications for “digital pathology” 1999–07/2023 ($n = 2583$)

diagnostic operation of the scanners was first granted in Europe through CE certification in 2014, and in the USA by the Food and Drug Administration in 2017 [5]. This paved the way for their entry into daily clinical practice.

Due to the increasing adoption of DP in Switzerland, the “Swiss Digital Pathology Consortium” (SDiPath) was founded in 2018 as a working group of the Swiss Society of Pathology (SSPath), and currently has over 170 members. The objectives of SDiPath are:

- networking and exchange of all professional groups involved in DP (pathologists, researchers, laboratory staff, IT technologists, developers);
- continuing education in the special aspects of DP;
- platform and coordination of research projects; and
- promotion of digitization in pathology on a national level.

In addition to its own website (www.sdipath.ch), information about latest articles, activities, and training is shared in a quick and easy manner via a Google Groups mailing list.

National surveys on digital pathology

At the beginning of SDiPath’s work, a survey was conducted in 2019 to determine the current state of knowledge and dis-

semination of DP in Switzerland. For this purpose, a questionnaire was generated with 12 questions focusing on a) personal experiences, b) experiences with digital sections and image analysis systems, c) opinions on the development of DP, and d) general advantages and disadvantages of DP [6]. During an SSPath slide seminar with the topic “immunohistochemistry,” the questionnaire was distributed and completed by 134 of 159 participants.

This survey showed that in international comparison, there was a relatively high level of experience in Switzerland in the handling and usage of digital sectioning preparations (89% of respondents), and limited experience in the use of image analysis systems (34% of respondents). Attitudes toward DP were positive (82%), and 66% could envision performing diagnostics completely digitally. Only 10% showed a completely negative attitude. Advantages of DP mentioned were availability of slides, reproducibility of measurements, remote access to sections, obtaining second opinions, image analysis, and training and education. Disadvantages mentioned were the IT infrastructure, the insufficient possibility of digitizing special methods such as polarization, the costs/billing, the different image formats, the non-existing standardization, along with the loss of knowledge in the use of microscopes.

From these results, the need for knowledge transfer, training, and visibility of DP through SDiPath could be clearly seen.

In 2018–2023, a total of seven symposia, three workshops, and one slide seminar on digital pathology were hosted. SDiPath also participated in hosting one DP course and two symposia on DP in the three-country Germany–Austria–Switzerland (DACH) region.

The symposia were focused on exchange of experiences, scientific projects, and keynote lectures. Two events were held together with industry, providing attendees with an overview of the current commercial DP platforms/scanners and image processing systems as well as artificial intelligence solutions.

With the COVID-19 pandemic, work patterns in pathology changed abruptly and digitization has received a significant boost in times of recommended and/or mandated home office work. To understand the impact of the pandemic on the status of DP, a renewed national survey on this topic was conducted [7]. For this purpose, a questionnaire with 21 questions on a) general working environment and experiences with DP; b) DP system design, structure, and use; c) DP system application during the pandemic; and d) specific staffing, technical, and organizational challenges was used.

Due to the pandemic situation, the questionnaire was created electronically in Google Forms, and all members of SDiPath and SSPath were invited via email. Non-members of the societies were invited via their respective supervisors. A total of

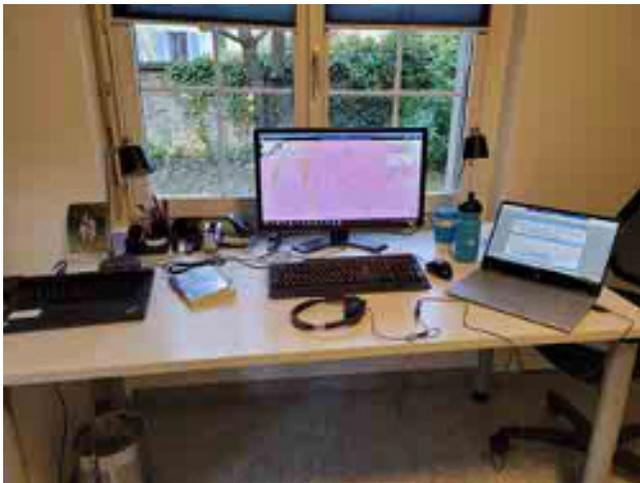


Fig. 2 ◀ Home office workplace for remote diagnostics by digital pathology (© Dr. Alejandra Magagna, with kind permission)

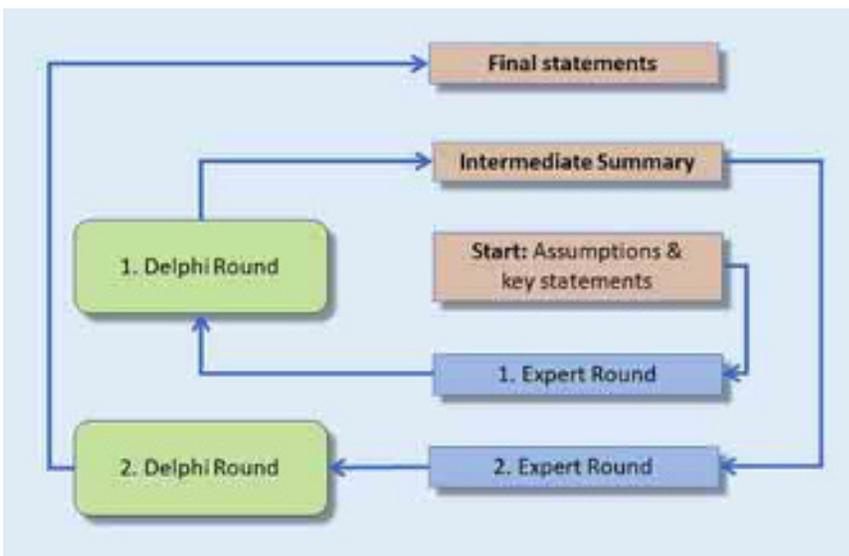


Fig. 3 ▲ Development of the guidelines with the help of the Delphi method

74 participants (18.6% of SSPath members) completed the questionnaire, and 40.5% reported experience with > 100 digital slices in routine diagnostics, with 39.2% having a DP system established and in use. The proportion of users for primary diagnostics was 13.5% before and 30% during the pandemic. Notably, DP offered the option of home office (■ Fig. 2), which was used by 40.6% of participants. Challenges included obtaining additional hardware (monitors, additional scanners) and establishing the remote connection. Due to the unanticipated pandemic, only 20.5% had a standard operating procedure in place for routine DP use.

National Guidelines for DP

From these results, it was evident that compared to the first survey, digitization and use in routine diagnostics had continued to increase. Due to the lack of national guidelines, SDiPath convened four working groups to develop current guidelines based on previously existing guidelines from other national societies of pathology [8–14]. The evaluation was performed using a Delphi method, in which the participating experts vote on the respective points. In case of discordance, the individual points are discussed, revised, and put to another round of voting. This process is repeated until a consensus is reached for all points (■ Fig. 3).

In addition to adapting the guidelines to national circumstances, recommendations for dealing with digital image analysis (DIA) and artificial intelligence (AI) tools were developed in a separate chapter (publication under review, preprint available: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.09.15.23295616v1>). These recommendations are also elaborated in the article by S. Berezowska in this volume of *Die Pathologie*.

National study on determination of the tumor cell fraction

Since it was apparent from the previous surveys that there is a great desire for support and standardization of quantification in pathology, a national study was conducted to estimate the tumor cell fraction with and without the use of a DIA tool. For this purpose, one representative hematoxylin/eosin-stained image of each of 10 colorectal tumors was selected at a 400× magnification, each with a different tumor cell content. Tumor cell quantification was performed in two stages: a) manually and b) aided by DIA. As part of an SSPath slide seminar, 69 participants took part in the study. In the first stage, participants were asked to indicate the tumor cell fraction without DIA support in the 10 tumor images. In the second stage, the same images were shown again, but this time with the result of the DIA algorithm overlaid. Finally, for each case, participants indicated whether DIA was helpful in the assessment. The results showed that inter-observer variability significantly decreased and participants were significantly more comfortable with their estimation result using DIA than without [15].

National Digital Pathology Initiative

The increasing digitization offers the opportunity at this stage to establish unified national platforms to enable regulated data exchange. This is especially helpful for research and daily clinical work, as data are available in a standardized form. Under the leadership of V.H. Koelzer, the five Swiss medical faculties and SDiPath have worked out the establishment of a Swiss Digital Pathology Infrastructure (SDPI), which,

once established, will provide in a first step the generation of uniform slide scans and a unified platform for anonymized digital section preparations and clinical data for a common data exchange [16]. In a second step, expansion to non-university facilities is planned. The SDPI has been included in the roadmap of research infrastructures of the State Secretariat for Education, Research, and Innovation with a funding volume of CHF 18.4 million (https://www.sbf.admin.ch/sbf/de/home/dienstleistungen/publikationen/publikationsdatenbank/roadmap_forschungsinfrastrukturen_2023.html). The final funding decision is expected in February 2024.

Outlook

SDiPath will continue to accompany the further development of DP and will promote and support digitization by regular symposia and workshops. With the increasing use of DIA and AI tools in routine diagnostics, the question of invoicing of this service moves into the foreground, which requires the development of appropriate recommendations. The digitization in pathology will continue to grow and active support is therefore of great importance.

Corresponding address

Prof. Dr. Rainer Grobholz

Institute of Pathology, Kantonsspital Aarau
Tellstr. 25, 5001 Aarau, Switzerland
rainer.grobholz@ksa.ch

Acknowledgements. The authors like to thank Dr. Alejandra Magagna for providing the picture of the home office workplace.

Funding. Open access funding provided by University of Zurich

Declarations

Conflict of interest. V.H. Koelzer: Invited speaker for Sharing Progress in Cancer Care (SPCC) and Indica Labs; advisory board of Takeda; sponsored research agreements with Roche and IAG all unrelated to the current study. R. Grobholz, A. Janowczyk, A.L. Frei, M. Kreutzfeldt, and I. Zlobec declare that they have no competing interests.

Nationale Projekte für digitale Pathologie in der Schweiz: Update 2023

Das Schweizer Konsortium für Digitale Pathologie (Swiss Digital Pathology Consortium, SDiPath) wurde 2018 als Arbeitsgruppe der Schweizerischen Gesellschaft für Pathologie gegründet mit der Zielsetzung der Vernetzung, Fortbildung und Förderung der digitalen Pathologie (DP) auf nationaler Ebene. Seither wurden 2 nationale Umfragen zum Kenntnisstand, der Verbreitung, Verwendung und der Bedürfnisse in der DP durchgeführt, aus welchen sich klare Handlungsfelder ergeben haben. Neben der Ausrichtung von Symposien und Workshops wurden nationale Leitlinien erarbeitet und eine Initiative für eine nationale DP-Plattform aktiv mitgestaltet. Mit dem zunehmenden Einsatz von digitaler Bildverarbeitung und künstlicher Intelligenz werden die kontinuierliche Begleitung, die Evaluation und der Austausch von Erfahrungen sowie bewährten praktischen Ansätzen weiterverfolgt.

Schlüsselwörter

Digitale Pathologie · Nationale Strategien · Digitale Bildanalyse · Nationale Leitlinien · Nationale Umfragen

For this article no studies with human participants or animals were performed by any of the authors. All studies mentioned were in accordance with the ethical standards indicated in each case.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Open Access. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

References

- Weinstein RS, Holcomb MJ, Krupinski EA (2019) Invention and early history of telepathology (1985–2000). *J Pathol Inform* 10:1
- Kayser K, Kayser G, Radziszowski Det al (1999) From telepathology to virtual pathology institution: the new world of digital pathology. *Rom J Morphol Embryol* 45:3–9
- Saltz JH (2000) Digital pathology—the big picture. *Hum Pathol* 31:779–780
- Grobholz R (2018) Digital pathology: the time has come! *Pathologie* 39:228–235
- Garcia-Rojo M, De MD, Muriel-Cueto P et al (2019) New European Union regulations related to whole slide image scanners and image analysis software. *J Pathol Inform* 10:2
- Unternaehrer J, Grobholz R, Janowczyk A et al (2020) Current opinion, status and future development of digital pathology in Switzerland. *J Clin Pathol* 73:341–346
- Koelzer VH, Grobholz R, Zlobec I et al (2022) Update on the current opinion, status and future development of digital pathology in Switzerland in light of COVID-19. *J Clin Pathol* 75:687–689
- Evans AJ, Brown RW, Bui MM et al (2022) Validating whole slide imaging systems for diagnostic purposes in pathology. *Arch Pathol Lab Med* 146:440–450
- Bernard C, Chandrakanth SA, Cornell IS et al (2014) Guidelines from the Canadian association of pathologists for establishing a telepathology service for anatomic pathology using whole-slide imaging. *J Pathol Inform* 5:15
- Chong Y, Kim DC, Jung CK et al (2020) Recommendations for pathologic practice using digital pathology: consensus report of the Korean Society of Pathologists. *J Pathol Transl Med* 54:437–452
- Hufnagl P, Zwönitzer R, Haroske G (2018) Leitfaden Digitale Pathologie. Berufsverband Deutscher Pathologen, Berlin. https://www.pathologie.de/fachinfos/nachschlagewerke-handbuchreihe/leitfaeden/leitfaeden-detailansicht/?tx_ttnews%5Btt_news%5D=1480&cHash=ec31a0751fdcf421977056e5aafdd387. Accessed 7 Aug 2023
- The Royal College of Pathologists of Australasia (2020) Guidelines for Digital Microscopy in Anatomical Pathology and Cytology. Surry Hills NSW. <https://www.rcpa.edu.au/library/Practising-Pathology/NCRPQF/Docs/Guidelines-for-Digital-Microscopy-in-Anatomical-Pa>. Accessed 7 Aug 2023
- Williams BJ, Brettell D, Aslam M et al (2020) Guidance for remote reporting of digital pathology slides during periods of exceptional service pressure: an emergency response from the UK royal college of pathologists. *J Pathol Inform* 11:12
- Garcia-Rojo M (2016) International clinical guidelines for the adoption of digital pathology: a review of technical aspects. *Pathobiology* 83:99–109
- Frei AL, Oberson R, Baumann E et al (2023) Pathologist computer-aided diagnostic scoring of tumor cell fraction: a Swiss national study. *Modern Pathology* 36:100335
- Janowczyk A, Baumhoer D, Dirnhofer S et al (2022) Towards a national strategy for digital pathology in Switzerland. *Virchows Arch* 481:647–652

Publisher's Note. Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S229–S231
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01278-2
Angenommen: 30. Oktober 2023
Online publiziert: 21. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Digitale Pathologie in Österreich

Christoph Schatz¹ · Adelina Qerimi¹ · Johannes Haybaeck^{2,3}

¹Institut für Pathologie, Neuropathologie und Molekularpathologie, Medizinische Universität Innsbruck, Innsbruck, Österreich

²Tyrolpath Obrist Brunhuber, Zams, Österreich

³Diagnostik- und Forschungszentrum für Molekulare Biomedizin, Institut für Pathologie, Medizinische Universität Graz, Graz, Österreich

Zusammenfassung

Die Situation zur digitalen Pathologie in Österreich ist im internationalen Vergleich überschaubar. Exemplarisch werden das Konsortium EMPAIA, die privat-öffentliche Partnerschaft Bigpicture, die Österreichische Gesellschaft für Klinische Pathologie und Molekularpathologie (ÖGPath), das Unternehmen TissueGnostics und die Österreichische Plattform für Personalisierte Medizin (ÖPPM) genannt, die in Österreich aktiv sind.

Schlüsselwörter

Metadaten Objektträger · Telepathologie · KI · Befundung · Digitale Objektträger

Was versteht man unter Digitaler Pathologie?

Die digitale Pathologie wird immer mehr Einzug in die Arbeitswelt von PathologInnen halten. Einerseits ist damit Telepathologie gemeint: Von einem entfernteren Standort aus auf den Arbeitsplatz, auf das Laborinformationssystem und auf gescannte Objektträger, Whole Slide Images (WSI), per Computer und Internet zugreifen und zu befunden bzw. den Befund im Laborinformationssystem zu speichern. Auf der anderen Seite versteht man aber auch die Unterstützung einer Künstlichen Intelligenz (KI) beim Erkennen von auffälligen Zellen. Nachdem die KI trainiert wurde bzw. nachdem ein Modell von Tausenden von annotierten Bildern abgeleitet worden ist, wird die KI PathologInnen dabei nicht ersetzen, sondern wird sie unterstützen, Mikrostrukturen, zum Beispiel bei Mamma- und Prostatakarzinomen, zu erkennen und digital einzuzeichnen. Der Service läuft meist über ein Onlineinterface im Browser und greift auf digitale Objektträger der entsprechenden Fälle im Hintergrund zu. PathologInnen können durch die Unterstützung mehr oder schneller befunden. Die Leistung wird derzeit von Krankenkassen nicht abgegolten.

Bekannte Unternehmen, die KI-Services international anbieten, sind Paige (New York, USA), PathAI (Boston, USA), Ibex (Tel Aviv-Yafo, Israel), Proscia (Philadelphia, USA), 4D Path (Newton, USA) und PredXBio (Pittsburgh, USA) sowie viele mehr. In Österreich gibt es einige öffentliche Körperschaften, die sich der digitalen Pathologie gewidmet haben.

Öffentliche und private Körperschaften in Österreich zur digitalen Pathologie

EMPAIA (Ecosystem for Pathology diagnostics with AI Assistance) möchte den Einsatz von KI beschleunigen. KI-Systeme sollen Ärzte in naher Zukunft bei der Stellung der Diagnose und bei Vorschlägen zu Therapien unterstützen. EMPAIA bereitet die Grundlage für KI-unterstützte bildbasierte Diagnostik in der Pathologie vor und ist aktiv in der Entwicklung von Standards und Arbeitsabläufen. Ein standardisierter, digitaler Marktplatz soll dabei helfen, zugelassene und validierte KI-Lösungen einzusetzen.

Bigpicture hat sich zum Ziel gesetzt, die Entwicklung von KI voranzutreiben, indem die privat-öffentliche Partnerschaft einen großen Bestand an qualitativ hochwertigen



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

gen annotierten Pathologiedaten bereitstellt, wobei dieser bis zu Millionen Daten betragen kann. Der Bestand wird auf verantwortungsvolle, integrative und nachhaltige Weise zugänglich sein. Bigpicture möchte sich auch mit rechtlichen und ethischen Fragen befassen, um sicherzustellen, dass die Privatsphäre der PatientInnen und die Vertraulichkeit der Daten in vollem Umfang gewahrt bleiben. Die Vision von Bigpicture ist, der Katalysator für die digitale Transformation der Pathologie zu werden. Bigpicture hat 45 Partner in 15 Ländern und ist seit 1. Februar 2021 aktiv.

Die ÖGPATH führt Frühjahrs- und Herbsttagungen durch. Im Herbst 2023 wurden die Themen Künstliche Intelligenz und Mammakarzinome behandelt. Die ÖGPATH ist eine wissenschaftliche Gesellschaft, die als beratendes Gremium der Ärztekammer fungiert und für alle Teilbereiche der Pathologie in Zusammenhang mit Ausbildung und Qualitätssicherung zuständig ist. Sie fördert Wissenschaft, Fortbildung und den Nachwuchs.

TissueGnostics ist eine GmbH mit Sitz in Wien, die Pathologiesoftware herstellt. Sie ist im Bereich der Präzisionsmedizin tätig und bietet Bildverarbeitungslösungen für die quantitative Analyse von Geweben und Zellen in digitalisierten mikroskopischen Bildern an. Die Bildanalysesoftware StrataQuest arbeitet mit Deep-Learning(DL)-basierten Kernsegmentierungsalgorithmen. Kernsegmentierung wird als grundlegender Schritt in der quantitativen mikroskopischen Bildanalyse angesehen.

Personalisierte Medizin wird mit wesentlicher Unterstützung durch PathologInnen immer relevanter und realistischer umsetzbar. Die ÖPPM wurde für PatientInnen mit seltenen Krankheiten gegründet, die in geringer Fallzahl mit wenig Erklärungswert auftreten. Standortdiagnostische Ansätze ermöglichen biomarkerbasierte Studiendesigns für alle Krebsarten, womit sich die Zahl der verfügbaren Fälle erhöht und zu einem besseren Verständnis seltener Krankheiten führen wird. Ge-gründet wurde die ÖPPM von der Medizinischen Universität Wien, der Medizinischen Universität Innsbruck, der Medizinischen Universität Graz und CeMM, dem Research Center for Medicine of the Austrian Academy of Science. Mitglieder sind AIT, BBMRI-ERIC, CBmed, Joanneum Research, die Jo-

hannes Kepler Universität Linz, Know Center, Lobby 4 Kids, Ludwig Boltzmann Gesellschaft, mfpl, Open Science, PHARMIG, PHARMIG Academy, ÖGMBT und die Veterinärmedizinische Universität Wien (Vet-meduni).

Auch das Ministerium für Bildung, Wissenschaft und Forschung als öffentliche Stelle finanziert die digitale Pathologie. Regelmäßige Ausschreibungen zu (digitalen) Forschungsinfrastrukturen finden statt und sind online auf der Ausschreibungsplattform aufrufbar. Finanziert werden Anschaffungen von WSI-Scannern und Speicherplatz.

PAIGE.AI bietet eine Schnittstelle an, mit der digitale Objektträger auf ihrer Analyseplattform hochgeladen und automatisch analysiert werden können. Die Software, die auf der Onlineplattform aktiv ist, hebt größere Tumor- und Mikrotumorstrukturen hervor, die PathologInnen übersehen könnten. Dabei werden der Gleason-Score und die Fläche berechnet. Die Software unterstützt und die letzte Entscheidung obliegt PathologInnen. Accuracy und Precision sind hoch. Bisher funktioniert die Tumorerkennung zuverlässig mit Prostata- und Mammagewebe, wofür PAIGE.AI eine FDA-Zulassung in den USA bekommen hat. Ein Sprecher des Unternehmens betont, neben der Schweiz mit weiteren Partner-Pathologien in Österreich zusammenarbeiten zu wollen. Der Service läuft auf einer Cloud in Frankfurt für KundInnen mit Sitz innerhalb der Europäischen Union. Alte hochgeladene Slides auf der Plattform werden regelmäßig gelöscht.

Das Labor von Dr. Heimo Müller an der Medizinischen Universität Graz hat sich zum Ziel gesetzt, herauszufinden, wann PathologInnen bei mikroskopischen Schnitten mit histologischen und immunhistochemischen Färbungen, die ihnen vorgelegt werden, klar wird, dass es sich beim vorgelegten Gewebe um einen Tumor handelt. Das bedeutet, welche Areale in welcher Reihenfolge, wie lange betrachtet werden und welche Emotionen, erkennbar an Gesichtsregungen, entstehen. Aufgezeichnet werden die Augenbewegungen über die Zeit während der Begutachtung. Anschließend wird mit Künstlicher Intelligenz versucht, allgemeine Muster durch das Eye-Tracking bis zum Entscheidungsprozess abzuleiten.

Das Ziel ist, jungen PathologInnen zu helfen, schneller bzw. besser und objektiver zu lernen. Neben dem Individuum selbst spielen auch Erfahrungen eine Rolle, die zu unterschiedlichen Pfaden bis zur Diagnose führen.

Mitarbeiter der Medizinischen Universität Innsbruck, der Medizinischen Universität Graz, der Medizinischen Universität Wien und der Johannes Kepler Universität Linz haben bereits Überlegungen angestellt, einen Metadatenkatalog auszuarbeiten und zu etablieren, der die vielen gescannten Objektträger aus dem Routine- und dem Forschungsbetrieb beschreibt. Der Metadatenkatalog soll für Mitarbeiter der Universitäten online zugänglich sein und soll dazu dienen, die gescannten Slides durch Beschreibungen mit Attributen für die Forschung aufzuwerten. BenutzerInnen können nach den Eigenschaften der gescannten Objektträger suchen und eine Kollektion zusammenstellen, die für spezifische Forschungsfragen relevant sein könnte. Anschließend werden Transferkonditionen vereinbart. Die Medizinische Universität Graz hat hunderttausende Objektträger gescannt und Teile davon sind im Rahmen von EU-Projekten, etwa im Zusammenhang mit kolorektalem Krebs, zur Forschung schon eingebracht worden.

Fazit für die Praxis

PathologInnen sollten sich den technischen Neuerungen nicht verschließen. Für Zellstrukturerecognitionen (Tumoren oder nicht-neoplastisches Gewebe), die sich in den Befundungsworkflow integrieren lassen, gibt es schon internationale Anbieter auf dem Markt. Einige Körperschaften in Österreich beginnen allmählich, KI-Services zu nutzen bzw. in ihre Software zu implementieren und das Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft und Forschung finanziert Investitionsvorhaben in die digitale Pathologie in Form von Anschaffungen von Whole-Slide-Image-Scannern.

Korrespondenzadresse

Christoph Schatz, PhD

Institut für Pathologie, Neuropathologie und Molekularpathologie, Medizinische Universität Innsbruck

Müllerstr. 44, 6020 Innsbruck, Österreich
christoph.schatz@i-med.ac.at

**Prof. Dr. med. univ. Dr. sc. nat. Prof. h.c.****Johannes Haybaeck**

Tyrolpath Obrist Brunhuber
Klostergasse 1, 6511 Zams, Österreich

johannes.haybaeck@tyrolpath.at
johannes.haybaeck@medunigraz.at

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. C. Schatz, A. Qerimi und J. Haybaeck geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Die ethische Richtlinien wurden eingehalten.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Digital pathology in Austria

The situation regarding digital pathology in Austria is manageable compared to other countries. Active Austrian examples are the consortium EMPAIA, the private–public partnership Bigpicture, the Austrian Society for Clinical Pathology and Molecular Pathology (OEGPath), the company TissueGnostics, and the Austrian Platform for Personalized Medicine (OEPPM).

Keywords

Metadata whole slide images · Telepathology · AI · Diagnosis · Whole slide images

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S232–S234
<https://doi.org/10.1007/s00292-023-01242-0>
Angenommen: 6. Oktober 2023
Online publiziert: 3. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Dermatopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

E. Bierhoff¹ · D. Metze²

¹Heinz-Werner-Seifert-Institut für Dermatopathologie Bonn, Bonn, Deutschland

²Klinik für Hautkrankheiten, Universitätsklinikum Münster, Münster, Deutschland

Bericht der Sitzung der Arbeitsgemeinschaft Dermatopathologie am Donnerstag, den 01. Juni 2023, 16.00–17.45 Uhr im Rahmen der 106. Jahrestagung der DGP in Leipzig.

Die diesjährige Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie in Leipzig wurde in Präsenz mit über 30 Teilnehmern durchgeführt.

Die Moderation erfolgte durch Dr. Manfred Uerlich, Bonn (in Vertretung von Prof. Dieter Metze, Münster), und Prof. Erhard Bierhoff, Bonn.

Folgende Vorträge wurden präsentiert:

Abklärung kutaner B-Zell-Infiltrate: Diagnostische Algorithmen, Differentialdiagnosen und Fallstricke

Cutaneous B-cell infiltration: diagnostic algorithms, differential diagnosis, and pitfalls

Oschlies I, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Institut für Pathologie, Kiel, Keynote

Der Übersichtsvortrag soll eine Hilfestellung zur diagnostischen Einordnung von lymphatischen, B-Zell-reichen Infiltraten in der Haut geben. Die diagnostischen Kriterien und biologischen Eigenschaften der häufigsten Subtypen der primär kutanen B-Zell-Lymphome der Haut werden vorgestellt. Die Abgrenzung gegenüber Pseudolymphomen, sekundären Infiltraten systemischer B-Zell-Lymphome/Leukämien sowie B-Zell-reichen T-Zell-

Lymphoproliferationen werden erläutert. Diagnostische Immunalgorithmen in Abhängigkeit vom Muster der B-Zell-Infiltrate können eine gezielte Abklärung erleichtern. Diagnostische Fallstricke werden benannt und hilfreiche immunphänotypische und molekulare Methoden zur korrekten Befundung vorgestellt.

Vom digitalen Workflow zur KI-gestützten Diagnostik

From digital workflow to AI-assisted diagnosis

Schaller J, MVZ Dermatopathologie Duisburg Essen GmbH, Duisburg, Keynote

Dermatopathologische Institute stehen aufgrund immer höherer Anforderungen bei andererseits schwindenden Ressourcen vor zunehmenden Herausforderungen. Die Etablierung eines digitalen Laborworkflows ist eine Möglichkeit, dies zu kompensieren, und eröffnet neue Möglichkeiten für die Diagnostik und Qualitätssicherung. Gleichzeitig ist die Digitalisierung von Glasobjektträgern Grundlage für den Einsatz von Verfahren auf Basis künstlicher Intelligenz (KI) in der Dermatopathologie. Bislang haben diese Verfahren keinen Einzug in die Routinediagnostik gefunden. Ziel dieses Vortrags ist die Demonstration eines effektiven digitalen Laborworkflows, der den Einsatz eines KI-basierten Modells zur automatisierten dermatopathologischen Diagnostik ermöglicht. Das Ausgangsmodell wurde mit Basalzellkarzinomen trainiert und eta-

Diese Abstractsammlung ist bereits erschienen unter <https://www.pathologie-dgp.de/downloads/>



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

bliert. Im Routinebetrieb erzielte dieses Modell eine Sensitivität von 98,23 % und eine Spezifität von 98,51 %. Zusätzlich wurden eine automatisierte, KI-basierte Basalzellkarzinom-Subtypisierung und Tumordickenmessung etabliert. Darauf aufbauend können zahlreiche andere dermatopathologische Diagnosen mit diesem Modell erkannt und klassifiziert werden. Neben der KI gestützten automatisierten Erkennung und Klassifikation bestimmter Hautläsionen ermöglicht dieses System auch eine automatische Befunderstellung auf der Basis einer strukturellen Befundgenerierung.

Zusammenfassend können KI-basierte Verfahren mit einer hohen Genauigkeit im Routinebetrieb entsprechend trainierte Hauttumoren erkennen und signifikant die Arbeit zeitlich als auch quantitativ unterstützen. Aktuell wird dies den Dermatopathologen nicht ersetzen, ihn aber unterstützen und damit neue Möglichkeiten in der Routinediagnostik, der Lösung schwieriger Fälle, aber auch der Weiterbildung und Forschung schaffen.

Der Verlust der Expression des BRCA-assoziierten Proteins 1 (BAP1) in Aderhautmelanomen ist mit morphologischen Merkmalen der Dedifferenzierung und einer ungünstigen Prognose assoziiert

Loss of BRCA-associated protein 1 (BAP1) expression in uveal melanoma is associated with morphological features of dedifferentiation and adverse prognosis

A. Zimpfer¹, L. Dyballa¹, C. Brockmann²

¹Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Rostock, Rostock, ²Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsmedizin Rostock, Rostock

Questions/Background. Approximately 50 % of patients with uveal melanoma (UM) develop metastatic disease, usually involving the liver. Metastatic disease is rarely apparent at the time of treatment for primary UM and may develop months to years after diagnosis. The development of metastatic disease correlates strongly with chromosomal abnormalities such as

monosomy 3 and 8q gain. Previously, inactivating mutations in the BRCA-associated protein 1 (BAP1) gene on chromosome 3p21.1 were found to occur almost exclusively in metastatic UM class 2 with monosomy 3, and loss of nuclear BAP1 expression has been shown to be a good surrogate marker for both genetic alterations. Some immunohistochemical BAP1 studies have been performed in UM, but there are few data on the correlating morphologic findings. To fill this gap, we morphologically examined a larger UM collective and correlated the findings with BAP1 immunohistochemistry results.

Methods. A total of 139 UMs were included in the retrospective study. BAP1 immunohistochemistry was evaluated for associations with clinical and various histological features, such as Callender classification, anaplasia, and mitoses. Additionally, survival analyses were performed.

Results. Uveal melanomas from 79 male and 60 female patients (median age 67 years, range 31–92 years) were included. Complete or incomplete nuclear loss of BAP1 expression was seen in 10.1 % and 14.1 % of cases, respectively. BAP1 loss was significantly associated with death, disease progression, and occurrence of anaplasia ($p < 0.05$). UM with loss of nuclear BAP1 expression showed a significant shorter overall survival ($p = 0.006$) and a trend towards shorter progression-free survival ($p = 0.163$).

Figure legend. (A) Uveal melanoma with anaplastic features and (B) complete loss of nuclear BAP1 expression. (C) In uveal melanomas with partial or complete loss of nuclear BAP1 expression, OS was significantly reduced.

Conclusion. We suggest that immunohistochemical screening for BAP1 should become routine in the histopathologic examination of uveal melanomas. The anaplastic phenotype correlates particularly with loss of BAP1. Furthermore, our results indicate that loss of BAP1 may play a special role in the progression of uveal melanoma to an aggressive, metastatic phenotype.

Expression von PRAME in Melanoma in situ versus dysplastische Nevi: immunhistochemische Studie

Expression of PRAME in melanoma in situ versus dysplastic nevi: immunohistochemical study

M. Abbas¹, O. Bettendorf², J. de Jonge²

¹Universitätsklinikum Münster, Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie, Münster, ²Institut für Pathologie und Zytologie, Schüttorf

Question/Background. Preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME) is expressed frequently in malignant cutaneous melanocytic lesions but is not common in normal or benign melanocytic lesions, which can be detected immunohistochemically. PRAME mRNA expression levels have been identified as an important biomarker for metastatic risk stratification of uveal melanomas. Its expression has been described by multiple authors (e.g., Alomari et al. 2021 and Koh et al. 2022), who describe the wide expression of PRAME in melanoma in situ and invasive melanoma as well as in conjunctival melanoma.

Methods. Thirty cases were retrospectively immunohistochemically examined after reaching the correct diagnosis either by a local pathologist or by sending samples to a reference pathology laboratory. Twenty cases were diagnosed as dysplastic nevi and 10 cases were diagnosed as melanoma in situ. The immunohistochemistry was done with PRAME antibodies (Abcam-219650) using an automated Dakostainer. The staining results were recorded as the percentage of immunoreactive tumour cells with nuclear labelling per total number of tumour cells. Zero indicated no staining at all. Staining of 1 %–25 % of the tumour cells was scored as 1+, 26 %–50 % as 2+, 51 %–75 % as 3+, and more than 75 % as 4+.

Results. For PRAME expression in melanoma in situ, six cases scored 3+ (6/10 = 60 %) and four cases scored 1+ (4/10 = 40 %). The total positive cases were 100 %. For PRAME expression in dysplastic nevi, six cases sco-

red 1+ (6/20 = 30%) and the rest of the cases scored 0 (14/20 = 70%).

Conclusion. We suggest the immunohistochemical examination of PRAME as a marker to detect the actual spread of malignant melanocytes within the epidermis in cases of melanoma in situ and to differentiate between these parts of melanoma in situ from dysplastic nevi in combined melanocytic lesions to avoid inappropriate wide excision of these lesions especially in the face near the eye.

Eine immunohistochemische Analyse des Basalzellkarzinoms von 50 Patienten unter 40 Jahren

An immunohistochemical analysis of basal cell carcinoma from 50 patients under the age of 40

V. Waller, M. Boeschen, M. Stiller, H. Bläker, M. von Laffert
Institute of Pathology, University of Leipzig, Leipzig

Questions/Background. Basal cell carcinoma (BCC) is the most common skin cancer, mainly occurring in the elderly. Thus, there is a plethora of studies encompassing aspects of cell cycle, epithelial mesenchymal transition and immunogenicity. BCC in younger patients is rare and studies reflecting the above-mentioned aspects are scarce.

Methods. We analysed 57 operative BCC specimens of 50 patients (without Gorlin Goltz syndrome) with a median age of 35 years (range: 21–40). Besides localisation and conventional histology (growth pattern), we performed immunohistochemistry focusing on cell cycle (p53, p16, Ki67, PPH3) and immunogenicity (i.e., CD 3, CD4, CD8, CD20, PD-L1, PD1), as well as on Her2 expression, which was recently reported in BCC of the elderly.

Results. We found no correlation between the localisation (35 × skin of other and unspecified parts of face, 7 × ear, 6 × eyelid, 3 × lip, 3 × hairy head, 2 × trunk and 1 × upper extremities) and the predominant histological subtype (32 nodular, 12 infiltrative, 6 superficial and

7 mixed [3 nodular/morpheaform, 3 nodular/micronodular, and 1 infiltrative/micronodular]). p53 alterations (overexpression, null staining) were found in 42% (24/57) and p16 expression in 12% (7/57) of the samples. There was combined p16/p53 alteration in 7% (4/57) of the cases. The nodular subtype showed a lower p16 expression compared to the sclerodermiform type. p16 alteration led to significantly higher expression of cyclin E1. The scoring of Her2 had the following distribution: score 0, 26% (16/57); score 1, 60% (34/57); and score 2, 12% (7/57). Of the seven samples with a Her2 score 2, two had a p53 alteration and one had a p16 alteration (no simultaneous p16/p53 alteration). The Her2 score 0 BCC showed significantly less expression of Ki67 and cyclin E1 compared to Her2 score 1 and 2. In contrast, Her2 score 2 BCCs showed significantly deeper infiltration and higher PPH3 expression and they were more immunogenic with higher rates of T and B lymphocytes in the stroma. These results were independent of the morphological subtype.

Conclusion. As already reported in the elderly, BCC in young patients also shows alterations of the cell cycle control (p16 and p53 interference). Moreover, Her2 expression can also be found. The latter seems to be a good discriminator for BCC in this patient cohort, as Her2 negative BCCs are in line with slow growing BCC, whereas Her2 score 2 BCCs correlate with a more immunogenic and aggressive subtype.

Geschäftssitzung

In der Mitgliederversammlung wurden die Leiter der AG einstimmig wiedergewählt.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. E. Bierhoff

Heinz-Werner-Seifert-Institut für Dermatopathologie Bonn
Trierer Str. 70, 53115 Bonn, Deutschland
erhard.bierhoff@t-online.de

Prof. Dr. D. Metzke

Klinik für Hautkrankheiten, Universitätsklinikum Münster
Von-Esmarch-Str. 58, 48149 Münster, Deutschland
metzed@uni-muenster.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. E. Bierhoff und D. Metzke geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S235–S236
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01224-2
Angenommen: 10. August 2023
Online publiziert: 4. Oktober 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Bericht der Arbeitsgemeinschaft für Gastroenteropathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Jens Neumann¹ · Alexander Quaas²

¹ Pathologisches Institut, Medizinische Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

² Institut für Pathologie, Uniklinik Köln, Köln, Deutschland

Die zweiteilige Sitzung der Arbeitsgemeinschaft Gastroenteropathologie fand am 01. Juni 2023 im Rahmen der 106. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP) in Leipzig statt. Die erste Sitzung umfasste Beiträge zu Leber- und Pankreaserkrankungen sowie Vorträge zur Pathologie des oberen Gastrointestinaltrakts. Die zweite Sitzung hatte einen thematischen Schwerpunkt zu Erkrankungen des unteren Gastrointestinaltraktes und des Pankreas. Aus den eingesandten Abstracts wurden 14 Beiträge für eine Präsentation als Kurzvortrag und 24 für eine Posterpräsentation ausgewählt. Sowohl die 2 Sitzungen der AG Gastroenteropathologie am Donnerstag als auch die Postersessions am darauffolgenden Freitag waren sehr gut besucht und die Diskussion der hochwertigen Vorträge und Poster, die sowohl konventionelle Histomorphologie als auch molekularpa-

thologische Methoden umfassten, war lebhaft.

Als Gastrednerin konnte Frau Prof. Dr. Julia Mayerle (Medizinische Klinik II, LMU Klinikum, München) gewonnen werden, die über das Thema „Differentialdiagnose Autoimmunpankreatitis – wie nähert sich der Kliniker der Diagnose?“ referierte. Im Rahmen des mitreißenden Vortrags (▣ **Abb. 1**) hat Frau Prof. Mayerle die klinische Herangehensweise bei Verdacht auf das Vorliegen einer autoimmunen Pankreatitis und den Stellenwert der histopathologischen Biopsiediagnostik ausführlich und anhand klinischer Fallbeispiele praxisnah dargelegt. Im Rahmen der umfangreichen und lebhaften Diskussion wurde immer wieder die Bedeutung der interdisziplinären Zusammenarbeit und Kommunikation zwischen klinisch tätigen Kolleg*innen und der Pathologie betont.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen



Abb. 1 ◀ Gastvortrag Prof. Julia Mayerle (© Leßmann 2023, mit freundl. Genehmigung)

Im Rahmen der jährlich stattfindenden Mitgliederversammlung anlässlich der Jahrestagung wurde von Prof. Dr. Neumann und Prof. Dr. Quaas kurz über die Aktivitäten und Schwerpunktsetzungen des vergangenen Jahres berichtet. Insbesondere wurde über das Herbsttreffen der Arbeitsgemeinschaft am 15.10.2022 berichtet, welches eine gelungene Mischung aus wissenschaftlichen Vorträgen zu verschiedenen Themen der gastrointestinalen Pathologie und der virtuellen Mikroskopie und Diskussion ungewöhnlicher oder schwieriger Fälle war. Zudem wurde ein kurzer Überblick über den aktuellen Stand der insgesamt 16 Leitlinien, an denen die Mitglieder der AG Gastroenteropathologie beteiligt sind, gegeben. Am Ende der Mitgliederversammlung wurde vom Plenum beschossen, dass Ende 2023 oder Anfang 2024 erneut ein Herbst- bzw. Wintertreffen der AG stattfinden soll. Das Treffen soll, wenn möglich, als Hybridveranstaltung stattfinden. Als Veranstaltungsort wurde München vorgeschlagen.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Dr. Jens Neumann
Pathologisches Institut, Medizinische Fakultät,
Ludwig-Maximilians-Universität München
Thalkirchner Str. 36, 80337 München,
Deutschland
jens.neumann@med.uni-muenchen.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. J. Neumann und A. Quaas geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.



Arbeitsgruppe Junge Pathologie – der Nachwuchs stellt sich vor



Mit ihrem umfangreichen Förderprogramm sowie der Gründung der **AG Junge Pathologie** unterstützt die Deutsche Gesellschaft für Pathologie (DGP) eine nachhaltige Ausrichtung der Pathologie für die Zukunft.

Durch die Aktivitäten der AG sollen **Studierende und Berufseinsteiger*innen für das Fach begeistert** und neue Ideen

entwickelt werden, die frischen Wind in eines der wichtigsten interdisziplinären Fächer bringen.

Prof. Philipp Jurmeister und Dr. Stefanie Bobe, die beiden Ansprechpersonen der **AG Junge Pathologie**, haben in ihrem Beitrag mehr über **Angebote für Nachwuchs-Patholog*innen** sowie über **Gründung und Ziele der AG** zusammen getragen:

Den Beitrag lesen Sie **kostenfrei nach einmaliger Registrierung** auf der Webseite der Zeitschrift „Forum“:

<https://www.springermedizin.de/forum/9201342>



QR-Code scannen und den Beitrag online lesen

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Geschichte und Ethik der Pathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

T. Braunschweig¹ · K. Schierle²

¹ Pathologisches Institut, Ludwig-Maximilian-Universität München, München, Deutschland

² Institut für Pathologie, SLK-Kliniken Heilbronn, Heilbronn, Deutschland

Anhand eines der Schwerpunktthemen „Pathologie und Interdisziplinarität“ wurde ein großer Themenblock aufgebaut. Den zweiten Themenblock bildete die Weiterbildung von Assistenzärzt/inn/en in der Pathologie sowohl im Spiegel der Zeit als auch im Abgleich mit der Weiterbildung innerhalb der Deutschen Demokratischen Republik weit in der Vorwendezeit.

Den Anfang bildete eine Einführung durch den AG-Leiter Dr. Till Braunschweig aus dem Universitätsklinikum Aachen mit der geschichtlichen Einordnung des Krankheitsbegriffes durch die Pathologie im Rahmen der Entwicklung und den Veränderungen des Faches. Über religionsbasierte und mythische Ansätze bis zum 18. Jahrhundert mit zuletzt vorherrschenden Vorstellungen, vor allem der Säftelehre, gelang es im ausgehenden 18. Jahrhundert und zu Beginn des 19. Jahrhunderts, auch unter dem Einfluss der Französischen Revolution und geringer werdendem Einfluss der Religion, dass naturwissenschaftliche und allgemein wissenschaftliche Ansätze und Grundsätze die Medizin prägten und zu einem erkenntnisbasierten Verständnis der Erkrankungen führten. Rudolf Virchow konnte auf diesem fruchtbaren Boden aufbauen und die „Zellenlehre“ als Grundlage für Entstehung von tumorösen Veränderungen und Entzündungen entwickeln. Der Weg dorthin war geprägt durch die Arbeit einiger anderer Mediziner, die sich mitunter auch schon Pathologen nannten und viele Erkenntnisse anhand der vergleichenden Anatomie und Physiologie wie auch anhand bekannter Erkrankungen an

Tieren (Obduktionen) und Tierexperimenten zusammentrugen. Diese Interdisziplinarität wurde zu dieser Zeit nicht als solche wahrgenommen, sondern war fester Bestandteil der studentischen Ausbildung und der forschenden Mediziner.

Nach dieser kurzen Einführung passte sich der Vortrag von Prof. Ulrich als Veterinärpathologe der Universität Leipzig gut ein. Sein Hauptthema war, auch im Rahmen der Ereignisse der letzten Jahre, eine aktuelle Problematik: Zoonosen und Infektionen bei einheimischen Tieren und die speziesübergreifenden Infektionswege. Der spannende Vortrag schloss zum Ersten die Erkrankungen (Parasiten, Einzeller, Bakterien, Viren) der Wildtiere ein, deren Zoonosen eine große Rolle bei der Jagd und der Landwirtschaft spielen und gerade in dem zuletzt erwähnten Bereich eine oft unterschätzte Gefahr darstellen. Neben diesen eher bekannten Gefahrenquellen für eine Übertragung von Zoonosen auf den Menschen sind Parks, Gärten, aber auch das eigene Haus/die eigene Wohnung potenzielle Orte von Übertragungen, sei es durch Wildtiere als auch durch Haustiere, die durch Freigänge mögliche Erregerträger darstellen können. In seiner Präsentation wurden statistische Auswertungen von unter anderem sogenannten Todmonitorings präsentiert, die zum einen einige Virenstämme (Lyssaviren, Hepatitis-E-Virus Genotyp 3, *Puumala orthohantavirus*), zum anderen auch Bakterienstämme (*Brucella suis* Biovar 2, *Francisella tularensis* ssp. *holarctica*, *Mycobacterium caprae*, *Yersi-*



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

nia pseudotuberculosis, *Leptospira interrogans sensu lato*) und Parasiten – darunter einige altbekannte – (*Echinococcus multilocularis*, *Alaria alata*, *Baylisascaris procyonis*, *Trichinella spp.* und *Sarcoptes scabiei*) aufzeigten. Als Beispiel einer beobachteten, beim Menschen zum Tode geführten Infektionserkrankung war beispielsweise die Übertragung des Bornavirus1 über Bunthörnchen in Sachsen-Anhalt. Dabei konnte gezeigt werden, dass bei den einheimischen Eichhörnchen dieses Virus nicht nachgewiesen werden konnte. In der Zusammenschau wurde deutlich, dass nur eine aktive Zusammenarbeit von Human- und Tiermedizinern helfen kann, neuartige Zoonosen frühzeitig zu erkennen, einzuschätzen und Gegenmaßnahmen zu entwickeln, unter ganzheitlicher Betrachtung der Ökosysteme, der Tierwelt und der Interaktionen.

Den Abschluss des ersten Hauptthemas stellte der zweite Teil der Präsentation von Dr. Till Braunschweig dar, der die Entwicklungen der Interdisziplinarität im 20. Jahrhundert beschrieb. Neben den klassischen Schwesterfächern der Pathologie wie Neuropathologie und Veterinärpathologie, die bis in die 1960er-Jahre häufig zusammen mit der Pathologie die Jahrestagungen abhielten, entwickelten sich andere Disziplinen zu starken Einflussgebern. So spielten etwa die Molekularbiologie und die Humangenetik eine große Rolle in der Etablierung und dem Fortbestehen bei genetischen Analyseverfahren in der Pathologie. Im Sinne der Interdisziplinarität kam es zu einem gegenseitigen Wissensaustausch und zur Entwicklung diverser Techniken, großer Geräte sowie Datenanalyseverfahren. In jüngerer Zeit haben die Informationstechnologie und Ingenieurwissenschaften an Bedeutung gewonnen. Die Möglichkeiten, histologische Präparate zu digitalisieren und auszuwerten, bilden die Basis für die automatisierte Bildanalyse und die Einführung der künstlichen Intelligenz zur Auswertung (immun-) histologischer Eigenschaften.

Den zweiten, großen Themenblock eröffnete Dr. Katrin Schierle vom Klinikum am Gesundbrunnen in Heilbronn mit einer Übersicht zur Entwicklung der Weiterbildung als Assistenzärztin/-arzt. Die Definition der Facharztzubereitung ist vergleichsweise jung und nahm ihren Anfang in

den 1930er-Jahren. Auch wenn die Landesärztekammern den organisatorischen Rahmen bilden, sind die Inhalte über die Bundesländer weitgehend identisch. Bilden zu Beginn die Obduktionen eine große Grundlage, treten sie im Laufe der Zeit immer weiter zurück und machen den Weg frei für andere Unterbereiche der Pathologie, die sich über die Zeit der letzten 80–90 Jahre nach Einführung der Facharztzubereitung veränderten. Sind zunächst auch schon zu Beginn die Histologie und Zytologie weitere große Bereiche, kommen Schnellschnitte, Biopsiebegutachtung, eine Verästelung der Zytologie über die Jahre hinzu. Die Molekularpathologie ist der letzte Fachbereich, der dem Curriculum hinzugefügt wird und auch Gegenstand der Facharztprüfung wird.

Dr. Eckhardt Schneider vom Parkklinikum/Institut am Elsapark in Leipzig führte im Anschluss die Eigenheiten der Weiterbildung im Fach Pathologie zu Zeiten der DDR auf. Herr Dr. Schneider beschreibt dabei auch den generellen Werdegang von der Schule in die Universität und zur Facharztzubereitung und den Abschluss mit Prüfung. Die Möglichkeiten eines Medizinstudiums waren begrenzt, und die Auswahl unter anderem von einer Linientreue abhängig. Dass nicht nur in der Schule auf eine Systemtreue geachtet wurde, sondern auch während der universitären Ausbildung, war ein Kernpunkt seiner Ausführungen. Die Beschreibung der Facharztzubereitung wird als sehr ähnlich zu der Ausbildung in Westdeutschland beschrieben. Einen großen Unterschied machte allerdings die Facharztprüfung, die sehr ausführlich und mehrtägig stattfand. Abschließend machte Dr. Schneider darauf aufmerksam, dass der Bundesverband vor einigen Jahren einige Interviews mit erfahrenen Pathologen aufgezeichnet hat, unter anderem von Prof. Bässler, Prof. David und Prof. Meister, und diese als *Protokolle Pathologie: 5 Interviews 5 Jahrzehnte* auf einer DVD verteilt. Zudem berichtete er über die Publikationen *Pathologie und Pathologen im Nationalsozialismus* und *Zeitpunkte Pathologie*, die unter anderem die Zeit des Nationalsozialismus in Hinblick auf den Bundesverband Deutscher Pathologen beleuchtet.

Im Anschluss an die Sitzung wurde die AG-Mitgliederversammlung abgehal-

ten. Das Protokoll der letzten Mitgliederversammlung aus dem Jahr 2022 wurde angenommen. Den zweiten Tagesordnungspunkt bildete eine Diskussion sowie Umfrage zu einer Themensammlung bezüglich der AG-Sitzung der kommenden Jahrestagung 2024 in München. Der Vorschlag, die Interdisziplinarität der Pathologie mit benachbarten und entfernteren Fächern erneut zum Thema zu machen, fiel auf großen Zuspruch, insbesondere in Bezug auf die Zusammenarbeit und Partnerschaft mit der Veterinärpathologie. Als weitere Fachbereiche wurden die Neuropathologie und die Rechtsmedizin erwähnt. Die AG-Leitung wird daher diesen Themenbereich erneut zu einem Schwerpunktthema machen und sich um Referenten und Themen bemühen. Weiterhin wurden als mögliche Themen „Kooperationen mit der Pharmaindustrie unter ethischen Aspekten“, „Gespräche mit Patienten oder Angehörigen“ und die Geschichte der Zeitschriften der Pathologie, wie zum Beispiel *Zentralblatt für Pathologie* oder *Virchows Archiv* aufgenommen.

Korrespondenzadresse

Dr. med. T. Braunschweig, MD

Pathologisches Institut, Ludwig-Maximilians-Universität München
Thalkirchner Str. 36, 80337 München, Deutschland
Till.Braunschweig@med.uni-muenchen.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. T. Braunschweig und K. Schierle geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Gynäko- und Mammopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Eike Burandt¹ · Ramona Erber²

¹Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland

²Pathologisches Institut, Universitätsklinikum Erlangen, CCC Erlangen-EMN, FAU Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Deutschland

Die Sitzung der Arbeitsgemeinschaft für Gynäko- und Mammopathologie fand am 01. Juni 2023 unter dem Vorsitz von Eike Burandt und Ramona Erber zweiteilig statt. In der ersten Session am Vormittag wurden Themen der Gynäkopathologie unter der Moderation von Annette Stähler (Tübingen) und Doris Mayr (München) abgehandelt, in der Nachmittagsession unter der Moderation von Annette Lebeau (Lübeck, Hamburg) und Carsten Denkert (Marburg) Themen zur Mammopathologie.

Für die Sitzung waren die 12 besten Abstracts als Vorträge angenommen worden (■ Tab. 1).

AG Gynäko- und Mammopathologie I

Die erste Session begann mit einem sehr spannenden Vortrag aus Heidelberg über DNA-Methylierungsanalysen seltener mesenchymaler Tumoren des Uterus, in denen individuelle Methylierungssignaturen für *GREB1*- und *KAT6B*-reangierte Neoplasien gefunden wurden. Die *GREB1*-reangierten Tumoren zeigten dabei ein vergleichbares DNA-Methylierungsprofil wie die konventionellen UTROSCT („uterine tumor resembling ovarian sex-cord tumor“), während die *KAT6B*::*KANSL1*-Neoplasien auf molekularer Ebene eine distinkte Tumorentität darstellten.

Der zweite Vortrag beschäftigte sich mit der Expression von PD-L1 und der Indolamin-2,3-Dioxygenase (IDO1) im serösen high-grade Karzinom des weiblichen

Adnexes. Die Tübinger Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass verschiedene Expressionslevel der IDO1-Expression auf tumorinfiltrierenden Lymphozyten (TILs) einen unterschiedlichen Effekt auf das Überleben haben. Während hohe Expressionslevel von IDO1 (>25%) mit einem schlechten Überleben assoziiert waren, hatten intermediäre Expressionslevel einen positiven Effekt auf das Gesamtüberleben.

Die Arbeitsgruppe aus New York vom Memorial Sloan Kettering Cancer Center beschäftigte sich ebenfalls mit dem serösen high-grade Karzinom, wobei hier die Optimierung des VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay (Roche, Basel, Schweiz) im Fokus stand, der die Grundlage zur Therapieindikation des neuen Therapeutikums ELAHERE™ (*mirvetuximab soravtansine-gynx*)[®] beim Ovarialkarzinom liefert. Es konnte demonstriert werden, dass durch Modifikationen des IHC-Protokolls und der Verwendung der Leica-Bond-III-Plattform ein stärkeres und gleichmäßigeres Färberesultat erzielt werden konnte. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Anzahl therapiegeeigneter Patientinnen durch das aktuell empfohlene (Ventana-Roche) IHC-Protokoll deutlich unterschätzt werden könnte.

Der nächste spannende Vortrag beschäftigte sich mit der Expression von Claudin 18.2 in den unterschiedlichen Subtypen des Ovarialkarzinoms, wobei sowohl die Primärtumoren als auch assoziierte Metastasen analysiert wurden. Mittels TMA-basierter immunhistochemi-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Tab. 1 Referent*innen (inkl. Keynote Speaker) und ihre Vorträge	
AG Gynäko- und Mammopathologie I, Donnerstag, 01. Juni 2023, 10:30–12:00 Uhr	
Felix Kommos, Heidelberg, Deutschland	DNA-Methylierungsbasierte Analyse seltener mesenchymaler Tumoren des Uterus identifiziert distinkte Signaturen <i>GREB1</i> - und <i>KAT6B</i> -rearrangierter Neoplasmen
Nina Neudeck, Tübingen, Deutschland	Indolamin-2,3-Dioxygenase und PD-L1-Expression in high-grade serösen Karzinomen des weiblichen Genitaltrakts – Günstige Prognostische (Co-)Effekte in einer reklassifizierten großen klinischen Kohorte
Achim Jungbluth, New York, USA	Optimierung des FOLR1-RxD-immunohistologischen Testkits zur Patientenauswahl für die Therapie des Ovarialkarzinoms mittels des neuen Antibody-Drug-Konjugates Elahere (Mirvetuximab/Soravtansine)
Paul Wagner, Erlangen, Deutschland	Expression von Claudin 18.2 in histologischen Subtypen von primären Ovarialkarzinomen und ihren Metastasen
Wiebke Solass, Bern, Schweiz	<i>STK11</i> -mutierter Adnextumor
Esther Oliva, Boston, USA	<i>Keynote lecture: An integrated approach to the diagnosis of mesenchymal tumors of the uterus</i>
AG Gynäko- und Mammopathologie II, Donnerstag, 01. Juni 2022, 14:00–15:30 Uhr	
Stefan Florian, Berlin, Deutschland	A novel organoid system that mimics usual ductal hyperplasia (UDH) and mammary ductal carcinoma in situ (DCIS) suggests that DCIS-related myoepithelial cells are premalignant and from an integral part of intraductal breast lesions
Theo Kraus, Salzburg, Österreich	A pilot study on the epigenomic characterization of luminal A and luminal B breast cancer
Jia Ying, Shijiazhuang, China	Correlation between neutrophil-to-lymphocyte ratio and pathological response to neoadjuvant therapy in triple negative breast cancer
Peter Bronsert, Freiburg, Deutschland	Histologische Erfassung des Therapieansprechens unter Thermoradiotherapie von rezidiviertem Brustkrebs – eine longitudinale Studie
Jonas Derben, Marburg, Deutschland	Software-assisted evaluation of immunophenotypic variation regarding D2-40, CD31 and Prox1 in sinus endothelium in sentinel lymph nodes of invasive breast carcinoma including prognostic impact
Aleix Prat, Barcelona, Spanien	<i>Keynote lecture: The HER2DX genomic test for HER2+ breast cancer</i>
UDH Usual duct hyperplasia DCIS Ductal carcinoma in situ	

scher Analysen konnte gezeigt werden, dass Claudin 18.2 Positivität nahezu vollständig auf die muzinösen Ovarialkarzinome beschränkt war. Da sich in dieser Subgruppe 33 % der Karzinome positiv für Claudin 18.2 zeigten, könnte es ein potenzielles therapeutisches Target bei den muzinösen Ovarialkarzinomen darstellen.

Aus Bern wurde eine Kasuistik eines „*STK11*-mutierten Adnextumors“ vorgestellt. Dabei handelt es sich um eine sehr seltene und noch relativ junge Entität, die in der aktuellen WHO-Klassifikation der Tumoren des weiblichen Genitaltraktes das erste Mal zu finden ist, mit bislang erst 22 publizierten Fällen weltweit. Die Tumoren zeichnen sich durch ein „buntes“ morphologisches Spektrum aus, ohne

spezifisches IHC-Profil. Definierend ist der molekulare Nachweis einer *STK11*-Mutation. Circa die Hälfte der Fälle ist mit dem Peutz-Jeghers-Syndrom assoziiert und 80 % der bekannten Fälle hatten Metastasen oder haben Rezidive entwickelt.

AG Gynäko- und Mammopathologie II

In der Nachmittagssession wurde zunächst durch die Berliner Arbeitsgruppe ein neuartiges organoides System, das die gewöhnliche duktale Hyperplasie und das duktale Mammakarzinom in situ nachahmt, vorgestellt.

Der Vortrag aus Salzburg stellte eine Pilotstudie zur epigenomischen Charak-

terisierung von Luminal-A-like- und Luminal-B-like-Mammakarzinomen vor. Die Wissenschaftler*innen fanden signifikante Unterschiede in den DNA-Methylierungssignaturen zwischen den beiden molekularen Subtypen, die potenziell prognostisch relevant sein könnten.

Die chinesische Forschergruppe aus Shijiazhuang referierte über die Korrelation zwischen dem Verhältnis von neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten (NLR) und dem pathologischen Ansprechen auf eine neoadjuvante Therapie (NACT) bei dreifach negativem Brustkrebs (TNBC) und schlossen aufgrund der signifikanten Ergebnisse, dass die NLR ein potenzieller Biomarker für die Vorhersage des Ansprechens auf NACT bei TNBC-Patient*innen sein könnte.

Weiterhin wurde durch die Freiburger Arbeitsgruppe eine longitudinale Studie, die die histologische Erfassung des Therapieansprechens unter Thermoradiotherapie von rezidiviertem Brustkrebs untersuchte, vorgestellt. Die Thermoradiotherapie korrelierte mit einer Verringerung der lokalen Tumormasse. Zudem wurde die histologische Rückbildung oft früh während der Behandlung beobachtet, während das klinische Ansprechen typischerweise erst nach Abschluss der Therapie sichtbar wurde.

Die Forschergruppe aus Marburg untersuchte mittels softwaregestützter Auswertung der immunphänotypischen Variation von D2-40, CD31 und Prox1 im Sinusendothel in Sentinel-Lymphknoten bei invasivem Mammakarzinom die prognostischen Auswirkungen dieser Variationen und schloss, dass das Konzept der lymphovaskulären Nische, insbesondere im Zusammenhang mit verschiedenen Kofaktoren wie dem Aktivierungsstatus des Immunsystems, beleuchtet werden muss.

Keynote Speaker

Die Sessions wurden zudem durch 2 exzellente Keynote Speaker bereichert: Am Vormittag referierte Esther Oliva (Boston, USA) über „An integrated approach to the diagnosis of mesenchymal tumors of the uterus“. Professor Oliva gab einen systematischen Überblick und ein Update zu den diagnostisch anspruchsvollen mesenchymalen Neoplasien des

Uterus. Die vorweggenommene Take-Home-Message ihres Vortrags war, dass insbesondere bei den selteneren Entitäten die Symbiose aus konventioneller Histomorphologie, dem immunhistochemischen Markerprofil und immer mehr auch den molekularen Alterationen den Weg zur korrekten Diagnose ebnet. Gerade die modernen molekularpathologischen Analysetechniken erlauben eine immer subtilere Klassifikation der mesenchymalen Uterusneoplasien mit einer stetig wachsenden Zahl neuer Entitäten bzw. Subtypen. Beispielsweise wurde das Spektrum myxoider Uterustumoren neben dem altbekannten myxoiden Leiomyosarkom durch den inflammatorischen myofibroblastären Tumor, das *BCOR*-translozierte high-grade endometriale Stromasarkom und kürzlich noch durch das *GLI-1*-Sarkom und die *NTRK*-Sarkome erweitert. Im diagnostischen Alltag sollten somit, basierend auf den Differentialdiagnosen der HE-Morphologie, immer immunhistochemische Markerpanel mit CD10, ER, PR, Cyclin D1, *BCOR*, *ALK*, *ROS*, Pan-*TRK* und muskulären Marker sowie passende molekulare Analysen zur Anwendung kommen.

Bei der Beurteilung epitheloider oder spindelzelliger und epitheloider Uterusneoplasien muss neben dem Spektrum epitheloider glattmuskulärer Neoplasien auch das PECO, der UTROSCT („uterine tumor resembling ovarian sex-cord tumor“), *SMARCA4*-defiziente uterine Sarkome oder sogar das undifferenzierte Karzinom in Betracht gezogen werden. In derartigen Fällen muss das immunhistochemische Markerpanel demnach durch melanozytäre und epitheliale Marker sowie Keimstrangmarker und *SMARCA4* (*BRG1*) ergänzt werden. In Fällen, in denen die epitheloide Komponente „klein- und blau-zellig“ und stark mitotisch aktiv ist, sollte zudem ein *YWHAE*-transloziertes endometriales Stromasarkom mit in die Differentialdiagnosen aufgenommen werden.

Nachmittags stellte Aleix Prat (Barcelona, Spanien) den HER2DX Genomic Assay, ein auf einer 27-Gen-Signatur basierendes Diagnoseinstrument, vor, das speziell für Patientinnen mit HER2-positivem Brustkrebs im Frühstadium entwickelt wurde. Durch die Einbeziehung einer B-Zell-Gen-signatur liefert der HER2DX-Assay wichtige

Einblicke in die Interaktion zwischen dem Tumor und dem Immunsystem. Weiterhin liefert der Assay einen Risikoscore, der Progress- bzw. Rezidivwahrscheinlichkeit vorhersagt, sowie einen Score, der die Wahrscheinlichkeit einer vollständigen Eradikation der Krebszellen nach einer neoadjuvanten Behandlung bewertet. Aufgrund des parallel stattfindenden ASCO 2023 Annual Meetings konnte er leider nicht in Präsenz teilnehmen. Durch die exzellente Unterstützung der DGP-Geschäftsstelle und das Kongressmanagement wurde der Vortrag via Videokonferenz übertragen.

Mitgliederversammlung

In der abschließenden Mitgliederversammlung wurde zum einen die Umsetzung regelmäßiger Treffen der AG diskutiert. Ergebnis: Zunächst soll ein zusätzliches Onlinemeeting stattfinden. Inhalt werden interessante und/oder komplexe Fälle der Gynäko- und Mammopathologie sein, die gemeinsam diskutiert werden. Zusätzlich können auch multizentrische Projektideen vorgestellt werden, um Kooperationspartner*innen zu finden. Zukünftig sollen dann auch Treffen in person umgesetzt werden.

Weiterhin wurde diskutiert, wie der wissenschaftliche Nachwuchs der AG gefördert werden kann. Ergebnis: Wissenschaftlich und diagnostisch an der Gynäko- und Mammopathologie interessierte Assistenzärzt*innen werden durch die AG-Mitglieder zu den (Online-)Meetings der AG eingeladen. So können sie sowohl an den Fortbildungen teilnehmen, als auch Interesse an gemeinsamen Projekten äußern.

Fazit

Die diesjährige Sitzung konnte durch hervorragende Keynote Speaker, zahlreiche interessante, zum Teil durch unseren wissenschaftlichen Nachwuchs präsentierte wissenschaftliche Beiträge und eine gute Organisation glänzen. Die Vorträge wurden intensiv diskutiert. Zudem waren beide Sessions – vorbehaltlich der multiplen parallel laufenden DGP-AG-Sitzungen und des synchron stattfindenden ASCO 2023 Annual Meetings – mit ca. 30 Teilnehmer*innen pro Session sehr gut besucht.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Eike Burandt

Institut für Pathologie, Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf
Martinistr. 52, 20246 Hamburg, Deutschland
e.burandt@uke.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. E. Burandt und R. Erber geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Hämatopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

German Ott

Abteilung für Klinische Pathologie, Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart, Deutschland

Die Arbeitsgemeinschaft Hämatopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP) traf sich am Donnerstag, den 01.06.2023, anlässlich der 106. Jahrestagung der DGP.

Prof. Ming-Qing Du, Cambridge, UK, hielt in diesem Jahr die Keynote Lecture zur „Genetik extranodaler Marginalzonen-Lymphome des MALT“. In einem hochspannenden Vortrag schlug Prof. Du die Brücke von länger etablierten und neu aufgedeckten genetischen Veränderungen im MALT-Lymphom und ihre Bedeutung für chronische Infektionen und/oder autoimmune Reaktionen, die letztendlich die Evolution autoreaktiver B-Zell-Klone triggern. So zeigen MALT-Lymphome der Schilddrüse häufig rekurrente inaktivierende Mutationen von *CD274* und *TNFRSF14*, beides Liganden der co-inhibitorischen Rezeptoren PD-1 und BTLA auf T-Zellen, während Speicheldrüsenlymphome eine häufige Aktivierung von *GPR34* wie auch für *CCR6* aufweisen. Prof. Du führte die Bedeutung lymphoepithelialer Läsionen für die parakrine Stimulation von Tumorzellen aus wie auch die Aktivierung des Chemokinrezeptorsignaling, das durch Liganden entzündlich geschädigter Epithelien induziert wird. Somit konnte die Arbeitsgruppe von Prof. Du eindrucksvoll zeigen, wie Faktoren der angeborenen Immunantwort mit genetischen Alterationen interagieren und mit dem Prozess der Lymphomagenese assoziiert sind. Der Entwicklung von MALT-Lymphomen liegen so onkogene Kooperationen zwischen einer chronischen immunologischen Stimulation (sowohl angeborene wie auch erworbene Immunantwort)

und somatisch-genetischen Veränderungen zugrunde. In den verschiedenen Organen liegen dabei unterschiedliche Ätiologien und damit auch unterschiedliche dieser Komponenten vor, die offenbar organspezifisch ausgebildet sind.

Wissenschaftliches Programm

Frau V.S. Ivanova, Basel, berichtete über eine eindrucksvolle Serie von 27 Fällen primärer Knochenlymphome (PB-DLBCL), die immunhistochemisch und molekularbiologisch aufgearbeitet wurden. Ihre Schlussfolgerung war, dass primäre Lymphome des Knochens eine spezifische Entität darstellen könnten. In bemerkenswerter Weise waren alle untersuchten Fälle den Keimzentruslymphomen (in der Immunhistochemie wie auch in der Genexpression) zuzuordnen. Das Mutationsprofil von PB-DLBCL ähnelt dem follikulärer Lymphome, das Spektrum der Genexpression unterscheidet sich jedoch deutlich von diesen.

Frau J. Richter, Kiel, untersuchte phänotypische und molekulare Eigenschaften primär kutaner diffuser großzelliger B-Zell-Lymphome vom „leg-type“ im Vergleich zu systemischen DLBCL und primären DLBCL des Hodens. In insgesamt 130 primär kutanen DLBCL zeigten sich häufig Mutationen unter Einbeziehung von *MYD88* und *CD79B* und – hierzu passend – ein Non-GCB-Immunphänotyp. Die Autoren schlossen auf eine hohe Ähnlichkeit zwischen primär kutanen DLBCL, systemischen DLBCL vom Non-GCB-Typ und primär testikulären DLBCL.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Frau F. Spada, Ulm, analysierte das Wachstumsmuster von kleinzelligen und großzelligen Varianten nodaler Marginalzonenlymphome und korrelierte die unterschiedlichen Wachstumsmuster mit dem Ki67-Index in der Immunhistochemie. In ihren Untersuchungen dominierten noduläre und gemischte Infiltrationsmuster bei kleinzelligen Varianten, während gemischte Wachstumsmuster bei großzelligen Varianten ganz im Vordergrund standen und die übrigen Wachstumsmuster in etwa gleichmäßig verteilt waren. Zusätzlich konnte eine signifikante Korrelation zwischen einem rein diffusen Wachstumsmuster oder aber einer diffusen Komponente in einem gemischten Wachstumsmuster und höheren Ki67-Indizes nachgewiesen werden. Generell wiesen großzellige Varianten einen höheren Proliferationsindex als kleinzellige Varianten auf.

T. Kraus, Salzburg, präsentierte Ergebnisse einer Pilotstudie zur Analyse des Methyloms bei primären großzelligen ZNS-Lymphomen. Diese Pilotstudie wurde an 3 ZNS-DLBCL und 3 (nodalen) DLBCL, NOS, durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass ZNS-DLBCL und DLBCL, NOS, distinkte Alterationen des Epigenoms/Methyloms aufweisen. Insgesamt 457 Genregionen waren differentiell methyliert, darunter 7 miRNAs, 11 snoRNAs und 9 lncRNAs. Die Autoren hoffen, dass mit dieser Methode eine Möglichkeit zur Unterscheidung primärer ZNS-DLBCL von DLBCL, NOS, mit sekundärer ZNS-Infiltration etabliert werden könnte.

Frau H. Horn, Stuttgart, stellte Ergebnisse zur unterschiedlichen Häufigkeit etablierter histologischer und genetischer Risikofaktoren bei diffusen großzelligen B-Zell-Lymphomen von Patienten unterschiedlicher Altersgruppen vor. Hierzu standen Datensätze älterer Patienten (≥ 60 Jahre, $n=772$) und jüngerer Patienten (18–60 Jahre, $n=119$) aus den Studien der German Lymphoma Alliance (GLA, früher DSHNHL) zur Verfügung. Die Autoren konnten zeigen, dass die Expression von Biomarkern bei Patienten, die eine CR erreicht hatten, und bei Patienten, deren Tumoren therapierefraktär waren oder rezidierten (ref/rel) in beiden Kohorten unterschiedlich waren. Bei älteren Patienten waren eine Überexpression von BCL2 und ein Non-GCB-Subtyp signifikant

häufiger bei ref/rel DLBCL zu beobachten. Die Zahl von Tumoren, die einen Bruch im *BCL2*-Gen und eine erhöhte Proteinexpression für BCL2 aufwiesen, war bei ref/rel-Patienten signifikant erhöht. Diese Patienten wiesen auch einen höheren Prozentsatz an Tumoren mit einer gleichzeitigen Expression von MYC und BCL2 (sogenannter „double expressor“) auf. Hinsichtlich der Mutationsanalysen zeigte sich, dass Mutationen in *TP53*, *MYD88* und *CREBBP* die häufigsten Alterationen in Tumoren älterer Patienten waren, während Mutationen in *TNFAIP3*, *EP300* und *CREBBP* die häufigsten Aberrationen bei jüngeren Patienten waren. *TP53*-Mutationen zeigten eine prognostische Relevanz bei älteren Patienten, während sie dies in der jüngeren Patientenkohorte nicht erkennen ließen. Im Gegensatz hierzu korrelierte der Nachweis von *CREBBP*-Mutationen mit dem Gesamtüberleben bei jüngeren Patienten, nicht aber bei älteren Patienten.

Mitgliederversammlung

In der sich anschließenden Mitgliederversammlung wurde ein kurzes Update über den Stand der neuen, 5. Ausgabe der WHO-Klassifikation hämatolymphoider Tumoren gegeben. Die Herbsttagung der AG Hämatopathologie wird am 25. November 2023 in Würzburg auf Einladung von Prof. A. Rosenwald stattfinden.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. German Ott

Abteilung für Klinische Pathologie, Robert-Bosch-Krankenhaus
Auerbachstr. 110, Stuttgart, Deutschland
german.ott@rbk.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. G. Ott gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Herz-, Gefäß-, Nieren- und Transplantationspathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

J. Wohlschläger¹ · J. H. Bräsen²

¹MVZ für Pathologie, DIAKO gGmbH Flensburg, Flensburg, Deutschland

²Nephropathologie, Institut für Pathologie, Medizinische Hochschule Hannover, Hannover, Deutschland

Die 106. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie fand bei weitestgehend beendeter Pandemie durch SARS-CoV-2 vom 1. bis 3. Juni 2023 in Leipzig als ausschließliche Präsenzveranstaltung statt. Hierin eingeschlossen waren auch die Vorträge und Posterpräsentationen der Arbeitsgemeinschaft Herz-, Gefäß-, Nieren- und Transplantationspathologie.

Privatdozent Dr. Thomas Menter aus Basel beschrieb zunächst die Bedeutung der Elektronenmikroskopie in der Routinediagnostik an Nierentransplantatbiopsien. Eindrücklich wurde auch anhand hervorragender Bildbeispiele die Präzision und Aussagefähigkeit ultrastruktureller Befunde dargelegt, insbesondere in Hinsicht auf die Auswirkungen der Endothelschädigung durch die antikörpervermittelte Rejektion, welche an Nierentransplantaten auf diese Weise graduiert wird. Aber auch bei Manifestation von beispielsweise rekurrenten Nierenkrankheiten spielt die Elektronenmikroskopie an Biopsien von transplantierten Nieren eine entscheidende Rolle und kann nach wie vor durch keine alternative Methodik ersetzt werden.

Als zweiter Keynote-Vortragender gab Prof. Dr. Rainer Bohle, ehemaliger Ordinarius des Instituts für Pathologie am Universitätsklinikum Homburg/Saar, einen ausführlichen Überblick über aktuelle Aspekte der Herztransplantation (HTx), welche nach wie vor die einzige kurative Therapieform bei Herzinsuffizienz im Endstadium darstellt. Trotz bedeutender Fortschritte

bei der medikamentösen Immunsuppression bleibt die akute und chronische Rejektion transplantierten Herzen die bedeutendste Komplikation bei HTx, welche mit hoher Morbidität und Mortalität sowie limitiertem „graft survival“ assoziiert ist. Entsprechend lag ein Schwerpunkt des Vortrags auf der histomorphologischen (und immunhistochemischen) Diagnostik und den Pathomechanismen der akuten zellulären (ACR), der antikörpervermittelten (AMR) Rejektion sowie der Transplantatvaskulopathie („cardiac allograft vasculopathy“, CAV) basierend auf den aktuellen Richtlinien der *International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT)*. Darüber hinaus diskutierte Professor Bohle auch die Rolle non-invasiver Biomarker zur Diagnostik der Rejektion, welche die Häufigkeit durchgeführter Myokardbiopsien bei herztransplantierten Patienten reduzieren soll. Hierbei wurde insbesondere auf die „Donor-derived cell-free DNA“, zirkulierende micro-RNA und den AlloMap-Test eingegangen. Trotz dieser neuen Verfahren bleibt die Myokardbiopsie jedoch weiter ein unverzichtbarer integraler Bestandteil der Rejektionsdiagnostik im Rahmen der HTx.

Dr. Jasper Callemeyn stellte in seinem Vortrag neueste Ergebnisse zur Nierentransplantatabstoßung aus der Gruppe um Prof. Naesens in Leuven/Belgien vor: Von dort sind bahnbrechende neue Erkenntnisse die mikrovaskuläre Entzündung als morphologisches Kennzeichen der humo-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

ralen Rejektion betreffend publiziert worden. Schon länger wird international diskutiert, warum die Diagnose der ABMR (antikörpermedierten Rejektion) an der Niere sehr unterschiedliche Verläufe aufweist und nur zum Teil tatsächlich entsprechende Antikörper auch nachweisbar sind. Die belgischen Daten zeigen, dass zumindest bei einem Teil der Patienten mit dem morphologischen Befund der ABMR einerseits keine donorspezifischen Antikörper nachweisbar sind, andererseits offenbar ein bisher unbekannter bzw. nicht ausreichend beachteter Mechanismus durch das angeborene Immunsystem zugrunde liegt. Dieser wird als „missing self“ bezeichnet und beschreibt eine durch natürliche Killerzellen (NK) betriebene fehlende Toleranz, welche durch HLA-Klasse-I-Moleküle mit entsprechender NK-Signatur vermittelt wird. Hieraus folgt ein wichtiges Argument für Abstoßungsvorgänge jenseits der allgemein akzeptierten adaptiven Immunantwort (T-Zell-vermittelte und antikörpervermittelte Rejektion).

Prof. Dr. Jan Hinrich Bräsen stellte eigene Daten aus seiner Forschungsgruppe zur Bedeutung von Makrophagen sowohl an transplantierten Nieren als auch an Eigennierenkrankheiten vor. Dieser Zelltyp, als ein Hauptvertreter des angeborenen Immunsystems, weist eine hohe Plastizität an Phänotypen auf und wird offenbar erheblich unterschätzt, da diese Zellen in der konventionellen Histopathologie kaum erkennbar sind. Mittels digitaler Methodik an immunhistochemisch gefärbten Schnittpräparaten sind diese Zellen bei erhöhter Dichte an transplantierten Nieren bereits in frühen (6 Wochen nach Transplantation) Biopsien einerseits mit einem erhöhten Risiko für Tod und Transplantatverlust, andererseits für den Langzeit-Funktionsverlust assoziiert und darüber hinaus auch prädictiv für den Funktionsverlust. Bei Eigennierenkrankheiten sind erhöhte Dichten infiltrierender Makrophagen unabhängig von der Art der Krankheit mit Funktionsverlust zum Biopsiezeitpunkt und auch im Langzeitverlauf assoziiert. Derart gesteigerte Infiltrationsdichten gehen mit einem 4fach erhöhten Risiko einer späteren Dialysepflichtigkeit einher, während der bisher einzig akzeptierte Risikofaktor Fibrose diesbezüglich ein 1fach erhöhtes Risiko repräsentiert.

In Vertretung für Dr. med. Maximilian Kinzler (Abteilung für Innere Medizin I, Universitätsklinik Frankfurt am Main) stellt Prof. Dr. med. Peter Wild vom Senkenbergischen Institut für Pathologie der Universitätsklinik Frankfurt/Main eine Studie zur Rolle der konfokalen Fluoreszenzmikroskopie („fluorescence confocal microscopy“; FCM) an Biopsien zur Qualitätsbeurteilung von Lebergewebe, insbesondere Spenderlebern vor. FCM ist eine Methode, mittels derer virtuelle Hämatoxylin-Eosin-Präparate aus nativem Gewebe generiert werden können. Bislang wurde eine mögliche Rolle der FCM als Alternative zur Schnellschnittuntersuchung zur Beurteilung von Spenderlebern nicht evaluiert. Im Rahmen einer entsprechenden Studie wurden 50 Leberbiopsien und -resektate vergleichend mit konventioneller Histologie und FCM basierend auf den Kriterien der Deutschen Stiftung Organtransplantation (DSO) untersucht. Hierbei zeigte sich eine nahezu vollständige Übereinstimmung dieser Methoden bezüglich Cholangitis, Fibrose und Malignität. Auch für makrovesikuläre Steatose, Entzündung, Nekrose und Steatohepatitis zeigte sich ein substantieller Übereinstimmungsgrad. Basierend auf diesen Daten und der zunehmenden Personalknappheit wird FCM als potenzielle Alternative zur konventionellen Histomorphologie vorgestellt.

Die Mitglieder der Arbeitsgemeinschaft Herz-, Gefäß-, Nieren- und Transplantationspathologie wählten Prof. Dr. med. Jan Hinrich Bräsen (Institut für Pathologie, Medizinische Hochschule Hannover) als Sprecher und Prof. Dr. med. Jeremias Wohlschläger (MVZ für Pathologie, DIAKO gGmbH Flensburg) als stellvertretenden Sprecher für die Dauer der kommenden 2 Jahre.

Korrespondenzadresse

Prof. J. Wohlschläger

MVZ für Pathologie, DIAKO gGmbH Flensburg
Knuhthstr. 1, 24939 Flensburg, Deutschland
wohlschlaegerje@diako.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. J. Wohlschläger und J.H. Bräsen geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt.

Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Informatik, digitale Pathologie und Biobanking der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Norman Zerbe

Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland

Die Jahrestagung 2023 in Leipzig hatte einen signifikanten Fokus im Bereich Digitale Pathologie. So gab es neben einer 90-minütigen Sitzung im Hauptprogramm dieses Jahr insgesamt 3 weitere Sitzungen von je 90 min. Dieses spiegelt die stetige Digitalisierung in der Pathologie in Deutschland wider. Erneut wurden ca. 30 Abstracts zur Präsentation ausgewählt – ein Drittel als Vorträge und zwei Drittel als Poster.

Es wurden 2 reguläre Sitzungen der AG Informatik, Digitale Pathologie und Biobanking sowie ein Satellitensymposium mit den Schwestergesellschaften aus Österreich und der Schweiz ausgerichtet. Aufgrund der stetig steigenden Internationalisierung der Teilnehmer und Redner wurden alle Vorträge dieses Jahr auf Englisch präsentiert. Besonders herauszustellen ist dieses Jahr die Internationalität der Referenten und Beiträge. Beide regulären AG-Sitzungen wurden jeweils durch eine Keynote von 30 min gefolgt von einem eingeladenen Beitrag mit 20 min eröffnet. Die restlichen Beiträge wurden durch die eingereichten Abstracts dargestellt. Festzuhalten ist hierbei ebenfalls, dass alle Vorträge in Präsenz gehalten wurden.

Die erste AG-Sitzung am Freitag wurde durch den Sprecher der AG, Norman Zerbe (Berlin), eröffnet. Der 2. Vorsitzende war hier der eingeladene Referent Andrey Bychkov (Kamogawa, Japan). Die Keynote von Prof. Junya Fukuoka (Nagasaki, Japan) mit dem Titel „From WSI to computational pathology and beyond: A decade of practice in digital environment in Japan“ stellte auf eindrucksvolle Weise die Nutzung von

Digitaler Pathologie im Bereich Telepathologie, Remote Signouts sowie der Entwicklung von Algorithmen und deren Nutzung in der Routine in Japan überblicksartig dar. Gefolgt wurde dieser inspirierende Beitrag von dem Beitrag von Prof. Jakob Kather (Dresden) mit dem Titel „Artificial Intelligence for pathology-based biomarkers in oncology“. Hierbei stand insbesondere die Algorithmenentwicklung im Zentrum des Beitrags.

Die zweite AG-Sitzung, geleitet durch die beiden Sprecher der AG, Norman Zerbe und Peter Boor (Aachen), wurde durch die Keynote von Prof. Kamran Mirza (Chicago, USA) mit dem Titel „How disruptive is Digital for (Continuing) Medical Education in Pathology“ eröffnet. In diesem Beitrag wurde anhand vieler Beispiele dargestellt, wie mit interaktiven und innovativen digitalen Methoden und Werkzeugen die Aus- und Weiterbildung besonders ansprechend gestaltet werden kann. Viele der Ansätze lassen sich hierbei auch auf Deutschland und Europa übertragen. In dem zweiten eingeladenen Vortrag stellte Dr. Andrey Bychkov seine Erfahrungen im Bereich „Digital Cytology – tips, tricks (and fails)“ vor.

Alle Vorträge, auch die Beiträge der Abstractautoren, wurden jeweils nach den entsprechenden Vorträgen diskutiert. Es ist hierbei besonders herauszustellen, dass das Interesse der Kongressteilnehmer an den AG-Sitzungen erneut gestiegen ist. Alle Sitzungen waren derart stark besucht, dass Teilnehmer teilweise nur stehend bewohnen konnten. Die Vielzahl an Teilnehmern führte auch zum angeregten und in-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

tensiven wissenschaftlichen Austausch im Rahmen der Diskussionen, welche auch im Anschluss an die Sitzungen in den Pausen weitergeführt wurden. Dieses galt nicht nur für die beiden regulären AG-Sitzungen, sondern auch für das am Samstag stattgefundene „DACH-Symposium on Digital Pathology and AI“. Das große Interesse der Teilnehmer am Austausch mit internationalen Rednern war bemerkenswert und zeigte, dass das diesjährige AG-Programm vollständig den Wünschen und Vorstellungen der Mitglieder und Teilnehmer entsprach. Es ist zu prüfen, inwieweit zukünftig sogar explizit Raum für Diskussionen, zum Beispiel mittels einer Podiumsdiskussion, geschaffen werden kann.

Das DACH-Symposium, welches dieses Jahr erstmalig als Präsenzveranstaltung durchgeführt wurde, stellte die Entwicklungen der Digitalen Pathologie und Künstlichen Intelligenz in der DACH-Region dar. Dieses wurde durch die Sprecher der AGs – Norman Zerbe (Deutsche Gesellschaft für Pathologie – DGP), Johannes Haybäck (Österreichische Gesellschaft für Pathologie – ÖGPath) und Inti Zlobec (Schweizerische Gesellschaft für Pathologie – SGPath) – der 3 deutschsprachigen Fachgesellschaften organisiert. Nach einer einleitenden überblicksartigen Darstellung des Status in den 3 Ländern durch die Organisatoren und Vorsitzenden der Sitzung wurden alternierend jeweils beispielhaft 2 Fachvorträge von eingeladenen Referenten gehalten. Die Referenten waren Peter Boor und Juri Tolkach aus Deutschland, Peter Regitnig und Markus Plass aus Österreich sowie Sabina Berezowska und Rita Sarkis aus der Schweiz.

Der Erfolg der wissenschaftlichen Sitzungen spiegelte sich auch in den Postersitzungen wider, von denen dieses Jahr 2 parallel stattfanden. Bei den Posterbegehungen wurde erneut auf die Dualität der Professionen und Geschlechter Wert gelegt. So konnten mit Frau Nadine Flinzer (Frankfurt) und Herrn Christoph Jansen (Berlin) 2 Computer Scientists sowie mit Frau Saskia von Stillfried (Aachen) und Herrn Simon Schallenberg (Berlin) 2 Patholog:innen als Gutachter gewonnen werden. Als eine weitere Initiative aus der AG ist die dieses Jahr erneut organisierte Posterausstellung zu Verbundprojekten aus

Deutschland zu nennen. Hierzu wurden alle Ordinarien gebeten, entsprechende aktuell laufende Projekte aus den Bereichen KI-Algorithmenentwicklung und Digitale Pathologie im Allgemeinen zu präsentieren. Es wurden hier von 7 Verbänden Poster eingereicht und präsentiert. Nicht zuletzt konnte durch die AG auch der Dialog mit der Industrie sowie die Kommunikation in den Verbundprojekten selbst aktiv unterstützt werden, indem während der gesamten Tagung ein dedizierter Raum für Gespräche und kleinere Workshops zur Verfügung stand.

Die AG-Leitung dankt an dieser Stelle allen Rednern und Moderatoren, ohne deren Hilfe die AG- und Postersitzungen der Jahrestagung 2023 nicht den erzielten Erfolg gehabt hätten. Wir freuen uns bereits jetzt auf die kommende Tagung in München und eine erneute Verbreiterung des Programms sowie ein weiter steigendes Interesse der Teilnehmer an der Digitalen Pathologie und dem Einsatz von Künstlicher Intelligenz im Speziellen sowie der Transformation der Pathologie im Allgemeinen.

Korrespondenzadresse

Norman Zerbe

Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Deutschland
norman.zerbe@charite.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. N. Zerbe gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Kinderpathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Elise Gradhand¹ · Thomas Hager²

¹ Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie, Sektion Kinder und Perinatalpathologie, Universitätsklinikum Frankfurt/Main, Frankfurt, Deutschland

² Institut für Pathologie, MVZ DIAKO Flensburg, Flensburg, Deutschland

Die AG Kinderpathologie traf sich dieses Jahr in 2 separaten Veranstaltungen.

1. Sitzung

Am Donnerstag, den 01.06.2023, traf man sich zu rein kinderpathologischen Themen, die abseits des hämatopathologischen Rahmens der 106. Jahrestagung der DGP lagen. Wir konnten hier 2 herausragende Sprecher einladen. Zunächst gab uns Prof. Dettmeyer (Direktor der Rechtsmedizin in Gießen) einen exzellenten Überblick über die Diagnostik und die Fallstricke bei der lymphozytären Myokarditis im Kindes- und Jugendalter. Des Weiteren konnten wir Ciaran Hutchinson (Kinderpathologe im Great Ormond Street Hospital, London, UK) für einen Vortrag über die Nutzung von Mikro-CTs in Kombination und als möglicher Ersatz für die Autopsie von Feten und Kindern gewinnen.

Im wissenschaftlichen Teil der Sitzung stellte Frau Reitz, vertreten durch Dr. Gretser, die Verteilung des kongenitalen Herzfehlers in dem Kollektiv der Fetozide im Rhein-Main-Gebiet vor. Hierbei wurde erörtert, inwieweit die humangenetische Untersuchung die Diagnostik im Bereich der kongenitalen Herzfehlbildung bereits unterstützt bzw. unterstützen sollte. In einem weiteren Beitrag zu einem klinisch angewandtem Thema wurde die postoperative Gewebsschrumpfung von M.-Hirschsprung-Pull-through-Präparaten vorgestellt, dessen Ergebnisse einen relevanten Input für die Kommunikation zwischen dem Kinderpathologen, den operierenden Kinderchirurgen und auch

den Eltern darstellt. Dieses klinische Projekt stellte ebenfalls Dr. Steffen Gretser aus Frankfurt vor.

2. Sitzung

Dank des Organisators der Jahrestagung, Herr Prof. Fend aus Tübingen, fand am 02.06.2023 eine gemeinsame Sitzung der AG Kinderpathologie und der AG Hämatopathologie zum Thema „Hämatologische Neoplasien bei Kindern“ statt. Hierbei stellten Prof. Gattenlöhner (Direktor des Instituts für Pathologie in Gießen), sein klinischer Kollege Prof. Körholz (Direktor der Kinderklinik in Gießen) und der Molekularbiologe Prof. Breuninger (Institut für Pathologie in Gießen) die Fortschritte bei der Untersuchung bei pädiatrischen Hodgkin-Lymphomen vor. Sie hoben auch hervor, dass die zentrale Referenzierung und dabei auch Sammlung von Fällen eine effektive Studienführung unterstützt. Des Weiteren stellte Frau Dr. Jox (ebenfalls Gießen) ihr Projekt zur Ganzgenomsequenzierung zirkulierender Tumor-DNA in pädiatrischen Hodgkin-Lymphomen vor. Am Ende der Sitzung trug Frau Prof. Rudelius aus München ihren hochinteressanten Vortrag zu den Myelodysplasien und der konstitutiven Störung der Hämatopoese im Kindesalter vor. Sie hob in ihrem Vortrag die Unterschiede zu den Myelodysplasien des Kindes- und Erwachsenenalters hervor, und dass ein multidisziplinäres Vorgehen, um die korrekte Diagnose zu erlangen, essentiell ist.

Wir bedanken uns hiermit noch einmal bei Prof. Fend und den Organisatoren, die



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

diese 2. Sitzung der Kinderpathologie als gemeinsame Sitzung mit der AG Hämatopathologie möglich gemacht haben.

In beiden Sitzungen fanden sehr interessante und konstruktive Diskussionen statt.

Mitgliederversammlung

Bei der sich anschließenden Mitgliederversammlung wurde beschlossen, eine ausführliche Mitgliederversammlung zur Gemeinsamen Herbsttagung der AG Kinderpathologie und der Fachgesellschaft der Kinderpathologie im November 2023 in Bonn abzuhalten.

Korrespondenzadresse

Dr. med. Elise Gradhand, FRCPath (paeds)

Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie,
Sektion Kinder und Perinatalpathologie,
Universitätsklinikum Frankfurt/Main
Theodor-Stern-Kai 7, 60590 Frankfurt,
Deutschland
elise.gradhand@kgu.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. E. Gradhand und T. Hager geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S250–S251
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01225-1
Angenommen: 11. August 2023
Online publiziert: 22. September 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Knochen-, Gelenk- und Weichgewebspathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Die Sitzung der AG Knochen-, Gelenk- und
Weichteilpathologie fand am 01.06.2023 im Rahmen der
Jahrestagung der DGP in Leipzig statt

Thomas F. E. Barth¹ · Bruno Märkl²

¹Institut für Pathologie, Universität Ulm, Ulm, Deutschland

²Institut für Pathologie, Universität Augsburg, Augsburg, Deutschland

Die Sitzung wurde von Thomas F.E. Barth (Ulm) und Bruno Märkl (Augsburg) geleitet. Eröffnet wurde Sitzung mit einem Übersichtsvortrag zu Riesenzelltumoren (RZT) des Knochens von Thomas F.E. Barth (Ulm), in dem auf differentialdiagnostische Aspekte des RZT in der Abgrenzung von anderen riesenzellhaltigen Läsionen des Knochens wie der aneurysmatischen Knochenzyste, dem nichtossifizierenden Fibrom, dem braunen Tumor des Knochens und dem Chondroblastom eingegangen wurde. Dabei wurde auch auf die Bedeutung des mutationsspezifischen Antikörpers G34w eingegangen, der zuverlässig eine Mutation im Histongen *H3F3A* im Gewebe erkennt und die Diagnose des RZT am Schnitt mittels immunhistologischer Färbung erheblich erleichtert.

In einem weiteren Übersichtsvortrag von Pavlo Lutsik (Leuven, Niederlande) wurde auf die Rolle des Onkohistons H3.3-G34W in RZT eingegangen. Gezeigt werden konnte, dass die Mutation in dem Histon die wesentliche Treibermutation in RZT ist und zu einer erheblichen Modellierung des Epigenoms in der neoplastischen Zellpopulation führt. Durch die Mutation kommt es zu einer Hypomethylierung des Genoms und einer erhöhten Zugänglichkeit des Heterochromatins. Insbesondere

wurde eine Hypomethylierung des RANKL-Promoters in den mutierten Zellen detektiert, was die Überexpression des Liganden in den neoplastischen Zellen mit erklärt. Gleichzeitig wurden verringerte Werte für die Histonmarker H3K4me3 und H3K27ac im Osteoprotegerin-Lokus gemessen. Diese Marker dienen normalerweise einer Aktivierung der Transkription naheliegender Gene. Da diese im RZT herabreguliert sind, kann über diesen Mechanismus die Herunterregulation von Osteoprotegerin als Gegenregulator von RANKL im RZT mit erklärt werden. Eine weitere Untersuchung durch RNA-Sequenzierung zeigte eine reduzierte Expression des Tumorsuppressors EBF3 und eine nahezu erloschene Expression des Transkriptionsfaktor EBF2. Eine fokale Hypermethylierung der *EBF2*-Promoterregion, erhöhte Werte für H3K9me3 und H3K27me3 sowie verringerte Werte von H327ac belegen zudem eine Blockade von Osteoprotegerin. Diese Ergebnisse stellen erstmalig eine Verbindung zwischen der einzigen wiederkehrenden Mutation im RZT, *H3.3-G34W*, und den epigenetischen Veränderungen in den neoplastischen Stromazellen in Sinne einer genomweiten Hypomethylierung mit folgender Heterochromatininstabilität her.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Anschließend referierte Herr Gianluca Lutteri (Ulm) über den Einfluss von Parathormon und Calcitriol auf aus Riesenzell-tumoren des Knochens etablierten stabilen Zelllinien. Gezeigt werden konnte, dass die Behandlung der Linien mit Calcitriol zu einer verminderten RANKL-Expression führt, während Parathormon die RANKL-Synthese in den Linien steigert. Der Schluss wurde gezogen, dass die Linien des RZT, im Gegensatz zur physiologischen Situation, abgekoppelt sind von der Regulation durch Calcitriol.

Frau Sophia Arndt (Ulm) stellte in ihrem Vortrag einen Vergleich von Riesenzell-tumoren des Knochens im Rezidiv im Vergleich zu einer Behandlung des Tumortyps mit Denosumab vor. Sie konnte zeigen, dass die Pathomorphose des Riesenzell-tumors des Knochens unter Denosumab mit einer Reduktion von *H3F3A*-mutierten Zellen und Reduktion von *RUNX2* und *SATB2* einhergeht, wobei sich keine Gesetzmäßigkeit in der Matrixformation unter Denosumab nachweisen ließ und folglich morphologische Veränderungen unter Denosumab auch einen individuellen Hintergrund zu haben scheinen.

Herr Thomas Knösel (München) stellte in seiner publizierten Studie Daten zur *TIM3*-Expression in hochmalignen Sarkomen vor. Die Autoren konnten zeigen, dass *TIM3* sehr häufig in high-grade Sarkomen exprimiert wird und folglich einen potenziellen Marker für eine Immunblockade darstellt.

Frau Gunhild Mechttersheimer (Heidelberg) stellte eine Sequenzierstudie an biphenotypisch differenzierten sinonasalen Sarkomen vor. Sie konnte zeigen, dass diese Sarkome charakterisiert sind durch die Fusion von *PAX3::MAML3*. Weiter konnte sie belegen, dass diese Sarkome ein distinktes Methylierungsmuster aufweisen und sich klar von Rhabdomyosarkomen abgrenzen lassen.

Eva Wardelmann (Münster) stellte eine Studie zu *CIC*-rearrangierten Sarkomen vor. In der Analyse wurden 37 *CIC*-rearrangierte Sarkome mittels FISH und RNA-Sequenzierung analysiert. Sie konnte zeigen, dass mittels FISH rearrangierte Sarkome oft keine RNA-Fusionstranskripte zeigen und folglich die FISH-Analyse die Methode der Wahl ist, um diese seltenen Sarkome zu identifizieren.

In der Zusammenschau wurden in der Sitzung als Schwerpunkt der Riesenzell-tumor des Knochens, aber auch weitere Sarkome abgehandelt und sehr engagiert auch von Doktoranden*innen präsentiert. Folglich ist die AG ein weiterhin wertvolles Forum, um wissenschaftliche Ergebnisse, möglicherweise zum ersten Mal, vor einem kritischen Publikum zu präsentieren. Einige der Beiträge liegen als Originalarbeiten bereits publiziert vor. Die Diskussion war lebhaft und konstruktiv und es konnten in der Sitzung bis zu 25 Besucher gezählt werden. Die hier im Bericht maximal kondensierten Beiträge sind in dem Tagungsband elektronisch und gedruckt hinterlegt. Das nächste offizielle Treffen der AG ist wieder im Rahmen der DGP in München 2024 geplant.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Thomas F. E. Barth
Institut für Pathologie, Universität Ulm
Albert-Einstein-Allee 11, 89081 Ulm,
Deutschland
thomas.barth@uniklinik-ulm.de

Prof. Dr. med. Bruno Märkl
Institut für Pathologie, Universität Augsburg
Stenglinstr. 2, 86156 Augsburg, Deutschland
bruno.maerkl@uk-augsburg.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. T.F.E. Barth und B. Märkl geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S252–S253
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01281-7
Angenommen: 30. Oktober 2023
Online publiziert: 21. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Kopf-Hals-Pathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

N. Rupp

Institut für Pathologie und Molekularpathologie, Zürich, Schweiz

Die Sitzung der AG Kopf-Hals-Pathologie im Rahmen der 106. Jahrestagung der DGP in Leipzig umfasste 5 spannende Vorträge (siehe **Tab. 1**), welche in einer persönlichen Atmosphäre mit abwechslungsreichen Diskussionen vorgetragen wurden. Insbesondere positiv sei hierbei der hohe Anteil an Nachwuchsforschenden hervorzuheben, die ihre Arbeiten hervorragend präsentierten. Schwerpunkte waren prognostische Biomarker im Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinom sowie eine unmittelbar am klinischen Alltag orientierte Arbeit zur verbesserten Diagnostik schwieriger dysplastischer Veränderungen in der Mundschleimhaut. Weitere Forschungsthemen waren die molekulare Charakterisierung des sinusalen adenoidzystischen Karzinoms sowie eine innovative Arbeit zur digitalen Analyse und Voraussage molekularer Alterationen im Schilddrüsenkarzinom, welche die engen Schnittstellen mit der digitalen, molekularen und endokrinen Pathologie ausgezeichnet aufzeigte. Eine weitere innovative Arbeit zur Untersuchung von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle mittels digitaler Multiplex-Bildanalyse des Mikromilieus wurde im Rahmen des Hauptprogramms im Themenbereich Multiparametrische Gewebeparametrisierung präsentiert. Wir freuen uns auf ein weiteres persönliches Zusammentreffen bei der nächsten Jahrestagung in München 2024, bei der alle Interessierten herzlich eingeladen sind.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. N. Rupp

Institut für Pathologie und Molekularpathologie

Schmelzbergstr. 12, 8091 Zürich, Schweiz

niels.rupp@usz.ch

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. N. Rupp gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Tab. 1 Beiträge aus dem Bereich Kopf-Hals-Pathologie auf der DGP-Jahrestagung 2023 in Leipzig	
Art	Beitrag
Vortrag AG-Sitzung	Predicting clinically relevant genetic alterations from conventional histopathological slides of thyroid carcinoma using vision transformers I. Marion ¹ , C. Mueller ¹ , C. Glasner ¹ , S. Schulz ¹ , A. Fernandez ¹ , W. Roth ¹ , S. Strobl ¹ , D.-C. Wagner ¹ , A. Schad ¹ , J.N. Kather ² , T.J. Musholt ³ , J.I. Staubitz ³ , N. Hartmann ¹ , S. Försch ¹ ¹ Universitätsmedizin Mainz, Institut für Pathologie, Mainz, Germany, ² Else Kroener Fresenius Center for Digital Health, Technische Universität Dresden, Dresden, Germany, ³ Universitätsmedizin Mainz, Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie, Mainz, Germany
Vortrag AG-Sitzung	Clinico-pathological characterization of sinonasal adenoid cystic carcinoma reveals high prevalence of MYB-NFIB gene fusion and prognostic factors T. Mauthe ^{1,2} , C. M. Meerwein ¹ , D. Holzmann ¹ , U. Held ³ , S.N. Freiberger ^{2,4} , N. J. Rupp ^{2,4} ¹ Department of Otorhinolaryngology – Head and Neck Surgery, University Hospital Zurich, Zurich, Switzerland, ² Faculty of Medicine, University of Zurich, Zurich, Switzerland, ³ Department of Biostatistics, Epidemiology, Biostatistics, and Prevention Institute, University of Zurich, Zurich, Switzerland, ⁴ Department of Pathology and Molecular Pathology, University Hospital Zurich, Zurich, Switzerland
Vortrag AG-Sitzung	The concept of differentiated dysplasia in oral potential malignant disorders and its translation to daily practice A.-S. Becker ¹ , M. Holm ¹ , J. Liese ² , A. Zimpfer ¹ ¹ Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Rostock, Rostock, Germany, ² Department of Oral, Maxillofacial and Plastic Surgery, University Medical Centre of Rostock, Germany, Rostock, Germany
Vortrag AG-Sitzung	TRIM21 Expression as a Prognostic Biomarker for Progression-free Survival in HNSCC A. von Bernuth ¹ , J. Ribbat-Idel ¹ , L. Klapper ¹ , T. Jagomast ¹ , J. Kirfel ¹ , D. Rades ² , A. Leichte ³ , R. Pries ³ , K.-L. Bruchhage ³ , S. Perner ^{1,4} , A. Offermann ¹ , V. Sailer ¹ , C. Idel ³ ¹ Institut für Pathologie, UKSH Campus Lübeck, Lübeck, Germany, ² Klinik für Strahlentherapie, UKSH Campus Lübeck, Lübeck, Germany, ³ Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, UKSH Campus Lübeck, Lübeck, Germany, ⁴ Pathologie des Forschungszentrums Borstel, Leibniz Lungenzentrum, Borstel, Germany
Vortrag AG-Sitzung	CMTM6-Status in Head & Neck Squamous Cell Cancer Predicts Survival and Response to Radiochemotherapy C. Kluge ¹ , A. Zimpfer ¹ , D. Strüder ² , A. Erbersdobler ¹ , C. Maletzki ³ , A.-S. Becker ¹ ¹ Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Rostock, Rostock, Germany, ² Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, Rostock University Medical Center, Rostock, Germany, ³ Department of Internal Medicine, Medical Clinic III Hematology, Oncology, Palliative Medicine, Rostock University Medical Center, Rostock, Germany
Vortrag Hauptprogramm	Integrative modeling of multiplex imaging data identifies a spatial immune signature of oral squamous cell carcinoma histological grade J. Einhaus ^{1,2} , D. Gaudilliere ³ , J. Hedou ² , D. Feyaerts ² , M. G. Ozawa ⁴ , M. Sato ² , E. A. Ganio ² , A. S. Tsai ² , I. A. Stelzer ² , K. C. Bruckman ³ , T. A. Bonham ² , M. Diop ² , L. Ferreira ⁵ , X. Han ⁵ , C. M. Schürch ¹ , B. Gaudilliere ² ¹ Universität Tübingen, Abteilung für Pathologie und Neuropathologie, Tübingen, Germany, ² Stanford University, Department of Anesthesiology, Perioperative and Pain Medicine, Palo Alto, United States of America, ³ Stanford University, Department of Surgery, Palo Alto, United States of America, ⁴ Stanford University, Department of Pathology, Palo Alto, United States of America, ⁵ University of the Pacific, Arthur Dugoni School of Dentistry, San Francisco, United States of America
Poster	Nectin-4 is widely expressed in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma C. Sanders ¹ , J.-F. Lau ¹ , D. Dietrich ² , S. Strieth ² , P. Brossart ³ , G. Kristiansen ¹ ¹ Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Germany, ² Hals-Nasen-Ohren-Klinik, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Germany, ³ Hämatonkologie/medizinische Klinik III, Universitätsklinikum Bonn, Bonn, Germany

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Molekularpathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

U. Siebolts¹ · J. Sperveslage³ · N. Pfarr²

¹ Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Köln, Köln, Deutschland

² Institut für Pathologie, TUM School of Medicine and Health, Technische Universität München, München, Deutschland

³ Institut für Molekularpathologie, Münster, Deutschland

In diesem Jahr war die Deutsche Gesellschaft für Pathologie (DGP) nach 2011 erneut in Leipzig zu Gast. Bei wunderschönem Wetter bot das Congress Center Leipzig (CCL) an der neuen Messe mit der modernen Glasarchitektur einen lichtdurchfluteten, modernen Rahmen.

Als größte Arbeitsgruppe der DGP wurden wissenschaftliche Beiträge in 3 Sitzungen am Freitag und Samstag sowie im Rahmen der Posterausstellung präsentiert. Ein Schwerpunkt der Tagung war die Hämatopathologie und so gab es zusammen mit der AG Molekularpathologie eine vierte Sitzung am Samstag zum Thema „Molekulare Diagnostik bei hämatologischen Neoplasien“ im Rahmen des Hauptprogramms. Die Sitzungen sowie die Posterausstellung der AG wurden vom Kongresspublikum sehr gut und in großer Zahl angenommen.

Aus der Postersession der AG Molekularpathologie wurden die Poster „Comparative bioinformatic analysis of *KRAS*, *STK11* and *KEAP1* (co-)mutations in Non-Small Cell Lung Cancer with a special focus on *KRAS* G12C“ von Myriam Boeschen aus Leipzig und „N-Glycan in-situ Characterization of Small Blue Round Cell Tumors“ von Juliana Goncalves aus München für das beste Poster nominiert. In der Best-Poster-Runde ging der Posterpreis dann an Juliana Goncalves und wurde von Kristina Schwamborn aus München entgegengenommen.

Die erste Sitzung fand am Freitagnachmittag 14:30–16 Uhr statt und wurde von

Vanessa Welter aus Köln mit praxisorientierten Informationen zu Grenzwerten zur Bewertung der *MLH1*-Promotormethylierung bei Verwendung verschiedener Methoden eröffnet. Anschließend folgten 3 Vorträge zum Thema homologe Rekombinationsdefizienz (HRD). Theo Kraus aus Salzburg berichtete über eine Pilotstudie zum epigenomischen Profiling der HRD am high-grade serösen Ovarialkarzinom. HRD-Bestimmung durch „targeted next generation sequencing“ beim Ovarialkarzinom folgte mit einem Vortrag von Irina Bonzheim aus Tübingen. Abschließend informierte uns Nicole Pfarr aus München über die Ergebnisse und Hintergründe des HRD-Ringversuchs der QulP. Die Sitzung wurde abgerundet durch weitere Vorträge von Michale Ihle aus Köln über den Vergleich von 5 molekularbiologischen Methoden zum Nachweis und zur Genotypisierung von humanen Papillomaviren (HPV) und zum Thema „Deletionen mit Mikrohomologien – Muster der DNS-Doppelstrangbruchreparatur“ von Susanne Beck aus Heidelberg.

In der zweiten Sitzung am späten Nachmittag (17:15–18:25 Uhr) begann Alireza Saraji aus Lübeck mit einem Vortrag über eine umfassende transkriptomische Analyse von Prostatakrebs-Lungenmetastasen im Vergleich zu Knochenmetastasen mit interessanten Ergebnissen zum Immunphänotyp. Im nächsten Vortrag stand dann das intrahepatische Gallengangkarzinom im Vordergrund mit dem Vortrag „Aber-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

rant fucosylation sustains the NOTCH and EGFR/NF- κ B pathways and is a negative prognostic factor in human intrahepatic cholangiocarcinoma“, präsentiert von Sara Steinmann aus Regensburg. Sie präsentierte auch den folgenden Vortrag über eIF4A1 als „actionable target“ mit prognostischer Aussage beim hepatozellulären Karzinom. Auch Theo Kraus aus Salzburg hielt seinen zweiten Vortrag an diesem Tag in der AG-Molekularpathologiesession mit dem Titel: „Integrated epigenome-wide methylation analysis of *EGFR* amplified Glioblastoma“. Als letzter Redner des Tages sprach Sebastian Dintner über die Einzelzellkern-RNA-Sequenzierung von Normal- und Tumorgewebe des Magens und inwieweit dies die Untersuchung der tumoralen Heterogenität nach neoadjuvanter Behandlung ermöglicht.

Am späten Samstagvormittag fand die gemeinsame Sitzung der AG Hämatopathologie und der AG Molekularpathologie im Hauptprogramm von 10:45 Uhr bis 12 Uhr statt. Die Moderator*innen Nicole Pfarr aus München und Udo Siebolts aus Köln führten die Veranstaltung durch 4 hervorragende Vorträge eingeladener internationaler Sprecher*innen. Es begann Davide Rossi aus Bellinzona, Schweiz, mit einem breiten Diskussionsbeitrag zum wichtigen Thema „Liquid Biopsy in Lymphoma“. Als nächste Sprecherin durften wir Patricia Groenen aus Nijmegen, Niederlande, begrüßen. Auch ihr Thema „NGS-based clonality analysis from the EuroClonality perspective“ wurde ebenso gut angenommen und ausführlich im Anschluss diskutiert wie das Ihres Vorredners. Es folgten 2 Vorträge aus Deutschland zunächst von Sebastian Dintner, Augsburg, über NGS-basierte Leukämiediagnostik gefolgt von Irina Bonzheim, Tübingen, über die molekulare Diagnostik des vitreoretinalen Lymphoms.

Die vierte und letzte Sitzung der AG Molekularpathologie von 14:15 Uhr bis 15:45 Uhr begann mit einem Erfahrungsbericht über NGS-basierte Qualitätssicherung des College of American Pathologists (CAP) durch Silke Lassmann aus Freiburg. Danach sprach Volkhart Seitz aus Berlin über „Specific T-cell receptor beta rearrangements of gluten-triggered circulating CD8⁺ T-cells are significantly enriched in duodenal celiac disease speci-

men“ gefolgt von Erfahrungen zu Analyse, Interpretation und strukturierter interaktiver Befundung von großen Genpanels und Whole-Exome-Sequenzierung (WES) in der molekularen pathologischen Diagnostik, wiederum aus Freiburg von Sebastian Kral. Auch das abschließende Thema wurde von den Freiburger Kolleg*innen gestellt. Steffen Wolter berichtete über Low-Input-WES an kompromittierten Tumorgewebe – eine Herausforderung für die molekulare pathologische Diagnostik.

Die Sitzung wurde durch die Mitgliederversammlung der AG Molekularpathologie geschlossen. Udo Siebolts berichtete als Sprecher der AG über die Aktivitäten der AG aus dem vergangenen Jahr, insbesondere über die Aktivitäten der Sub-AG „Strukturierte Fortbildung für Naturwissenschaftler*innen in der molekularen Diagnostik im Fach Pathologie“. Im Anschluss fand die turnusgemäße Wahl der AG-Sprecher statt.

Wir blicken auf eine sehr gelungene Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie zurück und bedanken uns bei allen an der Organisation Beteiligten, namentlich dem Tagungspräsidenten Herrn Prof. Falko Fend sowie allen Vortragenden in den Sitzungen sowie den Posterautor*innen der AG Molekularpathologie für ihre qualitativ hochwertigen Beiträge.

Hinweisen möchten wir auf die kommende 13. Herbsttagung der AG Molekularpathologie vom 17. bis 18. November in Frankfurt a.M. und freuen uns, auch im nächsten Jahr die Jahrestagung der DGP in München als AG Molekularpathologie aktiv mitgestalten zu können.

Korrespondenzadresse

PD Dr. med. Dr. nat. med. U. Siebolts
Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Köln
Kerpener Str. 62, 50937 Köln, Deutschland
udo.siebolts@uk-koeln.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. U. Siebolts, J. Sperveslage und N. Pfarr geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Thoraxpathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Christiane Kümpers¹ · Konrad Steinestel²

¹ Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Lübeck, Deutschland

² Abt. XIII, Institut für Pathologie und Molekularpathologie, Bundeswehrkrankenhaus Ulm, Ulm, Deutschland

Nach dem Abklingen der Coronapandemie waren sowohl das Frühjahrstreffen 2023 in Ulm als auch die Sitzung der AG Thoraxpathologie im Rahmen der Jahrestagung der DGP in Leipzig wieder als persönliche Treffen möglich. Die rasanten Entwicklungen im Bereich der molekularen Biomarker sowie der Immunologie des Lungenkarzinoms, aber auch nicht-neoplastische/interstitielle Lungenkrankungen (ILD) und Folgeerkrankungen nach COVID-19 („coronavirus disease 2019“) standen im inhaltlichen Fokus beider Treffen. Darüber hinaus boten beide Anlässe zahlreiche Möglichkeiten zum fachlichen und persönlichen Austausch sowie zum Auffrischen oder Vertiefen wissenschaftlicher Netzwerke.

Frühjahrstreffen 2023 am Bundeswehrkrankenhaus Ulm

Die Frühjahrstagung der Arbeitsgemeinschaft Lungen- und Thoraxpathologie fand am 24. und 25. Februar 2023 am Bundeswehrkrankenhaus Ulm statt (Organisation: Konrad Steinestel) und war mit über 50 Teilnehmerinnen und Teilnehmern aus den Fachgebieten Pathologie, Pneumologie, Onkologie und Radiologie gut besucht. Nach Begrüßung der Teilnehmer durch Oberstarzt Dr. Guido Weisel (stellvertretend für den Kommandeur BwKrhS Ulm) und Oberstabsarzt Dr. Sonja Förster (DGWMP) führte ein Themenblock in Aufgaben und Aufbau des Bundeswehrkrankenhauses Ulm vor dem Hintergrund des Auftrags des Sanitätsdienstes der Bundeswehr ein. Passend hierzu referierte Oberfeldarzt PD Dr. Christian Beltzer

(BwKrhS Ulm, **Abb. 1**) zu „damage control surgery“ in den Einsatzszenarien der Bundeswehr.

Den Auftakt zur zweiten Session bildete Prof. Sabina Berezowska (Lausanne), die sich mit neuen Entwicklungen in der histo- und molekularpathologischen Diagnostik des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms einschließlich des Regressionsgradings nach neoadjuvanter Chemo(immun)therapie befasste und die neue molekulare Subtypisierung des kleinzelligen Lungenkarzinoms vorstellte. Komplementär dazu zeigte PD Dr. Martin Faehling (Esslingen) auf, welche Informationen aus Sicht des Onkologen unabdingbar und zeitkritisch sind. Dr. Christiane Kümpers (Lübeck) schloss die Session mit der Vorstellung eines ihrer aktuellen Forschungsprojekte zur Rolle von Serpin B13 im Plattenepithelkarzinom der Lunge.

Am Abend lernten die Teilnehmerinnen und Teilnehmer die Stadt Ulm im Rahmen einer medizinhistorischen Stadtführung auf den Spuren der Pest kennen. Beim anschließenden Abendessen in der Museumsgesellschaft mit nächtlichem Blick auf das Ulmer Münster klang der Abend bei weiteren Gesprächen aus.

Der zweite Tag stand im Zeichen der nicht-neoplastischen Lungenkrankungen. Unter dem Vorsitz von Prof. Sabina Berezowska (Lausanne) und Prof. Danny Jonigk (Aachen) wurden im Rahmen eines multidisziplinären ILD-Boards unter Beteiligung der Pathologie (Oberstarzt Prof. Steinestel), der Radiologie (Flottillenarzt PD Dr. Carsten Hackenbroch) und der Pneumologie (Oberfeldarzt Kristin Wal-



QR-Code scannen & Beitrag online lesen



Abb. 1 ▲ Oberfeldarzt PD Dr. Christian Beltzer (BwKrhS Ulm) referierte zu „damage control surgery“ in den Einsatzszenarien der Bundeswehr

ter) mehrere Fallbeispiele interstitieller Lungenerkrankungen intensiv diskutiert. Im Anschluss stellte Dr. Braubach (Hannover) seine Arbeiten zur alveolären Fibroelastose vor. Ein Highlight bildete die virtuelle Keynote Lecture von Sanjay Mukhopadhyay (Cleveland, USA), Autor zweier Fachbücher zur Lungenpathologie und zahlreicher wegweisender Fachartikel zur Diagnostik und Klassifikation von ILD.

Nach einem gemeinsamen Mittagessen referierte Prof. Wilhelm Bloch (Köln) zu Folgen der COVID-19-Erkrankung aus Sicht der Sportmedizin. Dr. Saskia von Stillfried (Aachen) stellte die Auswertungen des dt. COVID-Obduktionsregisters zu Verstorbenen in zeitlichem Zusammenhang zu einer COVID-Impfung vor und konnte darlegen, dass sich selbst in dieser weltweit größten und hochselektierten Kohorte kein Risikosignal in Bezug auf die gängigen COVID-19-Impfstoffe ergibt. Prof. Danny Jonigk (Aachen) zeigte schließlich, wie die Analyse von Gewebeeränderungen in der Lunge von an COVID-19 Verstorbenen den Weg zu neuen, hochauflösenden Me-

thoden der zerstörungsfreien mikroskopischen Bildgebung ebnet.

Insgesamt bot die Tagung am Bundeswehrkrankenhaus Ulm somit einen aktuellen Einblick in gegenwärtige Entwicklungen bei neoplastischen und nicht-neoplastischen Lungenerkrankungen.

Jahrestagung 2023

Im Rahmen der Jahrestagung 2023 fand die Session der AG Thoraxpathologie unter der Leitung von Verena Tischler (Bonn) und Konrad Steinestel (Bundeswehrkrankenhaus Ulm) am Donnerstag, 01.06.23 nachmittags (14:00–15:30 Uhr) im Vortragsraum 10, gefolgt von der Sitzung der AG, statt.

Thematisch lag der Fokus auf neoplastischen Erkrankungen mit Beiträgen zum Lungenkarzinom, Thymom bzw. Thymuskarzinom. Weiterhin wurden die seltenen kongenitalen pulmonalen Atemwegsmalformationen angesprochen.

Eröffnet wurde die Session von Stefan Küffer (Göttingen) mit seinem Beitrag zum metastasierten Thymom „Phosphopro-

teom-Analysen identifizieren eine TYRO3-vermittelte Sunitinib-Resistenz in metastasierten Thymomen“. In diesem Forschungsprojekt wurde mithilfe indirekter und direkter Phosphoproteomanalysen gezeigt, dass Thymome bzw. Thymuskarzinome Sunitinib-sensible Rezeptortyrosinkinasen exprimieren. Unter diesen wurde TYRO3 als potenter Vermittler der Sunitinib-Resistenzaktivität identifiziert. TYRO3 könnte somit sowohl ein neuer Biomarker für Sunitinib-Resistenz als auch ein potenzielles therapeutisches Ziel bei fortgeschrittenen Thymomen und Thymuskarzinomen darstellen [1].

Ein weiterer Beitrag zum Thymom bzw. Thymuskarzinom kam von Tiemo S. Gerber (Mainz), mit dem Titel „Epidemiology of thymoma and thymus cancer in the United States and Germany, 1999–2019“. Dies ist die erste Studie, in der die epidemiologischen Daten von epithelialen Tumoren des Thymus in Deutschland in einer großen Kohorte systematisch untersucht wurden. Aufgrund ihrer Seltenheit und Komplexität gibt es dazu kaum Daten.

Maximilian von Laffert (Leipzig) referierte zu den seltenen kongenitalen pulmonalen Atemwegsmalformationen: „Konventionell-morphologische, immunhistologische und molekularpathologische Charakterisierung von kongenitalen pulmonalen Atemwegsmalformationen (CPAM)“. Bislang 39 CPAM-Fälle wurden immunhistochemisch (18 Marker-Panel) in Bezug auf Zytokeratin-Expression, Zellzyklus und Transkriptionsfaktoren analysiert sowie mit „next generation sequencing“ (NGS: 40 Gen-Panel; 113 Fusions-Panel) untersucht. Die vorgestellten vorläufigen Daten lassen vermuten, dass eine Subklassifikation, basierend auf Proteinexpression (wie Napsin/CK 20) und molekularen Daten (KRAS-Status), angemessener als die bisherige konventionelle Histologie (Stocker-Klassifikation) erscheint.

Drei Beiträge widmeten sich dem Lungenkarzinom: Christiane Kumpers (Lübeck), sprach in dem Beitrag „Deciphering molecular mechanisms of chemoresistance in SCLC“ über molekulare Veränderungen auf Transkriptomebene des kleinzelligen Karzinoms im Verlauf der Chemotherapie und legte dar, dass das SCLC vor und nach Therapie Unterschiede

in KRAS-Signalwegen und Signalwegen der DNA-Reparatur aufweist.

Yuan Chen (Jena) berichtete über die Funktion von tumorintrinsicem PD-L1 in ihrem Vortrag „Tumorintrinsic PD-L1 übt eine onkogene Funktion durch Aktivierung des Wnt/ β -Catenin-Signalwegs bei menschlichem nicht-kleinzelligem Lungenkrebs aus“. In dieser vorliegenden Studie wurden „Gain-of-function“- und „Loss-of-function“-Strategien sowie exosomale MicroRNA-Analysen eingesetzt, um die funktionelle Rolle von PD-L1 beim NSCLC zu analysieren. Die vorgestellten Daten deuten darauf hin, dass PD-L1 durch die Aktivierung der Wnt/ β -Catenin-Signalübertragung eine onkogene Funktion in NSCLC-Zellen ausübt und weiterhin als potenzieller diagnostischer Marker für das Plattenepithelkarzinom der Lunge dienen kann [2].

Höhepunkt der Session war die Keynote Lecture von William Hill (London, UK) mit dem Titel „Lung adenocarcinoma promotion by air pollutants“. Die Studie beschäftigt sich mit dem genauen Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber Umweltstoffen und der Entstehung von Lungenkarzinomen, speziell EGFR-bedingten Karzinomen, die bei Nichtrauchern oder leichten Rauchern häufiger auftreten. Die Arbeitsgruppe fand einen signifikanten Zusammenhang zwischen PM_{2,5}-Werten (Umweltpartikel mit einer Größe von $\leq 2,5 \mu\text{m}$) und der Häufigkeit von Lungenkrebs bei 32.957 EGFR-bedingten Lungenkrebsfällen in vier länderübergreifenden Kohorten. Funktionelle Mausmodelle zeigten, dass Luftschadstoffe einen Zustrom von Makrophagen in die Lunge und die Freisetzung von Interleukin-1 β verursachen. Dieser Prozess führt zu einem progenitorähnlichen Zellzustand innerhalb der EGFR-mutierten Epithelzellen des alveolären Typs II, der die Tumorentstehung fördert. Die ultratiefe Mutationsprofilierung von histologisch normalem Lungengewebe von 295 Personen aus drei klinischen Kohorten ergab onkogene EGFR- und KRAS-Treibermutationen in 18% bzw. 53% der gesunden Gewebeproben. Diese Ergebnisse belegen insgesamt eine tumorfördernde Rolle von PM_{2,5}-Luftschadstoffen und geben Anstoß für gesundheitspolitische Initiativen

zur Bekämpfung der Luftverschmutzung, um die Krankheitslast zu verringern [3].

Im Rahmen der anschließenden Mitgliederversammlung wurde der vormalige stellvertretende Sprecher Konrad Steines-tel (Bundeswehrkrankenhaus Ulm) zum Sprecher und Christiane Kümpers (Lübeck) zur stellvertretenden Sprecherin der AG für die nächste Amtszeit gewählt. Damit verbunden wird die Frühjahrstagung 2024 von Christiane Kümpers in Lübeck ausgerichtet. Für die Organisation der Frühjahrstagung 2025 hat sich freundlicherweise bereits Frau Prof. Fisseler-Eckhoff (Wiesbaden) zur Verfügung gestellt. Im Namen der AG Lungen- und Thoraxpathologie möchten wir uns bei Verena Tischler für ihre hervorragende Arbeit als AG-Sprecherin (auch insbesondere während der herausfordernden Jahre der Coronapandemie) bedanken.

Im Rahmen der Postersitzung der AG Thoraxpathologie bei der DGP-Jahrestagung 2023 wurden 7 Poster zur Lungen- und Thoraxpathologie vorgestellt:

- „Super survivor“ after lung transplantation-protective role of macrophages? (E.K. Plucinski, J.-C. Kamp, J. Gottlieb, T. Welte, M. Höper, H.-H. Kreipe, D. Jonigk, L. Neubert, M.P. Kuehnel; Hannover bzw. Aachen)
- miR-338-3p and miR-126-3p expression is associated with tumour differentiation in primary squamous cell carcinomas of the lung (J. Hohneck, E. Ebert, N. Ludwig, E. Meese, R.M. Bohle; Homburg)
- Tumor microenvironment patterns in pulmonary carcinoids (A. Ziehnert, B.V. Sinn, D. Horst, P. Bischoff; Berlin)
- Indolyl-chalcone derivatives induce pleural mesothelioma cell apoptosis through aberrant tubulin polymerization and deregulation of microtubule-associated proteins (S. Steinlein F. Essmann, L. Sun, H. Horn, J. Schüler, A. Hausser, G. Ott, C. Kalla; Stuttgart, Tübingen, Boston bzw. Freiburg)
- Genomic profiling of histomorphologic subtypes reveals distinct molecular patterns in NSCLC (T. Kolb, T.F. Barth, P. Möller, R. Marienfeld; Ulm)
- Hepatoid differentiated adenocarcinoma in the lung: primary or metastasis?—Two examples of a rare differential diagnosis (A. Maccagno, I. Kleinlein,

T. Schaller, M. Trepel, H. Messmann, B. Märkl; Augsburg)

- Inhibition of paracrine signaling by cancer-associated fibroblasts leads to depletion of malignant pleural mesothelioma cells in vitro (M. Wes-solly, D. Kreidt, L. Hammerschmidt, Y. Krause, A. Mathilakathu, S. Borchert, F. Mairinger; Essen)

Von den aufgeführten Postern wurde der Beitrag von Herrn Kolb aus Ulm prämiert und somit von der Jury der AG Thoraxpathologie (Verena Tischler, Konrad Steines-tel) in das Rennen um die besten Posterbeiträge des Kongresses geschickt.

Beiträge mit Bezug zur Lungen- und Thoraxpathologie im Rahmen weiterer Sitzungen waren:

- Biomarker analysis from Phase 1/2 study of tusamitamab ravtansine (SAR408701) in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) (A. Gazzah, J.S. Lee, P. Wild, E. Wang, N. Ternès, H. Wang, E. Boitier, A. Lartigau, M. Chadja, C. Dib, G. Muzard, S. Longuemau-Valence, A. Remaury, C. Palu, A.-L. Bauchet; Villejuif, France, Cambridge, MA, United States of America, Frankfurt, Paris, France, Cambridge, United Kingdom)
- Prognostic relevance of Q787Q EGFR polymorphism in adenocarcinomas of the lung (M.N. Haffner, E. Ebert, G. Wagenpfeil, M. Becker, B. Hollecsek, C. Stegmaier, R.M. Bohle; Homburg, Gießen, Saarbrücken)
- Comparative bioinformatic analysis of KRAS, STK11 and KEAP1 (co-)mutations in non-small cell lung cancer with a special focus on KRAS G12C (M. Boeschen, C. Kuhn, H. Wirtz, H.-J. Seyfarth, A. Frille, F. Lordick, U.T. Hacker, U. Obeck, M. Stiller, H. Bläker, M. von Laffert; Leipzig)
- Acyl-coA synthetase long chain 5 (ACSL5) inhibits tumor cell growth and serves as a diagnostic marker in non-small cell lung cancer (Y. Ma, D. Schröder, M. Nenkov, A. Berndt, Y. Chen, N. Gassler; Jena)
- Proteogenomic landscape of non-small cell lung cancer (A. Seredynska, R. Fiestas Cueto, L. Goncharenko, A.E. Cabrita Figueiredo, K. Konrad Kurowski, P. Westermann, C. Messner,

- K. Baerenfaller, M. Werner, O. Schilling; Freiburg, Heidelberg, Zürich
- The fatal trajectory: beyond COVID-19; D. Jonigk, Aachen
 - Cancer-associated fibroblasts influence the immune response and disease outcome in NSCLC, thereby facilitating resistance to immune checkpoint blockade; M. Wessolly, Essen
 - Extensive spatial characterization of the tumour-microenvironment in a large bicentric clinical non-small cell lung cancer cohort and correlation with clinical and pathological parameters; S. Schallenberg, Berlin

Wir danken allen Mitwirkenden, Teilnehmerinnen und Teilnehmern bei der Frühjahrstagung und der AG-Sitzung im Rahmen der Jahrestagung. Die nächste Frühjahrstagung 2024 findet am 01./02. März 2024 in Lübeck statt und wird von Christiane Kümpers organisiert.

Beiträge in Form von Vorträgen und Postern sind herzlich willkommen und bis zum 15. Januar 2024 einzureichen (geschaefsstelle@pathologie-dgp.de).

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Dr. Konrad Steinestel

Abt. XIII, Institut für Pathologie und Molekularpathologie, Bundeswehrkrankenhaus Ulm
Ulm, Deutschland
konradsteinestel@bundeswehr.org

2. Ma Y, Marinkova R, Nenkov M, Jin L, Huber O, Sonnemann J, Peca N, Gaßler N, Chen Y (2022) Tumor-intrinsic PD-L1 exerts an oncogenic function through the activation of the Wnt/ β -Catenin pathway in human non-small cell lung cancer. *Int J Mol Sci* 23(19):11031. <https://doi.org/10.3390/ijms231911031>
3. Hill W, Lim EL, Weeden CE, Lee C, Augustine M, Chen K, Kuan FC, Marongiu F, Evans EJ Jr, Moore DA, Rodrigues FS, Pich O, Bakker B, Cha H, Myers R, van Maldegem F, Boumelha J, Veeriah S, Rowan A, Naceur-Lombardelli C, Karasaki T, Sivakumar M, De S, Caswell DR, Nagano A, Black JRM, Martínez-Ruiz C, Ryu MH, Huff RD, Li S, Favé MJ, Magness A, Suárez-Bonnet A, Priestnall SL, Lüchtenborg M, Lavelle K, Pethick J, Hardy S, McDonald FE, Lin MH, Troccoli CI, Ghosh M, Miller YE, Merrick DT, Keith RL, Al Bakir M, Bailey C, Hill MS, Saal LH, Chen Y, George AM, Abbosh C, Kanu N, Lee SH, McGranahan N, Berg CD, Sasieni P, Houlston R, Turnbull C, Lam S, Awadalla P, Grönroos E, Downward J, Jacks T, Carlsten C, Malanchi I, Hackshaw A, Litchfield K, DeGregori J, Jamal-Hanjani M, Swanton C, TRACERx Consortium (2023) Lung adenocarcinoma promotion by air pollutants. *Nature* 616(7955):159–167. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05874-3>

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. K. Steinestel und C. Kümpers geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Literatur

1. Küffer S, Grabowski J, Okada S, Sojka N, Welter S, von Hammerstein-Equord A, Hinterthaler M, Cordes L, von Hahn X, Müller D, Sauer C, Bohnenberger H, Marx A, Ströbel P (2022) Phosphoproteomic analysis identifies TYRO3 as a mediator of sunitinib resistance in metastatic thymomas. *Cancers* 14(19):4762. <https://doi.org/10.3390/cancers14194762>

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Uropathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Felix Bremmer¹ · Henning Reis²

¹ Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Göttingen, Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen, Deutschland

² Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Frankfurt, Goethe Universität Frankfurt, Frankfurt am Main, Deutschland

Als nun zweite Präsenztagung nach zweijähriger Online-Tagungsphase aufgrund der SARS-CoV-2-Pandemie fand vom 01. bis 03. Juni 2023 die 106. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie in Leipzig statt.

Die Arbeitsgemeinschaft (AG) Uropathologie gestaltete dabei 2 wissenschaftliche Sitzungen und eine Mitgliederversammlung am Donnerstag, 01. Juni 2023 von 10.30 bis 12.00 Uhr und von 14.00 bis 15.30 Uhr. Die Postersitzung Uropathologie war aufgrund der erfreulich großen Anzahl von uropathologischen Abstracts aufgeteilt und wurde am Freitag, 02. Juni, 16.00–17.15 Uhr in 2 parallelen Sitzungen begutachtet. Dabei wurden insgesamt 16 Poster begangen.

Bei insgesamt 32 eingereichten uropathologischen Abstracts konnte das Vorjahresniveau deutlich überschritten werden und spiegelt das hohe Interesse an den wissenschaftlichen Sitzungen der AG Uropathologie wider. Auch deshalb sollte die diesjährige Tagung dem wissenschaftlichen Nachwuchs wieder mehr Gelegenheit zur Präsentation der Forschungsarbeiten geben. Daher wurden neben der uropathologischen Keynote Lecture und AG-Versammlung möglichst viele Slots für die Präsentation von wissenschaftlichen Daten reserviert. Dennoch konnten nicht alle hervorragenden Abstracts als wissenschaftliche Vorträge berücksichtigt werden, sodass von der Kongressleitung auch uropathologische Vorträge im wissenschaftlichen Haupt-

programm außerhalb der AG-Sitzungen platziert wurden.

Als Gastredner der Keynote Lecture konnte erfreulicherweise Prof. Antonio Lopez Beltran aus Cordoba (Spanien) gewonnen werden, der über Neuerungen im Bereich der Hodentumoren sprach. Ein Preis für den besten wissenschaftlichen Beitrag der AG Uropathologie wurde, im Gegensatz zum letzten Jahr, nicht vergeben, da die finanziellen Mittel für die Reiseunterstützung des Gastredners benötigt wurden.

Aus uropathologischer Sicht hervorzuheben ist zudem, dass PD Felix Bremmer für seine Arbeit mit dem Thema „Characterizing the mutational burden, DNA methylation landscape and proteome of germ cell tumor-related somatic-type malignancies to identify the tissue-of-origin, mechanisms of therapy resistance and druggable targets“ den diesjährigen Forschungspreis der deutschen Gesellschaft für Pathologie erhalten hat.

Wissenschaftlicher Teil der Sitzung

Wie oben ausgeführt, wurde mit 32 eingereichten Beiträgen das Vorjahresniveau deutlich und erfreulicherweise überschritten. Die eingereichten Beiträge waren von überdurchschnittlich guter Qualität und umfassten alle uropathologischen Organe, neue diagnostische Verfahren und Moleküle sowie molekulare Verfahren und Arbeiten zur tumorbiologischen Grundlagenforschung. Detailinformationen zu den wissenschaftlichen Beiträgen und



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Postern können den Tagungsabstracts entnommen werden.

In der Vormittagssitzung unter Vorsitz von Herrn Prof. Glen Kristiansen, Bonn, und Frau Prof. Nadine Gaisa, Aachen, konnten 6 Beiträge von Felix Bremmer, Göttingen („Germ cell tumour-related somatic-type malignancies: Characterizing the mutational burden, DNA methylation landscape and proteome to identify the tissue-of-origin, mechanisms of therapy resistance and druggable targets“), Katharina Baschun, Bonn („Organoid models for the prediction of therapy response on tyrosine kinase inhibitors in clear cell renal cell carcinoma“), Kerrin Hansen, Greifswald („The role of carbohydrate responsive element binding protein [ChREBP] in nephrocarcinogenesis“), Florian Fahrenscho, München („Characterization of the transcription factor GATA6 in urinary bladder carcinoma“), Markus Eckstein, Erlangen („Proposal for a novel histologic grading approach for muscle-invasive urothelial bladder cancer correlating with disease aggressiveness and patient outcomes“) und Thien-Ly Julia Dinh, Freiburg i. Br. („Proteomic analysis of non-muscle invasive and muscle invasive bladder cancer highlights distinct subgroups“), präsentiert werden.

Die Nachmittagsitzung unter Vorsitz von Prof. Arndt Hartmann, Erlangen, und PD Felix Bremmer, Göttingen, wurde durch die Keynote Lecture von Prof. Antonio Lopez Beltran aus Cordoba (Spanien) mit dem Thema „Testicular Cancer: New Developments, Molecular Pathology and Current Research Keynote“ eröffnet. Dabei gab Prof. Beltran einen Überblick über die aktuellen Kategorisierungen und Entwicklungen der Hodentumoren. Er stellte dabei auch die Neuerungen der aktuellen WHO-Klassifikation vor. Sein Vortrag behandelte damit die aktuelle Situation, und er gab zudem einen Überblick über kommende Entwicklungen. Dabei sprach er über die zugrundeliegende Molekularpathologie und auch miRNAs.

Da in diesem Jahr nur ein einzelnes Abstract zum Thema aktuelle Habilitationen eingereicht wurde, wurde dieser Beitrag im Programm der zugehörigen AG (Uropathologie) platziert. Frau PD Anne Offermann, Lübeck, trug entsprechend ihren Vortrag „Molekulare Untersuchungen zur Optimierung der Diagnostik, Prognose

und Therapie des Prostatakarzinoms (Habilitation)“ im Anschluss an die Keynote Lecture vor. Folgend ließ das Programm vor der Mitgliederversammlung noch Zeit für einen wissenschaftlichen Vortrag, welcher durch Yuri Tolkach, Köln („Tumour architecture and emergence of strong genetic alterations are bottlenecks for clonal evolution in primary prostate cancer“), gehalten wurde.

Mitgliederversammlung

Im Anschluss an die wissenschaftlichen Vorträge konnte die Mitgliederversammlung stattfinden. Die scheidende AG-Vorsitzende Frau Prof. Dr. med. Dr. nat. med. Nadine Gaisa dankte allen anwesenden Mitgliedern für ihr Engagement und führte durch die Tagesordnungspunkte. Der 2. AG-Vorsitzende, Herr Prof. Henning Reis, Frankfurt, ergänzte die Ausführungen.

Als Tagesordnungspunkt 1 fasste Frau Gaisa die aktuelle Veranstaltung zusammen und zog eine positive Bilanz, die von den Anwesenden geteilt wurde.

Da die Amtszeit von Frau Gaisa nach 2 Perioden zu Ende ging und gleichzeitig die Amtszeit von Herrn Prof. Henning Reis als 2. Vorsitzendem endete, folgte als Tagesordnungspunkt 2 die turnusgemäße Wahl der AG-Vorsitzenden. Über den AG-Uropathologie-E-Mail-Verteiler war im Vorfeld der Tagung zu Personenvorschlägen bis zum 30.05.2023 aufgerufen worden. Als Kandidatenvorschläge wurden Prof. Henning Reis und PD Felix Bremmer genannt, die beide bei der AG-Sitzung anwesend waren. Es erfolgt eine satzungsgemäße Wahl, in deren Rahmen Herr Reis als AG-Vorsitzender und Herr Bremmer als 2. AG-Vorsitzender gewählt wurden. Herr Reis und Herr Bremmer nahmen die Wahl an, bedankten sich für das Vertrauen und drückten ihre Freude über die bevorstehende Aufgabe aus. Die Anwesenden bedankten sich herzlich für die gute und erfolgreiche Arbeit der scheidenden AG-Vorsitzenden Frau Gaisa in den letzten beiden Wahlperioden. Der Dank gilt besonders, da Frau Gaisa als Vorsitzende die AG durch die schwierige Zeit der SARS-CoV-2-Pandemie leitete.

Unter Tagesordnungspunkt 3 wurde auf die bevorstehende Herbsttagung der AG im Rahmen des 14. AuF-Symposiums

der DGU hingewiesen. Die Veranstaltung wird vom 16. bis 18.11.2023 in Aachen im Technologiezentrum am Europaplatz unter dem Tagungsmotto „Molekulare Grundlagen für gezielte Diagnostik und Therapie“ stattfinden. Dazu wird es wieder einen 30-minütigen Vortragslot geben, der inhaltlich und personell frei von der AG Uropathologie gestaltet bzw. besetzt wird. Da in vergangener Zeit der Einfluss der AG Uropathologie in der Programmgestaltung des AuF-Symposiums geringer wurde, hat sich Herr Reis zum Zeitpunkt der Manuskripterstellung für eine stärkere Mitbeteiligung der AG Uropathologie der DGP erfolgreich eingesetzt. Es wurde aus den Reihen der AG und der Vorsitzenden zudem um rege Beteiligung und Einreichung von Abstracts gebeten. Alle Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der urologisch forschenden Arbeitsgruppen sind wieder herzlich eingeladen, bis zum 1. Oktober 2023 Abstracts einzureichen.

Da es zu Tagesordnungspunkt 4 (Aktivitäten und Projekte der AG) keine Meldungen gab, wurde das Programm mit Tagesordnungspunkt 5 (Konzept und Formate bei der DGP-Jahrestagung 2024) fortgesetzt. Ein HauptwunschtHEMA wurde nicht beschlossen, allerdings wurde die Frage nach der Frequenz einer Keynote Lecture in der AG diskutiert. Es war Konsensmeinung, dass jedes Jahr eine solche Teil der AG-Uropathologie-Sitzungen sein sollte. Da dadurch allerdings die Geldmittel für die Reisekostenunterstützung der Gastrednerin bzw. des Gastredners verbraucht würden, gäbe es keine Reserve für die Verleihung eines AG-Preises mit Preisgeld für den besten uropathologischen Beitrag. Dieser Punkt wurde intensiv diskutiert. Im Verlauf wurde entschieden, dass dennoch Preise der AG Uropathologie für die besten uropathologischen Beiträge verliehen werden sollen. Pro Jahr sollen 3 Preise vergeben werden, davon 2 für die besten Vortragsbeiträge und einer für den besten Posterbeitrag. Herr Prof. Arndt Hartmann hat dabei signalisiert, Geld für diese Preise bereitzustellen. Wir danken Herrn Hartmann ganz herzlich für diese Initiative!

Als Vorschlag für die Keynote Lecture der kommenden Jahrestagung 2024 wurde Prof. Daniel Berney, London, UK, genannt. Es bestehen Kontakte der AG-Mitglieder zu ihm. Als Themenvorschlag wur-

de „Next Generation Pathology“ gewählt, ein Thema, das Herr Berney aus vielen Perspektiven thematisch abdecken kann.

Unter Tagesordnungspunkt 6 (Verschiedenes) gab es zahlreiche Wortmeldungen.

Zuerst wurde die aktuelle ISUP-Präsidenschaft von Prof. Glen Kristiansen, Bonn, betont. Die AG-Vorsitzenden und die AG beglückwünschen Herrn Prof. Kristiansen ganz ausdrücklich zu dieser Position! Auch aus Kreisen der DGP und der generellen Pathologiewelt ist bekannt, dass die Rolle von Herrn Prof. Kristiansen als ISUP-Präsident sehr hoch geschätzt wird. Ihm wird generell zu dieser auch für die deutschsprachige Pathologie sehr wichtigen Position gratuliert.

Herr Prof. Kristiansen selbst wies zudem auf die anstehende Konsensuskonferenz zu „Best Practice Recommendations on the Pathology of Urinary Bladder Glandular Lesions and Urachal Neoplasms“ hin, die am Vortag der kommenden europäischen Pathologietagung am 8. September 2023 in Dublin stattfinden wird. Diese Veranstaltung wird die erste ihrer Art bei diesen Läsionen sein, steht unter der Schirmherrschaft der ISUP und wird von Herrn Prof. Gladell Paner, Chicago, und Herrn Prof. Reis, Frankfurt, organisiert. Es gibt verschiedene Arbeitsgruppen zu den unterschiedlichen Aspekten, die mit internationalen Expertinnen und Experten besetzt sind. Es wird Werbung zur Teilnahme an der Veranstaltung und der folgenden europäischen Pathologietagung gemacht.

Herr Prof. Hartmann wies im Folgenden auf das eintägige virtuelle Symposium „Pathologists for Ukraine“ vom 13. August 2022 hin, das durch die deutsche Division der IAP organisiert wurde. Die Veranstaltung war ein voller Erfolg.

Herr Prof. Kristiansen informierte über die GUSTO-Studie („Genotype of Urothelial cancer: Stratified Treatment and Oncological outcomes“). In dieser durch Prof. James Catto, Sheffield (UK), als PI initiierten Studie geht es um die Abschätzung der Rolle eines molekularen Classifiers (GUSTO Classifier) basierend auf der Decipher Plattform und dem TCGA-2-Klassifikationssystem im Rahmen der Standardtherapie aus neoadjuvanter Cisplatin-basierter Chemotherapie und Zystektomie und Zystektomie mit Genexpression-Subtyp-basierter Therapie.

Zudem berichtete Herr Prof. Kristiansen von seiner Teilnahme an der Tagung der britischen Assoziation der Uropathologen (BAUP). Im Verhältnis zur deutschen Tagung der AG Uropathologie der DGP war eine verhältnismäßige deutlich stärkere Teilnahme und Präsenz der uropathologisch tätigen Pathologinnen und Pathologen bei der britischen Veranstaltung zu verzeichnen. Es wurde die Frage gestellt, warum nur verhältnismäßig wenige Uropathologinnen und Uropathologen, bezogen auf die Gesamtheit der uropathologisch subspezialisierten Kolleginnen und Kollegen, die Veranstaltung der AG Uropathologie besuchen. Diese Frage wurde breit diskutiert, auch unter der bestehenden Trennung der akademischen und niedergelassenen Pathologie in Deutschland. Es wurde eine deutlich engere Verzahnung im Bereich der Uropathologie zwischen AG Uropathologie der DGP und der entsprechenden Bereiche des Berufsverbandes deutscher Pathologen e.V. angestrebt. Zudem wurde eine spätere Umfrage zu dem Thema angeregt.

Zuletzt informierte Prof. Kristiansen über das am 21. Oktober 2023 stattfindende Konsortialtreffen zum Prostatakarzinom in Bonn.

Fazit

Auch im Jahr 2023 konnte die AG Uropathologie ein umfangreiches und erfolgreiches Programm im Rahmen der DGP-Tagung gestalten. Der Erfolg wird durch die reichliche Einsendung von Abstracts widergespiegelt, die teilweise sogar aufgrund der guten Qualität in Extrasitzungen in das Hauptprogramm übernommen wurden. Dafür danken die Vorsitzenden allen Beteiligten ganz herzlich. Wir freuen uns auf die nächste Jahrestagung 2024, die in München stattfinden wird.

Korrespondenzadresse

Univ.-Prof. Dr. med. Henning Reis

Dr. Senckenbergisches Institut für Pathologie,
Universitätsklinikum Frankfurt, Goethe
Universität Frankfurt
Theodor-Stern-Kai 7, 60590 Frankfurt am Main,
Deutschland
henning.reis@kgu.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. F. Bremmer und H. Reis geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Bericht der Arbeitsgemeinschaft Zytopathologie der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Dietmar Schmidt^{1,2} · Irena Baltisser³

¹ MVZ für Histologie, Zytologie und molekulare Diagnostik Trier GmbH, Trier, Deutschland

² Mannheim, Deutschland

³ Institut für histologische und zytologische Diagnostik AG, Aarau, Schweiz

Bei der Sitzung der AG Zytopathologie am 1. Juni 2023 im Rahmen der 106. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP) in Leipzig wurden in diesem Jahr 2 Fortbildungsvorträge zum Thema „Gynäkologische Zytopathologie“ gehalten, da die Zytologie im Rahmen der seit Anfang 2020 geänderten Zervixkarzinomvorsorge nach wie vor einen wichtigen Stellenwert hat. Der erste Vortrag beschäftigte sich mit den plattenepithelialen Läsionen der Cervix uteri, der zweite mit den glandulären Veränderungen.

Gynaecological cytology as an essential component in the prevention of cervical carcinoma. Squamous and glandular changes: squamous lesions

Squamous cell carcinomas account for about 85% of cervical cancers. Most squamous cell carcinomas are associated with high-risk HPV infection; only a small proportion of these carcinomas are not. HPV-independent carcinomas are said to have a worse prognosis than HPV-associated squamous cell carcinomas. Severe squamous epithelial dysplasia/carcinoma in situ (CIN 3; HSIL (WHO)) is the precursor lesion of squamous cell carcinoma and therefore the target lesion in the cervical cancer screening systems established in many countries.

Until a few years ago, cytological examination of a PAP smear was the only method to identify such a lesion. In the meantime, however, DNA or RNA testing for high-risk HPV viruses has taken over

this role in several countries. In Germany, this test is used together with cytology (co-testing) for the group of women over the age of 35. For women younger than 35 years of age, an annual cytological examination is still performed. In the event of an abnormal finding, this finding is checked with an HPV test in women between 29 and 34 years of age. Since 1 July 2014, the basis for the classification of cytological findings has been the Munich Nomenclature III. This is a morphological classification whose groups have a different risk of higher-grade dysplasia (CIN 3; HSIL), either at the time of diagnosis, cumulatively in the further clinical course, or at subsequent screenings. Detailed knowledge of the morphological characteristics of each group is therefore essential. Diagnostic difficulties are more likely to occur in the low-grade groups of findings. Diagnostic support could be provided by additive tests with the biomarker p16/Ki-67, which shows double staining for both markers in the case of a transforming HPV infection. This marker is also very useful in HPV-positive, cytologically negative cases, which may react positively, although no abnormalities can yet be detected by conventional morphology. Furthermore, this marker can be used in the differential diagnosis of various reactive changes in the cervix uteri. In the meantime, with the help of digital cytology and artificial intelligence, the automated evaluation of p16/Ki-67-stained slides has also been achieved. This new technique removes the remaining subjective component of cervical cancer screening and delivers consistent quality for providers and



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

patients. Switching from PAP smears to automated evaluation of the double-stained specimens significantly reduces the number of colposcopies and achieves excellent performance even in a simulated, fully vaccinated population. Since it is a cloud-based implementation, this approach is globally accessible.

Digital cytology, together with artificial intelligence, also offers new approaches for conventionally stained PAP smears. Compared to conventional morphology, this new method shows increased sensitivity without loss of specificity. This means that lesions requiring treatment are detected earlier without increasing the number of colposcopies.

Dietmar Schmidt

Gynaecological cytology as an essential component in the prevention of cervical carcinoma. Squamous and glandular changes: glandular lesions

Adenocarcinomas constitute about 25 % of all cervical cancer. With its heterogeneity and about 15 % of non-HPV associated subtypes, this tumour represents a substantial challenge in the prevention and the diagnosis of cervical carcinomas. Furthermore, it is often necessary to distinguish between true HPV-negative cervical cancer and false HPV-negative cases or an incorrect classification of non-cervical cancer. The aim of this study is a documentation of the importance of cytological examination of glandular cells in the context of already established HPV tests and the continuing increase of additive techniques. The following conclusions are based on a review of literature data and our own expertise. The most benign glandular changes do not require any additional examinations. But advanced knowledge of the same issue is essential for the correct diagnosis of adenocarcinoma in situ (AIS) of the uterine cervix. The most common HPV-associated AIS of usual type shows characteristic cytological criteria and can be additionally substantiated by p16/Ki67 positivity. The cytological diagnosis of invasive HPV-associated adenocarcinoma is also possible, but support with some immunohistochemical methods is occasionally necessary.

The cytological diagnosis of HPV-negative AIS is difficult because the typical cellular changes are usually much less pronounced or even missing. However, the cytological identification of HPV-negative adenocarcinoma and its precursors, with often very subtle glandular changes in a PAP smear, is currently the only option for an early detection of this aggressive and therapy resistant neoplasia. This assumes an awareness of these lesions and a familiarity with their cytomorphological features, which in the meantime have been well described. The definitive differentiation between an HPV-negative adenocarcinoma of the uterine cervix and a non-cervical cancer is oftentimes not possible without the support of additional methods, especially immunohistochemical methods and additional molecular techniques. Currently, in the age of immunohistochemical and molecular methods, which are inaccessible to some, the cytological examination of glandular cells is an important indicator for setting the correct prophylactic and diagnostic paths.

Irena Baltisser

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Dr. h. c. Dietmar Schmidt
Kirchbergstr. 11, 68259 Mannheim,
Deutschland
dischmi57@gmail.com

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. D. Schmidt und I. Baltisser geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autor/-innen keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Şengül Boral

01.01.1973–07.11.2022

K. Hauptmann · D. Horst

Institut für Pathologie der Charité, Berlin, Deutschland

Im November 2022 mussten wir Abschied von Frau Dr. Şengül Boral nehmen, die mit nur 49 Jahren nach schwerer Krankheit verstorben ist.

Die Nachricht von ihrem Tod hat nicht nur am Institut für Pathologie der Charité, sondern auch bei vielen ehemaligen Kollegen und im Kreis der Kinderpathologen, dem sie sich seit vielen Jahren eng verbunden fühlte, große Betroffenheit ausgelöst.

Ihre Vielseitigkeit und ihr breites Interesse sowie ihr Wissensdurst spiegeln sich in ihrer Biografie wider.

So hat sie ihre Facharztausbildung für Pathologie erst auf Umwegen im Alter von 36 Jahren begonnen.

Vieles musste sie sich im Leben schon früh erkämpfen.

Als zweites Kind kurdischer Eltern in Çalikağıl, einem Dorf im Osten der Türkei, 1973 geboren, wuchs sie in einer Region in 1730 m Höhe auf, in der weder fließendes Wasser noch Elektrizität verfügbar waren.

Ihre Mutter und sie folgten ihrem Vater 1978 nach Deutschland. Sie wurde in München eingeschult und wechselte auf eigenen Wunsch ab der dritten Klasse von einer türkischen auf eine deutsche Schule. Sie absolvierte 1993 ihr Abitur am Münchener Luisengymnasium.

Kommunikationsprobleme konnte sie dank ihrer Sprachgewandtheit schnell überwinden. Sie lernte nicht nur Deutsch, sondern auch Bairisch.

Während ihrer Schulzeit fielen ihre vielfältigen Begabungen auf. Sie fühlte sich hingezogen zur darstellenden Kunst, entwickelte aber auch zunehmend Interesse für naturwissenschaftliche Themen.

Ihre künstlerischen Seiten lebte sie in einem Laientheater und in einem Gospel-

chor aus. Im Chor war sie so erfolgreich, dass sie eine Zusage für ein Musikstudium an der University of California in Berkeley erhielt.

Sie entschied sich aber für ein Studium der Humanmedizin an der Berliner Humboldt-Universität, für das sie zeitgleich angenommen wurde. Nach ihrer Approbation arbeitete sie von 2003 bis 2005 als wissenschaftliche Mitarbeiterin in einem Forschungslabor der Medizinischen Klinik der Charité mit dem Schwerpunkt Infektiologie.

Danach absolvierte sie einen Masterstudiengang in Health & Society mit Ausrichtung „International Gender Studies“.

Parallel zu diesem Fernstudiengang arbeitete sie an 2 Forschungsprojekten der Charité, zum einen über „Geschlechterspezifische Lernziele in der Lehre“ im Zentrum für Geschlechterforschung sowie zu „Wechseljahresbeschwerden bei



Abb. 1 ▲ Dr. Şengül Boral (© Christoph Weber, mit freundl. Genehmigung)



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

deutschen Frauen, Migrantinnen und türkistämmigen Frauen im Vergleich“ an der Frauenklinik der Charité. Für letzteres hielt sie sich eigens in Istanbul auf, um türkische Frauen vor Ort zu interviewen. Aus diesem Projekt entwickelte sich ihr Promotionsthema, für das sie 2011 den Promotionspreis der Deutschen Gesellschaft für Psychosomatische Frauenheilkunde erhielt.

Die Thematik ihrer Arbeit (Einfluss von Kultur und Migration auf den Umgang mit den Wechseljahren), die ihr auch die Möglichkeit gab, sich mit ihren Wurzeln, mit ihrer Herkunft auseinanderzusetzen, hat sie 2007 dazu bewogen, eine Ausbildung an der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe am Klinikum Ernst von Bergmann in Potsdam zu beginnen, wo sie bis 2009 tätig war.

Die Erfahrungen, die sie in der Geburtshilfe gesammelt hatte, brachte sie später in ihre Arbeit in der Paidopathologie und Plazentadiagnostik ein – Ausrichtungen, die sie neben ihrer Facharztzubereitung für Pathologie früh verfolgte. Während dieser Ausbildung besuchte sie die Kurse der IPPA (International Paediatric Pathology Association).

Ihre kurze Tätigkeit in einem operativen Fachgebiet, der Frauenheilkunde, hatte wohl zur Folge, dass sie sich auch intensiv mit der Sektionstechnik von Feten beschäftigte und die Zuschnittordnung des Institutes erarbeitete.

Nach der Facharztprüfung arbeitete sie sich mit viel Engagement in die Diagnostik von Nierenbiopsien ein und erwarb Kenntnisse in der Elektronenmikroskopie.

Schon gekennzeichnet von Ihrer Erkrankung, hat sie im Februar 2022 gemeinsam mit Frau Prof. Annette Müller und Dr. Gitta Turowski noch ein Seminar über Plazentapathologie bei der IAP gehalten, welches ihr viel Anerkennung einbrachte.

Wenige Tage danach hat sie erfahren, dass sich hinter ihren Beschwerden ein fortgeschrittenes Tumorleiden verbarg. Danach hat sie sachlich ihre eigene Situation analysiert und Therapiemöglichkeiten ausgelotet.

In dieser harten Zeit war sie weiter geistig präsent am Institut. Sie wirkte bei der Erstellung der Leitlinien zur pathomorphologischen Diagnostik der Plazenta mit und

war interessiert an der Entwicklung des Institutes.

Leider hat sie den Kampf gegen den Tumor verloren.

Sie ist in Antalya im Kreis ihrer Familie verstorben und wurde in Berlin nach alevitischem Brauch beerdigt.

Ihre zugewandte Persönlichkeit, ihre humorvolle Art und ihr Urteilsvermögen fehlen uns.

Unser Mitgefühl gilt ihrer Familie, insbesondere ihren beiden Töchtern.

Kathrin Hauptmann
David Horst
Berlin

Korrespondenzadresse

PD Dr. med. K. Hauptmann
Institut für Pathologie der Charité
Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Deutschland
kathrin.hauptmann@charite.de

Prof. Dr. med. D. Horst
Institut für Pathologie der Charité
Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Deutschland
david.horst@charite.de

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Christian Kyrieleis

05.02.1935–24.06.2022

Joachim Bernhards
Gehrden, Deutschland



Abb. 1 ▲ Prof. Dr. med. Christian Kyrieleis (Quelle: privat, Abdruck mit freundl. Genehmigung)

Am 24.06.2022 verstarb Herr Prof. Dr. med. Christian Kyrieleis im Alter von 87 Jahren nach langjähriger schwerer Erkrankung.

Christian Kyrieleis wurde am 05.02.1935 als erstes von fünf Kindern des Professors für Augenheilkunde Dr. med. Werner Kyrieleis und seiner Frau Dr. med. Annemarie Kyrieleis in Hamburg geboren. Seine Schulzeit verbrachte er in Marburg, wo er 1955 das Abitur ablegte.

Im gleichen Jahr begann er das Medizinstudium in Freiburg im Breisgau, das er in Innsbruck, Wien, Marburg und Kiel fortführte. Das Staatsexamen legte er 1960 in Kiel ab.

Die Medizinalassistentenzeit führte ihn nach Göttingen, Marburg, Arnsberg/Ruhr und Meschede/Ruhr, wobei er im Pathologischen Institut der Universität Göttingen 9 Monate verbrachte. Dort promovierte er

1962 zum Dr. med. mit dem Thema „Morphologische Untersuchungen an menschlichen Herzkammern“.

Die Bestallung als Arzt erhielt er 1963 und trat im selben Jahr als Assistent in das Pathologische Institut der Universität Göttingen (Prof. Dr. Johannes Linzbach) ein. Sein Publikationsverzeichnis zeigt, dass er sich, entsprechend dem damaligen wissenschaftlichen Schwerpunkt des Instituts, überwiegend mit Themen der kardiovaskulären Pathologie einschließlich der Paldopathologie beschäftigt hat. 1971 erfolgte die Habilitation mit dem Thema „Über normales und pathologisches Wachstum des Herzens im Kindesalter“.

Im Jahr 1973 wurde er zum Chefarzt des Instituts für klinische Pathologie des wenige Jahre zuvor gegründeten Robert-Koch-Krankenhauses des Landkreises Hannover in Gehrden, südwestlich von Hannover, gewählt. Im Rahmen der sehr vorausschauenden Planung dieses Neubaus war kurz nach Eröffnung eine eigene Pathologie eingerichtet worden, die auch für die übrigen vom Landkreis Hannover betriebenen Krankenhäuser – zuletzt weitere fünf Kliniken – zuständig war. Das Institutsgebäude wurde von ihm geplant, wobei der Sektionssaal weiße Bodenfliesen erhielt, „um jeden Blutstropfen sofort sehen zu können“, wie er mir später erklärte.

Als Institutsleiter sah er die Obduktionspathologie stets als gleichwertig zur bioptischen und chirurgischen Pathologie an. Die Außensektionen in den mitbetreuten Krankenhäusern, zu denen neben den Kliniken des Landkreises auch noch Häuser anderer Träger gehörten, führte er fast immer selbst durch. Dabei wurden auch die Hin- und Rückfahrten mit einem



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

über sehr viele Jahre gefahrenen Kombiwagen eines norddeutschen Herstellers von ihm selbst absolviert. Seine gleichzeitig schnelle und präzise, dabei äußerst „blutarmer“ Sektionstechnik ist mir im Gedächtnis geblieben. Daneben nahm wie überall die Eingangshistologie mengenmäßig und zeitlich einen immer größeren Raum ein. Christian Kyrieleis war dabei ein äußerst akkurater Diagnostiker; zu jedem Fall wurde ein individueller Befund ohne Textbausteine diktiert.

Vier Jahre vor dem Eintritt in den Ruhestand setzte er nach dem Weggang seines Oberarztes gegenüber der Verwaltung durch, dass sein Nachfolger bereits gewählt und für die nächsten vier Jahre als Oberarzt und danach als sein Nachfolger tätig sein solle. Auf diese Weise kam ich 1996 nach Gehrden. Während der sich anschließenden gemeinsamen Jahre lernte ich Christian Kyrieleis als einen Kollegen kennen, der die Tagesarbeit und anstehende Probleme mit ruhiger Konzentration anging und sein Wissen, insbesondere in seinen besonderen Interessensgebieten der Plazentapathologie und der Gutachtertätigkeit gern weitergab. 1999 verfasste er anlässlich des 25. Jubiläums des Gehrdenener Instituts eine Publikation unter dem Titel „Pathologie in der Öffentlichkeit“ im „Pathologen“, der als kritischer Rück- und Ausblick auch heute noch lesenswert ist.

Zum Ende des Februars 2000 trat er planmäßig in den Ruhestand, wobei er darauf bestand, noch am letzten Arbeitstag die Hälfte des histologischen Eingangs zu diktieren.

Nach der Pensionierung übernahm er noch gelegentlich Vertretungen im Institut eines befreundeten Kollegen im Ruhrgebiet. Im Jahr 2006, immerhin im Alter von 71 Jahren, zögerte er nicht, in einer Periode erheblichen, krankheitsbedingten Personalmangels im Institut die Außensektionen zu übernehmen.

Sowohl im Berufsleben wie auch privat war Christian Kyrieleis ruhig, höflich und zurückhaltend. Dabei verfügte er über einen feinen Humor und war ein herzlicher Gastgeber. Eine Hervorhebung der eigenen Person oder der Besitz von Statussymbolen waren ihm völlig fremd.

Im Privatleben war Christian Kyrieleis ein ausgesprochener Familienmensch. Mit seiner Frau, der Lehrerin Inge Kyrieleis, hat-

te er vier Kinder; hinzu kamen sieben Enkelkinder. Seine Passion waren Gartenarbeit und Gartengestaltung, sowohl im häuslichen Garten in Gehrden wie in einem weiteren großen Garten im Ammerland. Seine botanischen Kenntnisse waren beeindruckend.

Im höheren Alter erkrankte er schwer und war nur noch eingeschränkt leistungsfähig. Er verzog deshalb mit seiner Frau in die Nähe der jüngsten Tochter nach Straelen am Niederrhein, wo er im Juni vergangenen Jahres verstarb.

Mit Christian Kyrieleis verliert die deutsche Pathologie einen Vertreter ihres Faches, der – wie so viele andere auch – auf wissenschaftlicher Grundlage ein fundiertes Wissen in der histologischen Diagnostik zum Wohle der ihm anvertrauten Patientinnen und Patienten angewendet hat und dabei persönlich stets im Hintergrund geblieben ist.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Korrespondenzadresse

PD Dr. med. Joachim Bernhards

Theodor-Storm-Str. 15, 30989 Gehrden,
Deutschland
k.u.j.bernhards@t-online.de

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S269–S270
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01218-0
Angenommen: 7. August 2023
Online publiziert: 22. September 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Peter Röttger

18.04.1934–20.05.2022

Ulrich Gross

Institut Kardiale Diagnostik und Therapie GmbH, Berlin, Deutschland

Prof. Dr. med Peter Röttger wurde am 18.04.1934 in Berlin geboren und starb am 20.05.2022 in Düren. Sein Vater war die meiste Zeit seines Lebens als Internist in Bad Mergentheim, Baden-Württemberg, tätig. Nach Abitur in Bad Mergentheim und 2 Semestern Studium der Rechtswissenschaften in Frankfurt/Main und Freiburg i.Br. studierte Peter Röttger dem Beruf seines Vaters folgend Humanmedizin von 1954 bis 1960 in Freiburg, Tübingen, Wien und Berlin, wo er 1960 an der Freien Universität das Studium mit dem Medizinischen Staatsexamen abschloss und in demselben Jahr an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg zum Dr. med. promoviert wurde. Medizinalassistent war er anschließend bis 1962 an der Medizinischen und Chirurgischen Universitätsklinik

in Freiburg i.Br., der Universitäts-Frauenklinik in Würzburg, einer Internen Facharztpraxis in Bad Mergentheim und schließlich am Senkenbergischen Pathologischen Institut der Universität Frankfurt a.M. Nach der Approbation blieb er weiter an diesem Institut, wo er sich nach Ausbildung in klinischen Fächern ganz der Pathologie, der Arbeit im Sektionssaal, im Eingangslabor bei Biopsien und der Zytologie widmete und 1970 Arzt für Pathologie wurde.

Im folgenden Jahrzehnt lag der Schwerpunkt seiner Tätigkeit in der Erarbeitung von Prinzipien zur Formulierung medizinischer Sachverhalte, von Diagnosen, der klartextlichen Erfassung und Dokumentation von Diagnosen und der Auswertung von Diagnosen und Krankheitsbildern durch Einsatz der sich emanzipieren-

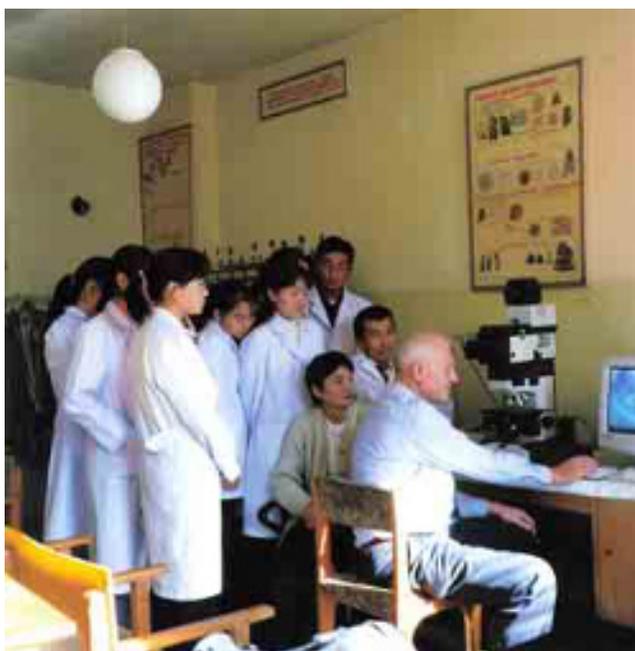


Abb. 1 ◀ Prof. Dr. med. Peter Röttger. (Quelle: Health Sciences University of Mongolia, Ulaanbaatar, Mongolia 2005; Foto: privat, © Keller-Röttger 2005, mit freundl. Genehmigung)



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

den elektronischen Datenerfassung, Dokumentation und Auswertung. Damit brachte er den in klassisch betriebenen Pathologischen Instituten überhandnehmenden Papierwust, den Datenfriedhof aufs Korn und führte die Zeit der Verschlüsselung von Diagnosen zu einer gewissen Beschränkung. Im Jahr 1972 war er Leiter der Arbeitsgemeinschaft Klartextverarbeitung der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Dokumentation und Statistik (GMDS), wo er auch Mitglied des Beirats war. Seine Habilitation für das Fach Pathologie erfolgte 1980 mit dem Thema „Theoretische Grundlagen, empirische Generierung und Anwendungsstruktur eines Textverarbeitungssystems für die Pathologie“ im Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt a.M. Partner bei der Klartextverarbeitung waren die Pathologischen Institute in Frankfurt a.M., der Freien Universität Berlin, der Universitäten Hannover, Wien, Bern, von Instituten in München, der Klinik für Diagnostik in Wiesbaden und Neuchatel. Diese Initiative hat damals sogar die Aufmerksamkeit des AFIP (American Forces Institute of Pathology in Washington D.C., USA) erregt, wo seinerzeit zur weltweiten einheitlichen Formulierung von Tumordiagnosen gearbeitet wurde, was Grundlage für die Blauen Hefte der WHO für Tumordiagnostik war. Heute sind die Ergebnisse dieser Aktivitäten in den 1970er-Jahren vielfach gängige Praxis und eine Basis für die weitergehende Standardisierung und Digitalisierung in Pathologie und Gesundheitswesen.

Prof. P. Röttger wurde nach kurzer Tätigkeit als stellvertretender Direktor des Zentrums für Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen (1981–1984) von Prof. Jörg-Dietrich Hoppe, dem langjährigen Präsidenten der Bundesärztekammer und Leiter des Instituts für Pathologie in Düren, abgeworben, wo er bis zu den letzten Tagen seines Lebens gearbeitet hat. Er hat eine Reihe von Publikationen hinterlassen, die ein breites Spektrum ärztlicher Probleme beleuchten und vielfach über den reinen Aspekt der Pathomorphologie hinausgehen und klinische Belange einbeziehen. Besonderes Anliegen war Röttger die Aus- und Weiterbildung von Studenten und ärztlichen Mitarbeitern.

Er hat sich außerhalb des engeren Kreises der Pathologie für den Schutz und die Bildung von Kindern eingesetzt, war führend auch im Kinderschutzbund tätig und in der Stadtverwaltung von Düren abgeordnet. Sein soziales Engagement war auch Triebfeder für die langjährige Unterstützung der *Health Sciences University of Mongolia*, Ulaanbaatar, Mongolei, die ihn 2012 zum *Honorary Professor* ernannt hat. Seine Unterstützung der Medizin in der Mongolei nach der demokratischen Revolution von 1990, die die Freiheit, Unabhängigkeit und Souveränität verfestigt hat, wie es in der Laudatio lautet, wurde durch die Verleihung der Medaille für Unabhängigkeit geehrt. Schließlich hat ihm der Bundespräsident 2016 das Verdienstkreuz am Bande des Verdienstordens der Bundesrepublik Deutschland verliehen.

Trotz mehrjähriger krankheitsbedingter Einschränkungen seiner Aktionsmöglichkeiten hat er bis kurz vor dem Tod beratend im Institut für Pathologie des Krankenhauses in Düren gearbeitet. Die Deutsche Gesellschaft für Pathologie verlor mit ihm einen auf vielen Gebieten erfolgreich engagierten Arzt.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr.med. Ulrich Gross

Institut Kardiale Diagnostik und Therapie GmbH

Moltkestraße 31, 12203 Berlin, Deutschland
ugross@zedat.fu-berlin.de

Prof. Dr.med. Ulrich Gross Ehemals Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Hindenburgdamm 30, 12203 Berlin

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S271–S272
<https://doi.org/10.1007/s00292-023-01269-3>
Angenommen: 19. Oktober 2023
Online publiziert: 21. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Susanne Enders

30.07.1957–11.12.2022

Johannes Friemann
Bochum, Deutschland



Dr. med. Susanne Enders (© Dr. med. Friedemann Enders, mit freundl. Genehmigung)

Im Alter von nur 65 Jahren verstarb am 11. Dezember 2022 völlig unerwartet Frau Dr. med. Susanne Enders. Sie war viele Jahre lang Oberärztin am Institut für Pathologie der Märkische Kliniken GmbH in Lüdenscheid und zuletzt als angestellte Fachärztin im MVZ für Pathologie des Universitätsklinikums Köln am Standort Lüdenscheid tätig.

Susanne Enders wurde am 30.07.1957 in Osnabrück als einziges Kind von Horst Welling und seiner Ehefrau Christa Welling geboren. Nach dem 1976 in Osnabrück abgelegten Abitur begann sie zunächst ein Mathematikstudium an der Universität Osnabrück und nahm 1977 das Studium der Humanmedizin an der Georg-August-Universität in Göttingen auf. Im Anschluss an die ärztliche Vorprüfung dort wechselte sie

bis zum 1. Staatsexamen 1980 an die Westfälische Wilhelms-Universität in Münster und anschließend an die Ludwig-Maximilians-Universität in München, wo sie das Studium abschloss und am 09.12.1983 die ärztliche Approbation erhielt.

Mit der Dissertation über das im Verlauf des Praktischen Jahres von ihrem OA Prof. Dr. Dr. E. Weissenbacher an der Frauenklinik im Klinikum Großhadern der Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. H. Hepp) vorgeschlagene Thema: „Zum Gardnerella-vaginalis-Befall bei ambulanten gynäkologischen Patientinnen“ wurde Susanne Enders am 23.04.1987 promoviert.

Ihre erste Anstellung als Assistenzärztin erfolgte im Februar 1984 am Institut für Pathologie des Städtischen Krankenhauses in München Schwabing (Leitung: Prof. Dr. med. K.-H. Wurster). Im April 1985 kam Susanne Enders an das Institut für Pathologie des Städtischen Krankenhauses in München Bogenhausen (Chefarzt: Dr. med. Ernst Keiditsch), wo sie sich nach ihren Berichten wegen der herzlichen, teils fast familiären Atmosphäre besonders wohl fühlte und den größten Teil ihrer Ausbildung zur Fachärztin für Pathologie erhielt. Nach der Facharztanerkennung am 14.11.1990 arbeitete sie dort als Funktionsoberärztin bis zum März 1993.

Am 20.05.1986 heiratete Susanne Enders in München den Facharzt für Dermatologie Dr. med. Friedemann Enders, den sie schon seit ihren Jugendtagen in Osnabrück kannte. Als dieser Anfang 1993 seine Hautarztpraxis in Werdohl eröffnete, konnte sie bereits im April dieses Jahres ihre neue Stelle als Oberärztin und Stellvertreterin des Chefarztes Prof. Dr. med. Stiens



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

am Institut für Pathologie des Klinikums Gummersbach antreten und blieb dort bis Februar 2001 angestellt.

In den Jahren 1995 und 1997 kamen die lang ersehnten Kinder Henrike und Valentin zur Welt. Nach Abschluss der Elternzeit nahm Susanne Enders im Februar 2002 ihre Arbeit im Institut für Pathologie der Märkische Kliniken GmbH in Lüdenscheid auf, das zu dieser Zeit noch von meinem Vorgänger, Prof. Dr. med. Eckhart Boehm, geleitet wurde.

Leider erzwang eine seit 1990 sporadisch auftretende Menière-Erkrankung zum Jahresende 2004 wegen massiver Progredienz für 6 Jahre die vollständige Aufgabe ihrer beruflichen Tätigkeit. Mehrere Krankenhausaufenthalte in verschiedenen Universitätskliniken konnten die resultierende starke Schwerhörigkeit nicht verhindern. Mit bewundernswerter Energie, Selbstdisziplin und großer Leidenschaft für unser Fach kämpfte sich Susanne Enders ab Januar 2011 schrittweise in ihr Berufsleben zurück. Zunächst als Honorarärztin, dann als Fachärztin zur Aushilfe im Rahmenvertrag und seit 2015 als Funktionsoberärztin.

Die ärztliche Arbeit in unserem Institut zur bestmöglichen diagnostischen Versorgung der uns anvertrauten Patienten war für sie eine Herzensangelegenheit. Mit hoher sozialer Kompetenz, viel Fingerspitzengefühl und dank ihres ausgleichenden Wesens gelang es ihr immer wieder, schwierige Situationen im Institut zu meistern und Konflikte zu glätten.

Da Susanne Enders wie wir alle einer nachhaltigen Sicherung des Pathologiestandortes in Lüdenscheid eine große Bedeutung beimaß, entschloss sie sich am 21.05.2013, die Zulassung zur vertragsärztlichen Versorgung in Lüdenscheid zu beantragen. Nach langwierigen Auseinandersetzungen und Verhandlungen mit der ärztlichen Selbstverwaltung und den Krankenkassen wurde ihr auf der Grundlage eines Vergleichsbeschlusses des Landessozialgerichts NRW in Essen leider erst am 22.03.2018 die Zulassung erteilt, sodass sie schließlich ihre vertragsärztliche Tätigkeit am 13.07.2018 mit hälftigem Versorgungsauftrag in Praxisgemeinschaft mit mir am Krankenhaus Lüdenscheid aufnehmen konnte.

Nach der Eingliederung des Instituts für Pathologie der Märkische Kliniken GmbH in das Institut für Pathologie der Universität Köln (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Reinhard Büttner) zum 01.04.2020 hat Susanne Enders bis zum 31.12.2021 am Institutsstandort Lüdenscheid in oberärztlicher Funktion weitergearbeitet und nicht zuletzt auch bei der Durchführung und wissenschaftlichen Aufarbeitung von Obduktionen der an COVID-Infektionen Verstorbenen großes Engagement und Einsatzbereitschaft gezeigt.

Bis zu ihrem plötzlichen Tod, dem ein Wiederauftreten der Menière-Anfälle vorangegangen war, ist Susanne Enders am MVZ Lüdenscheid des Universitätsklinikums Köln (Leiter: Dr. med. Alexander Adam) beruflich tätig gewesen.

Persönliches

Susanne Enders liebte das Detektivspielen, Sherlock Holmes zu sein, aus kleinen Puzzleteilen etwas zusammensetzen und mit Gleichgesinnten zu rätseln, um dann das Große und Ganze zu erkennen. Für sie war das Erkunden und Erforschen, Neues zu entdecken, Besonderes oder auch Alltägliches zu beobachten nicht nur beruflich ans Herz gewachsen, auch privat lebte sie so. Auf ihren so geliebten zahlreichen Urlaubsreisen – ein großes Hobby von ihr – konnte sie ihren Wissensdurst stillen. Im Verlauf von 48 Jahren ist sie mit ihrem Ehemann mit dem Wohnmobil quer durch Europa, aber auch seit 10 Jahren auf Fernreisen nach Afrika, Asien und Südamerika unterwegs gewesen.

Eine weitere Leidenschaft war seit ihrem vierten Lebensjahr das Skifahren. Dank ihrer Perfektion in diesem Sport (sie war auch Skilehrerin) konnte sie dieses Vergnügen trotz der Menière-Erkrankung genießen.

Das höchste Glück aber war für sie die Familie und hier natürlich ganz besonders die Kinder Henrike (Mathematik- und Physiklehrerin in Dortmund) und Valentin (Medizinstudent im PJ in Greifswald).

Mit Susanne Enders haben wir eine Kollegin verloren, die uns immer hilfs- und einsatzbereit, ausgeglichen und mit freundlichem Wesen unterstützt und zur

Seite gestanden hat. Sie war beliebt und bei Vorgesetzten und Kollegen sowie Kolleginnen gleichermaßen geschätzt und anerkannt.

Wir alle werden sie immer in dankbarer Erinnerung behalten.

J. Friemann

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. Johannes Friemann
Wirmerstr. 4, 44803 Bochum, Deutschland
friemann.altenbochum@web.de

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S273–S274
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01219-z
Angenommen: 7. August 2023
Online publiziert: 22. September 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Hanspeter Rohr

23.07.1935–15.02.2023

Michael Mihatsch

University Hospital Basel, Institute for Pathology, Basel, Schweiz

Wir erinnern an einen visionären Pathologen, einen begeisterten akademischen Lehrer und einen Philanthropen

Das Leben eines Pathologen in 4 Akten

Hanspeter Rohr wurde 1935 in Zürich geboren und wuchs auch dort auf. Das Medizinstudium schloss er nach Abstechern nach Rom und Paris 1960 in Genf ab. Nach einer Grundausbildung in Pathologie am Institut für Pathologie der Universität Zürich setzte er seine Weiterbildung in experimenteller Pathologie in Freiburg i.Br. fort. Dort habilitierte er sich 1967 mit einer Arbeit über die elektronenmikroskopische Autoradiographie wasserlöslicher Substanzen.

Erster Akt

Im Jahr 1968 kam er mit Hans Ulrich Zollinger nach Basel und übernahm die Lei-

tung der Abteilung für Experimentelle Pathologie und Elektronenmikroskopie am Institut für Pathologie. Hier konzentrierte sich seine Forschung auf die Stereologie/Morphometrie von Leber, Niere, Lunge und Prostata bei unterschiedlichen Krankheiten. Mit seiner Begeisterung für die Morphometrie steckte er mehrere Mitarbeiter des Instituts an, sodass Basel zum Mekka der Morphometrie wurde. In weit über 100 Arbeiten bedienten sich die Autoren dieser Methodik. Zur Bewältigung der großen Datenmengen hielt die computerunterstützte Datenanalyse schon früh Einzug ins Institut. Die Arbeiten wurden mit diversen nationalen und internationalen Preisen ausgezeichnet.

Rohr förderte den Einsatz der Elektronenmikroskopie nicht nur in der experimentellen Pathologie, sondern auch in der klinisch-pathologischen Diagnostik von Leber- und Nierenbiopsien. Er hat das Ansehen des Instituts nach innen und außen entscheidend mitgeprägt. Als Leiter



QR-Code scannen & Beitrag online lesen



Abb. 1 ◀ Prof. Dr. med. Hanspeter Rohr. (Foto: privat)

der elektronenmikroskopischen Abteilung fühlte er sich für den wissenschaftlichen Standard der Forschung verantwortlich. Seine Abteilung stand jedem offen und jeder wurde unterstützt und begleitet, der ein fundiertes Projekt bearbeiten wollte. In 1972 wurde er zum Extraordinarius befördert.

Zweiter Akt

Von 1972 bis 1985 hat er nebenbei auch das Amt des Studiendekans der Medizinischen Fakultät versehen. In dieser Funktion wurde er von Studierenden wie Kollegen nur „HP“ genannt. Er reorganisierte die Lehre im vorklinischen Studium. Aus Botanik und Zoologie wurde die Medizinische Biologie. Gleichzeitig förderte er den Einsatz moderner computerunterstützter Lehrmittel neben Tonbildschauen und Lehrfilmen. In den Jahren 1984 und 1985 hat er mit der Laserbildplatte „CHMED“ und der Laserbildplatte „Universitas Basiliensis“ einen wesentlichen Beitrag zum kritischen Einsatz elektronischer Medien im Bildungswesen geleistet. Auch an der Revision der Prüfungsverordnung für Ärzte hat er entscheidenden Anteil.

Im Zentrum für Lehre und Forschung (ZLF) baute er eine Mediothek auf, die für praktisch alle medizinischen Fächer Lehrmittel zum Selbststudium anbot. Als Studiendekan verstand er sich als Berater und Seelsorger für die Studierenden vom Eintritt in die Universität bis zum Übertritt ins Berufsleben.

Dritter Akt

Hanspeter Rohr wurde 1986 Medizinischer Direktor am Kantonsspital Basel und 1994 Kantonsarzt. Die Probleme, mit denen er sich konfrontiert sah, sind auch die heutigen: Kostenexplosion im Gesundheitswesen, Schwerpunktbildung, Abbau von Doppelspurigkeiten, Harmonisierung der Arbeitsabläufe in der Medizinischen Fakultät und im Spital.

Die administrativen Aufgaben haben ihm weder Freude bereitet noch haben sie ihm Freunde gebracht. Im Spital und im Kanton zeigte sich, dass die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter seinen innovativen Ideen oft nicht folgen konnten. Er dachte

schneller und agierte schneller, als seinem Arbeitsumfeld lieb war.

Die Mediothek im ZLF blieb sein Herzensanliegen. Hier konnte er sich entfalten: Er besorgte das Geld, er entschied, was gemacht werden sollte, und er setzte es mit seiner Frau Birgit Rohr um. Seine innovativen Ideen auf dem Gebiet der Pathologie und in der Lehre haben bis heute Bestand und trugen wesentlich zum Ansehen der Medizinischen Fakultät Basel bei.

Vierter Akt

Nach seiner Emeritierung im Jahr 2000 begab er sich nach Laos. In Vientiane beteiligte er sich pro bono in einer Medical School mehrere Jahre an der Lehre in Pathologie und brachte seine Erfahrungen mit modernen Lehrmethoden ein. Später wirkte er als Berater auf dem Gebiet HIV/AIDS. Zuletzt hat er noch Kindern im Grundschulalter Englischunterricht gegeben.

Am 15. Februar 2023 ist Hanspeter Rohr in Laos verstorben und wurde nach buddhistischem Ritus bestattet.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Michael Mihatsch
University Hospital Basel, Institute for Pathology
Basel, Schweiz
mijmi@yahoo.com

William A. Meier-Ruge

28.07.1930–09.04.2020

Michael Mihatsch

University Hospital Basel, Institute for Pathology, Basel, Schweiz

Eine typisch deutsche Lebensgeschichte oder: ‚Ich reise zu Tante Frieda‘

Ein Leben zwischen Akademie und Industrie

William A. Meier-Ruge, geboren als William Meier, wurde 28. Juli 1930 in Rudolstadt, Thüringen, Deutschland geboren und starb im April 2020 in Bottmingen, Schweiz.

Nur wenige Kolleginnen und Kollegen werden William Meier-Ruge persönlich begegnet sein, viele haben aber von seinen wissenschaftlichen Erkenntnissen profitiert.

Er durchlief die Schulen bis zum Abitur 1949 in seiner Heimatstadt. Im gleichen Jahr bestand er die Prüfung als Organist und Chorleiter im Kirchenmusikdienst in Eisenach.

Das Medizinstudium absolvierte er in Berlin, wo er 1954 das Staatsexamen bestand und promovierte. Nach 2 Jahren als Assistent in der Klinik begann er seine Ausbildung zum Pathologen bei Prof. Louis Heinz Kettler am Institut für Pathologie der Universität Berlin, dem „Rudolf-Virchow-Haus“. Facharzt für Pathologie wurde er 1960. Im gleichen Jahr wurde er mit dem Rudolf-Virchow-Preis der Universität Berlin ausgezeichnet, 1961 schloss er ein Fernstudium für Chemie an der Universität Dresden mit dem Vordiplom ab.

Am 13. August 1961 (am Tag des Mauerbaus) floh er nach Feierabend nur mit seiner Aktentasche nach Westberlin, nachdem ihm ein gut informierter Bekannter das Stichwort für die Flucht gegeben hatte: „Ich reise zu Tante Frieda“. Seine schwangere Frau benutzte, begleitet von ihren

beiden Kindern, andere Grenzübergänge. Ein Grund für die Flucht war die unsichere Zukunft der Kinder und ein anderer die Ungewissheit, ob seine wissenschaftliche Arbeit als Nicht-Parteigenosse unterstützt würde.

Auf der Suche nach einem adäquaten Arbeitsplatz klopfte er in Westdeutschland bei allen Instituten für Pathologie an. Nur in Darmstadt konnte er als stellvertretender Oberarzt für 3 Monate unterkommen. Der dortige Chef empfahl ihm, sich auch bei der Industrie in Basel zu bewerben.

Mit der Übersiedlung nach Basel erfolgte auch die Namensänderung von Meier zu Meier-Ruge, da ihn ein befreundeter Anwalt darauf aufmerksam gemacht hatte, dass es in der Schweiz schon einen berühmten Pathologen mit dem Namen Meier gab.

Da damals handschriftliche Bewerbungsschreiben verlangt wurden, erbot

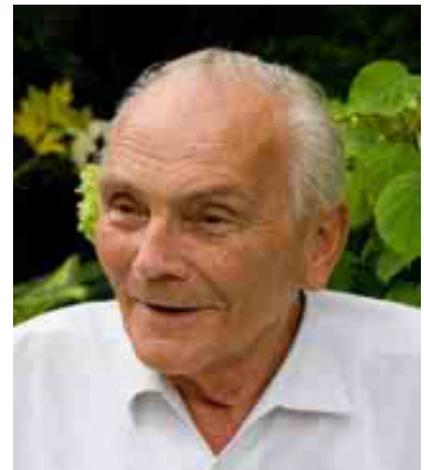


Abb. 1 ▲ Prof. Dr. med. William A. Meier-Ruge. (Foto: privat)



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

sich seine Frau, diese Aufgabe zu übernehmen. Aufgrund günstiger graphologischer Gutachten bot ihm die Firma Sandoz eine Stelle an. Im graphologischen Gutachten wurde ihm – richtiger ihr – eine „verträgliche, friedfertige und harmoniebedürftige Persönlichkeit“ attestiert.

Der Leiter der morphologischen Toxikologie der Sandoz, Prof. Aurelio Cerletti, bot ihm eine Stelle an und erlaubte ihm auch, täglich ins Pathologische Institut zu gehen, um seine Habilitation abzuschließen. Nach einem kurzen Intermezzo bei der Sandoz war er von 1963 bis 1968 am Pathologischen Institut Basel bei Prof. Andreas Werthemann als Prosektor tätig. Die Habilitation erfolgte 1965 mit der Arbeit: „Die Morphologie der medikamentösen Retinopathie“.

Im Jahr 1968 wurde Hans U. Zollinger Nachfolger von Andreas Werthemann. Kurz vor seinem Amtsantritt traf er Meier-Ruge und teilte ihm mit, alle Werthemann-Schüler müssten das Institut verlassen. Dass Meier-Ruge daraufhin eine Stelle als Leiter der Abteilung für Medizinische Grundlagenforschung bei der Sandoz annahm, hat ihm Zollinger verübelt.

Bei der Sandoz leitete er von 1969 bis 1979 die Medizinische Grundlagenforschung und von 1979 bis 1983 die Gerontologische Hirnforschung, 1971 wurde er zum Vizedirektor ernannt.

Aber bereits 1981 fällt seine Abteilung mit 40 akademischen und nichtakademischen Mitarbeitern dem Rotstift von McKinsey zum Opfer. Über Nacht blieben ihm nur ein Büro, eine Sekretärin und der Titel „Vizedirektor“. Eine Berufung zum wissenschaftlichen Leiter des Gerontologischen Forschungsinstituts der Veterans Administration Houston (USA) lehnte er aus familiären Gründen ab.

Die wichtigsten wissenschaftlichen Resultate aus dieser Zeit betrafen die Stoffwechselstörungen des Hirns und die mitochondriale Dysfunktion bei der Entwicklung der Demenz. Diese Befunde ließen „Hydergin“ zu einem Blockbuster der Sandoz werden. Mehr als 75 Publikationen dokumentieren seine Aktivität auf diesem Gebiet.

Außerdem war er bereits ab 1975 an der erfolgreichen Entwicklung des ersten Laserdissektionsmikroskops beteiligt. Bis

zu seiner Emeritierung stand das Gerät in seinem Büro später neben der Orgel.

Enttäuscht vom Verhalten der Sandoz, wandte er sich vermehrt dem Institut für Pathologie Basel zu. Er übernahm Teile der Ringvorlesung Pathologie für Medizinstudenten und betreute jahrelang zahllose Doktoranden. In diese Zeit fällt auch seine längst überfällige Beförderung zum Professor der Universität Basel 18 Jahre nach seiner Habilitation dank der Unterstützung von Philipp U. Heitz.

Sein wissenschaftliches Interesse wandte sich immer weiter weg von der Altersforschung hin zu angeborenen Innervationsstörungen am Darm, mit denen er sich bereits seit 1965 beschäftigt hatte. Sein Diagnoseverfahren mittels Cholinesterase-Nachweis an nativen Darmbiopsien von Morbus Hirschsprung bei Kindern und Erwachsenen ermöglichte eine frühe Diagnose und Therapie. Das erlaubt vielen Patienten mit angeborenen Innervationsstörungen später ein weitgehend normales Leben zu führen. Diese Diagnostik trug ihm internationale Anerkennung ein. Am Badischen Bahnhof und am Flugplatz trafen fast täglich Biopsien aus ganz Europa ein. Insgesamt 120 Publikationen auf diesem Gebiet – die letzte aus dem Jahr 2013 – zeugen von seinem wissenschaftlichen Engagement. Weit über seine Emeritierung hinaus wirkte er als Berater in schwierigen diagnostischen Fällen. Zuletzt gehörte er noch zu den Autoren der Webseite M. Hirschsprung www.hirschsprung.ch.

Seine Begeisterung für die Musik ging bei den vielfältigen beruflichen Aktivitäten nicht unter. Im später erworbenen Nachbarhaus fand seine private Orgel eine würdige Herberge.

Von 1965 bis 1990 lud die Familie Meier-Ruge zu 72 privaten Diskussionsabenden ein. Es fanden sich jeweils rund 20 multikulturell interessierte und diskussionsfreudige Personen ein. Im Mittelpunkt der Anlässe stand jeweils ein themenbezogener Vortrag. Unter den Teilnehmern war viel Prominenz, nicht zuletzt Albert Hofmann, der Erfinder von LSD.

Zuletzt führten zahlreiche Altersgebrechen zum Verlust an körperlicher und zuletzt auch geistiger Spannkraft. Während der Corona-Pandemie starb William A. Mei-

er-Ruge in seinem 90. Altersjahr im April 2020 an einer Pneumonie.

Mit ihm verlor die Pathologie eine einzigartige, charismatische Persönlichkeit, einen warmherzigen Kollegen und einen höchst produktiven Forscher, der sich um die Pathologie in all ihren Aspekten außerordentlich verdient gemacht hat.

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Michael Mihatsch
University Hospital Basel, Institute for Pathology
Basel, Schweiz
mijmi@yahoo.com

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S277–S278
<https://doi.org/10.1007/s00292-023-01263-9>
Angenommen: 19. Oktober 2023
Online publiziert: 21. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Wilko Weichert

22.09.1970–10.07.2023

Manfred Dietel¹ · Peter Schirmacher^{1,2} · Carolin Mogler^{1,3} · Institut für Pathologie der TU München

¹ Institut für Pathologie, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland

² Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Heidelberg, Heidelberg, Deutschland

³ Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, Technischen Universität München, München, Deutschland



Prof. Dr. Wilko Weichert (Foto: privat)

Im Alter von 52 Jahren verstarb im Juli 2023 Prof. Dr. Wilko Weichert nach kurzer, schwerer Krankheit. Er war eine herausragende Persönlichkeit, die für unser Fach, die deutsche Wissenschaftslandschaft und Hochschulmedizin sowie die Universitäten, an denen er in verantwortlicher Position tätig war, gleichermaßen Großes geleistet hat und für viele Vorbild und Freund war. Prof. Weichert hinterlässt eine Lücke, die nicht zu füllen sein wird.

Wilko Weichert studierte Medizin in Marburg, Würzburg und in Berlin. Nach Erlangung des Facharztes für Pathologie und Habilitation an der Charité nahm er dort 2007 den Ruf auf eine C3-Professur an. Gleichzeitig bekleidete er die Position des stellvertretenden Direktors. Schon damals war seine wissenschaftliche Arbeit auf die

translationale molekulare Pathologie ausgerichtet, wobei er immer in besonderem Maß deren klinische Nutzbarmachung für die individualisierte Therapie im Fokus hatte.

Im Jahr 2010 folgte er einem Ruf auf eine W3-Professur für Pathologie an das Pathologische Institut der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, die er in Verbindung mit der Stellvertretenden Institutsleitung und der Leitung der Sektion für Molekulare Tumorpathologie bis 2015 erfolgreich gestaltete. In dieser Zeit begann – insbesondere in enger Kooperation mit dem Nationalen Centrum für Tumorerkrankungen und dem Deutschen Krebsforschungszentrum – seine zentrale Rolle in der Gestaltung interdisziplinärer onkologischer Strukturen wie dem Deutschen Konsortium für Translationale Krebsforschung und dem nationalen Netzwerk Genomische Medizin.

Im Jahr 2015 erfolgte dann der Ruf auf eine W3-Professur und Institutsleitung am Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie der Technischen Universität München (TUM), die er bis zu seinem Tode innehatte. Neben der innovativen Weiterentwicklung seines Instituts, insbesondere in der molekularpathologischen Forschung, in der modernen Hochdurchsatzanalytik und der Molekulardiagnostik hat er viele weitere interdisziplinäre Verbünde wie die Bayerischen Zentren für Krebsforschung, die verschiedenen Netzwerke für personalisierte Medizin und zahlreiche weitere interdisziplinäre Forschungsvorhaben und Studien aufgebaut und geprägt.



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Die wesentliche Richtung seiner Forschungsarbeiten lag in der Identifikation, Validierung und klinischen Implementierung von gewebebasierten Biomarkern, die in der modernen Präzisionsonkologie mit dem Ziel eingesetzt werden, Patienten mit den individuell auf ihre Erkrankung abgestimmten Therapien zu behandeln. Die Forschungsfelder, die Wilko Weichert in diesem Kontext bearbeitet hat, umfassen die molekulare Hochdurchsatzanalytik am Gewebe, die vergleichende morphologisch-molekulare Maus-Mensch-Analytik, die Biomarker- und Assayentwicklung und die Implementierung dieser neuen Testverfahren in der Krankenversorgung. Er hat mehr als 370 Artikel in zumeist international hochrangigen medizinischen Fachzeitschriften publiziert, eine Leistung, die seine Begeisterung für die Forschung zeigt.

Prof. Weichert war neben vielen weiteren Funktionen Mitglied des Vorstandes der Deutschen Gesellschaft für Pathologie, designierter Tagungspräsident 2024 der DGP, gewähltes Mitglied und Sprecher des Fachkollegiums Pathologie der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Vorstandsmitglied des Deutschen Konsortiums für Translationale Krebsforschung, der Bayerischen Zentren für Krebsforschung und des nationalen Netzwerks Genomische Medizin sowie benannter Berater der Europäischen Arzneimittelbehörde. Sein großer Einsatz für die Einrichtung der Bayerischen Zentren für Personalisierte Medizin und das Deutsche Netzwerk für Personalisierte Medizin harret jetzt der Fortführung.

Jedoch weit über die Fakten und Leistungen hinaus und auch weit über unser Fach hinaus hat der Mensch, die Persönlichkeit, der Kollege und Freund Wilko Weichert gewirkt. Mit einem hohen Maß an Verständnis, Humor und Begeisterung ausgestattet, konnte er nahezu jeden, auch Kritiker, gewinnen. Er war der ideale Vertreter unseres Fachs in interdisziplinären Unterfangen, gesuchter Helfer in schwierigen Fragen und geschickter Gestalter auch komplexer Verbände. Von Anfang an verstand er es meisterlich, andere für die Pathologie und die morphologische und molekulare Forschung zu begeistern. Seine Tür im Institut war immer offen für seine Mitarbeiter, Kollegen, Freunde, denen er gerne

beratend zur Seite stand, und so hat er viele Lebens- und Karrierewege maßgeblich beeinflusst. Als charismatischer Mentor und Chef mit modernem Führungsstil hat er zahlreiche junger Mediziner motiviert, für unser Fach begeistert und geprägt.

Die Gemeinschaft der Pathologen und der klinischen und wissenschaftlichen Partner werden Prof. Weichert in dankbarer Erinnerung behalten, sein Andenken bewahren und wir alle werden den Menschen Wilko Weichert sehr vermissen.

Manfred Dietel
Peter Schirmacher
Carolin Mogler & das Institut für Pathologie der TU München

Korrespondenzadresse

sen. Prof. Dr. med. Dr. h.c. Manfred Dietel
Institut für Pathologie, Charité Universitätsmedizin Berlin
Charitéplatz 1, 10117 Berlin, Deutschland
manfred.dietel@charite.de

The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Hinweis des Verlags. Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.

Pathologie 2023 · 44 (Suppl 3):S279–S280
https://doi.org/10.1007/s00292-023-01246-w
Angenommen: 6. Oktober 2023
Online publiziert: 6. November 2023
© The Author(s), under exclusive licence to
Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von
Springer Nature 2023

Christine Woischke

09.07.1986 – 04.06.2023

Susanna Müller

Pathologisches Institut, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

„Als Ärztin bin ich auch zu Wissenschaft und medizinischer Forschung verpflichtet“

Christine Woischke wurde 1986 als Christine Weiss in Ingolstadt geboren und starb im Juni 2023 nach schwerer Krankheit in Landshut.

Nach dem Abitur 2006 in ihrer Heimatstadt folgte das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, das sie 2012 mit dem Staatsexamen abschloss. Nach der klinischen Tätigkeit als Assistenzärztin in der Hämatonkologischen Klinik am Universitätsklinikum Regensburg begann sie im November 2013 die Weiterbildung zur Fachärztin für Pathologie als Assistenzärztin am Pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität in München und ihre wissenschaftliche Tätigkeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. David Horst und bei Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Jens Neumann. Bereits 2011 absolvierte sie im Pathologischen Institut der LMU das erste Tertial des Praktischen Jahres. Im Jahr 2016 legte sie ihre Dissertation zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin vor. Im Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie war sie befasst mit Untersuchungen zum Einfluss des Cag-Typ-IV-Sekretionssystems von *Helicobacter pylori* auf die Migration von Phagozyten, deren Ergebnisse 2015 im *International Journal of Medical Microbiology* publiziert wurden. Darüber hinaus engagierte sie sich in der Arbeitsgruppe Lehre des Pathologischen Instituts und in der praktischen Ausbildung der Medizinstudenten.

Während ihrer Zeit als Assistenzärztin heiratete sie Dr. med. Andreas Woischke und bekam die beiden Kinder Maria und

Isabella. Nach der Elternzeit, während der sie Forschungsanträge schrieb und Fördermittel der Manfred-Stolte-Stiftung für ihr Forschungsprojekt einwerben konnte, setzte sie 2021 ihre Tätigkeit als Assistenzärztin und Wissenschaftlerin am Pathologischen Institut der LMU fort. In dieser Zeit betreute sie auch eine Doktorandin und war in der Routinediagnostik im Institut in der Innenstadt und in Großhadern sowie im Studentenunterricht eingesetzt. Ihr Ziel war, sich als Fachärztin für Pathologie auch in diesem Fach zu habilitieren. Insgesamt 10 Publikationen – die letzte aus dem Jahr 2023 über molekulare Pathologie des kolorektalen Karzinoms – zeugen von ihrem erfolgreichen wissenschaftlichen Engagement. Im Institut war sie nicht nur fachlich anerkannt, sondern aufgrund ihrer herzlichen und verbindlichen Art auch allseits beliebt.



Abb. 1 ▲ Christine Woischke



QR-Code scannen & Beitrag online lesen

Schon während ihrer Schul- und Studienzeit war sie begeisterte Sportlerin und Badmintonspielerin, die auch als Turnierspielerin reüssierte. Sie liebte das Meer und die Musik, begeisterte sich für bildende Kunst und konnte auch eigene Arbeiten in einer Ausstellung dem Publikum präsentieren. Trotz ihrer vielfältigen Aufgaben als Ehefrau und Mutter und des beruflichen und wissenschaftlichen Engagements ging ihre Begeisterung für Kunst und Musik nicht unter. Sie besuchte Kunstaustellungen und hörte Konzerte und Opern.

Von ihrer Krankheit hat sie nicht gesprochen, wollte als lebensbejahender Mensch ein „normales Leben“ führen – vielleicht ihr Mittel, um weiterleben zu können. Trotz vieler Widrigkeiten hat sie mit Fröhlichkeit, bewundernswerter Kraft und Ausdauer in der Pathologie in Diagnostik und Wissenschaft gearbeitet, bis sie das Tumorleiden im Herbst 2022 zu einem längeren Krankenhausaufenthalt zwang, von dem sie sich für kurze Zeit erholen konnte. Den Kampf gegen den Krebs, den sie mit übermenschlicher Kraft führte, hat sie im Juni 2023 verloren.

Mit ihr ging eine warmherzige, wunderbare Freundin, Kollegin und höchst produktive Forscherin, für die der Arztberuf nicht nur ärztliche Tätigkeit bedeutete, sondern auch zu medizinischer Forschung verpflichtete.

Korrespondenzadresse

PD Dr. Susanna Müller

Pathologisches Institut, Ludwig-Maximilians-Universität München
Thalkirchner Str. 36, 80337 München,
Deutschland
Susanna.Mueller@med.uni-muenchen.de

Hinweis des Verlags. The supplement containing this article is not sponsored by industry.

Der Verlag bleibt in Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutsadressen neutral.



Satzung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V.

§ 1 Name, Sitz und Rechtsfähigkeit. Der Name der Gesellschaft lautet „Deutsche Gesellschaft für Pathologie e.V.“. Ihr Sitz ist Berlin. Sie ist in das Vereinsregister Berlin-Charlottenburg eingetragen.

§ 2 Zweck der Gesellschaft. Zweck der Gesellschaft ist: Förderung der wissenschaftlichen und ärztlichen Belange der Pathologie im weitesten Umfang in dem Bestreben, der Erforschung und Abwehr von Krankheiten zu dienen und die Pathologie in ihrer zentralen Bedeutung für die gesamte Medizin weiterzuentwickeln.

Hierzu dienen: Die Abhaltung einer Jahrestagung und ggf. weiterer Tagungen und die Veröffentlichung der Referate in einer geeigneten Form. Hierzu dienen weiterhin der Gedanken- und Erfahrungsaustausch zwischen Pathologen; die Herstellung und Vertiefung der Beziehungen zu den der Pathologie verbundenen Disziplinen der Medizin und der Naturwissenschaften sowie zu in- und ausländischen Fachgesellschaften; die Auszeichnung von Personen, die sich um die Entwicklung der Pathologie besonders verdient gemacht haben (Rudolf-Virchow-Medaille), die Auszeichnung wissenschaftlicher Arbeiten auf dem Gebiet der Pathologie (Rudolf-Virchow-Preis, Forschungspreis), die Arbeitsgemeinschaf-

ten der Gesellschaft und die Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses.

§ 3 Gemeinnützigkeit.

1. Die Deutsche Gesellschaft für Pathologie verfolgt ausschließlich und unmittelbar gemeinnützige Zwecke im Sinne des Abschnitts „Steuerbegünstigte Zwecke“ der Abgabenordnung. Zweck der Körperschaft ist die Förderung von Wissenschaft und Forschung im Bereich der Pathologie. Der Satzungszweck wird verwirklicht insbesondere über die Durchführung wissenschaftlicher Veranstaltungen, die Vergabe von Preisen an Nachwuchswissenschaftlerinnen und -wissenschaftler sowie die Herausgabe von wissenschaftlichen Publikationen zur Weiterbildung.
2. Die Gesellschaft ist selbstlos tätig. Sie verfolgt nicht in erster Linie eigenwirtschaftliche Zwecke.
3. Mittel der Gesellschaft dürfen nur für Satzungszwecke verwendet werden. Die Mitglieder erhalten keine Zuwendungen aus Mitteln der Gesellschaft.
4. Es darf keine Person durch Ausgaben, die dem Zweck der Gesellschaft fremd sind oder durch unverhältnismäßig hohe Vergütungen begünstigt werden.
5. Bei Auflösung oder Aufhebung der Gesellschaft oder bei Wegfall ihres steuerbegünstigten Zweckes fällt das Vermögen an die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG Bonn-Bad Godesberg), die es ausschließlich für gemeinnützige Zwecke (insb. zur Förderung der Wissenschaft und Forschung) zu verwenden hat.

§ 4 Mitgliedschaft.

1. Die Deutsche Gesellschaft für Pathologie hat ordentliche Mitglieder, außerordentliche Mitglieder, Ehrenmitglieder, korrespondierende Mitglieder und fördernde Mitglieder.
2. Ordentliche Mitglieder können Ärzte, Zahnärzte, Tierärzte sowie Naturwissenschaftler mit abgeschlossener Hochschulausbildung werden. Über die Aufnahme entscheidet der Vorstand.
3. Der Jahresbeitrag für die ordentlichen Mitglieder wird von der Mitgliederversammlung für das folgende Geschäftsjahr festgesetzt.

Jedes beitragspflichtige Mitglied ist zur Zahlung des Beitrages zu Anfang des laufenden Jahres verpflichtet. Die Höhe der jeweiligen Beiträge regelt die Beitragsordnung. Über Änderungen der Beitragsordnung entscheidet die Mitgliederversammlung.

Ordentliche Mitglieder können nach Beendigung ihrer beruflichen Tätigkeit auf Antrag außerordentliche Mitglieder werden. Außerordentliche Mitglieder erhalten Sonderkonditionen für den Mitgliedsbeitrag (Reduktion oder Freistellung), die von der Mitgliederversammlung festgelegt werden, und Einschränkungen bei den Aussendungen der Gesellschaft zur Folge haben. Sie werden im Mitgliedsverzeichnis geführt und können zu den Bedingungen ordentlicher Mitglieder an Veranstaltungen der Gesellschaft teilnehmen. Sie haben nicht mehr das Stimm- und Wahlrecht.

Fördernde Mitglieder zahlen neben dem Förderbeitrag keinen Jahresbei-

Gem. Beschluss der Mitgliederversammlung vom 13. Juni 2014, geändert bzw. ergänzt durch die Beschlüsse der Mitgliederversammlung vom 20. Mai 2016.

Wenn in Bezug auf Personen nur die maskuline Form verwendet wird, so geschieht dies lediglich aus Vereinfachungsgründen. Selbstverständlich sind damit Männer und Frauen gleichermaßen gemeint.

Satzungen

trag oder eine Umlage. Jedes ordentliche und jedes fördernde Mitglied ist zur Zahlung des Jahresbeitrages bzw. Förderbeitrages am Anfang des laufenden Jahres verpflichtet. Sonderregelungen können sich aus der Beitragsordnung ergeben. Die Mitgliederversammlung kann eine Umlage beschließen.

Der Jahresbeitrag ist am 01. Februar des Jahres fällig und muss bis dahin auf dem Konto der Gesellschaft eingegangen sein. Der Beitrag wird per Lastschrift eingezogen. Der Vorstand kann Ausnahmen von dieser Regelung beschließen.

4. Die Mitgliedschaft endet durch Austritt, Erlöschen, Ausschluss oder durch den Tod. Die Mitgliedschaft kann jederzeit zum Jahresende durch Austrittserklärung schriftlich gekündigt werden. Gezahlte Mitgliedsbeiträge und erhobene Umlagen werden nicht zurückerstattet. Nichtzahlung des Beitrags trotz dreifacher Mahnung führt zum Erlöschen der Mitgliedschaft. Dies wird dem Mitglied bekannt gegeben.

Der Ausschluss eines Mitglieds kann vom Vorstand nach Anhörung des betreffenden Mitglieds verfügt werden, wenn es die Interessen der Gesellschaft schwerwiegend geschädigt hat. Gegen den Ausschluss ist die Beschwerde zulässig, die innerhalb eines Monats nach Zustellung des Ausschlussbescheides beim Vorstand einzulegen ist. Über die Beschwerde entscheidet die Mitgliederversammlung mit einfacher Mehrheit.

Der Ausschluss und das Erlöschen der Mitgliedschaft werden mit Zustellung des Ausschlussbescheides wirksam.

5. Die ordentlichen Mitglieder sind stimmberechtigt und wählbar.
6. Mitglieder oder Persönlichkeiten, die sich um die Pathologie besondere Verdienste erworben haben, können von der Mitgliederversammlung zu Ehrenmitgliedern ernannt werden. Ehrenmitglieder zahlen keinen Jahresbeitrag.
7. Die Mitgliederversammlung kann vom Vorstand vorgeschlagene, nicht dem deutschen Sprachraum angehörende Wissenschaftler zu korrespondierenden Mitgliedern der Gesellschaft wählen. Korrespondierende Mitglieder zahlen keinen Jahresbeitrag.

8. Personen sowie private und öffentliche Vereinigungen, die die Ziele der Gesellschaft unterstützen, können vom Vorstand als fördernde Mitglieder aufgenommen werden. Die Höhe des Förderbeitrages wird vom Vorstand im Einvernehmen mit dem fördernden Mitglied festgesetzt. Fördernde Mitglieder sind weder stimmberechtigt noch wählbar.

§ 5 Organe der Gesellschaft. Organe der Gesellschaft sind:

- a) **der Vorstand**
- b) **die Mitgliederversammlung**

§ 6 Vorstand.

1. Die Mitglieder des Vorstands sind mit Ausnahme des geschäftsführenden Vorstandsmitgliedes grundsätzlich ehrenamtlich tätig. Der Vorstand besteht aus folgenden Mitgliedern:
 - a) dem amtierenden Vorsitzenden (auf 2 Jahre gewählt, zweimalige Wiederwahl in Kontinuität möglich)
 - b) dem stellvertretenden Vorsitzenden (für 2 Jahre gewählt, zweimalige Wiederwahl in Kontinuität möglich)
 - c) dem/der Tagungspräsidenten/in (einmalig für 1 Jahr gewählt, dann Ersatz durch den/die nach einem Amtsjahr nachrückende/n designierte/n Tagungspräsidenten/in)
 - d) dem/der designierten Tagungspräsidenten/in (für 1 Jahr gewählt)
 - e) sieben Beisitzer/innen (Amtszeit 2 Jahre, zweimalige Wiederwahl in Kontinuität möglich)
 - f) einem Nachwuchsmitglied auf Vorschlag des Vorstandes (Amtszeit 2 Jahre, einmalige Wiederwahl möglich)
 - g) dem Geschäftsführenden Vorstandsmitglied, sofern die Mitgliederversammlung auf Vorschlag des Vorstandes den Generalsekretär hierzu bestellt.
2. **Vorstand im Sinne des § 26 BGB** sind **der/die amtierende Vorsitzende, der/die stellvertretende Vorsitzende und das Geschäftsführende Vorstandsmitglied.** Sie vertreten die Gesellschaft gerichtlich und außergerichtlich. Jedes dieser Mitglieder hat Einzelvertretungsbefugnis.

3. Die Wahl der unter Abs. 1 Buchstabe a-g genannten Vorstandsmitglieder erfolgt in der ordentlichen Mitgliederversammlung mit einfacher Mehrheit.
4. Im Vorstand sollte möglichst ein Vertreter aus Österreich oder der Schweiz vertreten sein.
5. Der Vorstand gibt sich eine Geschäftsordnung, über die die Mitgliederversammlung mit einfacher Mehrheit beschließt.
6. Kosten- bzw. Auslagenersatz kann grundsätzlich gemäß Punkt 7 der Geschäftsordnung erstattet werden.

§ 7 Die Mitgliederversammlung.

1. Mindestens einmal im Jahr ist vom Vorstand eine ordentliche Mitgliederversammlung einzuberufen. Die Einladung muss schriftlich oder per E-Mail mindestens 4 Wochen vor dem vorgesehenen Termin erfolgen und die Tagesordnung enthalten. Eine außerordentliche Mitgliederversammlung ist gem. vorstehender Regelung vom Vorstand einzuberufen, wenn das Interesse der Gesellschaft es erfordert oder wenn ein Zehntel der ordentlichen Mitglieder dies schriftlich unter Angabe des Zwecks und der Gründe beantragt. Die Einberufungsfrist kann auf eine Woche abgekürzt werden. In der Mitgliederversammlung sind folgende Angelegenheiten zu behandeln:
 - a) die Wahl von Vorstandsmitgliedern
 - b) Beschlussfassung über Tagungsthemen und -orte
 - c) die Entgegennahme des Finanzberichtes über das abgelaufene Kalenderjahr und die Festsetzung des Mitgliedsbeitrages für das kommende Kalenderjahr
 - d) Entlastung des Vorstandes
 - e) Wahl von zwei Kassenprüfern
 - f) Beschlussfassung über die Ernennung von Ehrenmitgliedern und die Wahl von korrespondierenden Mitgliedern
 - g) Beschlussfassung über Satzungsänderungen
2. Anregungen und Anträge für die Mitgliederversammlung sind dem Vorstand bis spätestens zwei Wochen vor dem Termin der Mitgliederversammlung schriftlich einzureichen.

3. Die Mitgliederversammlung fasst ihre Beschlüsse grundsätzlich mit der einfachen Mehrheit der anwesenden Mitglieder. Die Auflösung der Gesellschaft kann nur mit einer Dreiviertel-Mehrheit der anwesenden Mitglieder beschlossen werden. Gleiches gilt für eine Änderung von § 2 und § 3 der Satzung. Sonstige Satzungsänderungen bedürfen einer Zweidrittel-Mehrheit. Über die Mitgliederversammlung ist ein Protokoll zu führen, das vom amtierenden Vorsitzenden und vom geschäftsführenden Vorstandsmitglied zu unterschreiben ist.

§ 8 Geschäftsjahr, Sonstiges. Das Geschäftsjahr der Gesellschaft ist das Kalenderjahr.

Satzungsänderungen gelten ab Eintrag in das Vereinsregister. Vorstandsmitglieder nach § 6 Abs. 2 sind sofort nach ihrer Wahl im Amt.

Satzung der Rudolf-Virchow-Stiftung für Pathologie

§ 1 Name und Sitz der Stiftung. Die Stiftung führt den Namen „Rudolf-Virchow-Stiftung für Pathologie“. Sie ist eine rechtsfähige Stiftung des bürgerlichen Rechts und hat ihren Sitz in Berlin.

§ 2 Zweck der Stiftung, Vergabevoraussetzungen. Die Stiftung verfolgt ausschließlich und unmittelbar gemeinnützige Zwecke i. S. d. Abschnitts „steuerbegünstigte Zwecke“ der AO.

Zweck der Stiftung ist die Förderung von Wissenschaft und Forschung. Die Stiftung soll die wissenschaftliche Tätigkeit und Forschung im Bereich der Pathologie fördern und auszeichnen; sie ist selbstlos tätig und verfolgt nicht in erster Linie eigenwirtschaftliche Zwecke.

1. Zu diesem Zweck verleiht die Stiftung an Wissenschaftler den Rudolf-Virchow-Preis und eine damit verbundene Dotierung als Auszeichnung für ihre wissenschaftliche Tätigkeit im Bereich der Pathologie und ehrt zusätzlich Pathologen für ihre Verdienste im Bereich der Pathologie durch Verleihung der Rudolf-Virchow-Medaille. Der Rudolf-Virchow-Preis und die Rudolf-Virchow-Medaille können auch an ausländische Wissenschaftler verliehen werden.

2. Der Rudolf-Virchow-Preis wird entsprechend dem Verleihungszweck der Stiftung jährlich an einen Pathologen unter vierzig Jahren für eine noch nicht veröffentlichte, oder für eine nicht länger als ein Jahr vor der Bewerbung publizierte wissenschaftliche Arbeit verliehen. Der Preis wird vom Vorstand ein Jahr vor der Verleihung ausgeschrieben, wobei eine angemessene Frist für die Bewerbung in der Ausschreibung anzugeben ist. Die Dotierung des Preises erfolgt aus den Erträgen des Stiftungsvermögens und wird vom Vorstand in der jeweiligen Ausschreibung nach freiem Ermessen ausgelobt.

Der Preisträger wird vom Vorstand auf Vorschlag einer fünfköpfigen Jury ausgewählt. Wahl und Zusammensetzung der Jury erfolgt alle 2 Jahre. Die Jury unterbreitet dem Vorstand ein begründetes schriftliches Votum über ihren Wahlvorschlag. Über die Verleihung des Preises entscheidet der Vorstand auf der Grundlage des Vorschlages. Die Verleihung des Preises erfolgt durch den amtierenden Vorsitzenden des Vorstands.

3. Die Rudolf-Virchow-Medaille wird alle zwei Jahre an einen Pathologen verliehen, der sich um die Pathologie besonders verdient gemacht hat. Über die Vergabe der Rudolf-Virchow-Medaille entscheidet der Vorstand.

4. Soweit die Stiftung Zuwendungen erhält, die ausdrücklich hierfür bestimmt sind, kann sie wissenschaftlichen Nachwuchs im Bereich der Pathologie auch dadurch fördern, dass sie Stipendien, Unterstützungsmittel für Reisen

bzw. wissenschaftliche Tagungen sowie sonstige Fördermittel, z. B. für besonders aussichtsreiche Forschungsvorhaben, vergibt.

§ 3 Vorstand.

1. Alleiniges Organ der Stiftung ist der Vorstand.
2. Vorstand der Stiftung ist der jeweilige Gesamtvorstand der DGP e.V., dem gemäß § 6 der Satzung der DGP e.V. der Vorsitzende, der stellvertretende Vorsitzende, das Geschäftsführende Vorstandsmitglied, der Tagungspräsident, der designierte Tagungspräsident, das Nachwuchsmittglied sowie 7 Beisitzer angehören. Der Nachweis, dass die Beschlussfassungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. ordnungsgemäß und mit den erforderlichen Mehrheiten zustande gekommen sind, wird durch eine mit Wirkung nach außen legitimierende Erklärung des jeweiligen Vorsitzenden des Vorstands der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. geführt.
3. Vorstand der Stiftung im Sinne des § 26 BGB sind der amtierende Vorsitzende der DGP e.V., der stellvertretende Vorsitzende und das Geschäftsführende Vorstandsmitglied. Sie vertreten die Stiftung gerichtlich und außergerichtlich. Jedes der genannten Vorstandsmitglieder hat Einzelvertreterbefugnis.
4. Vorstandssitzungen finden mindestens einmal jährlich statt. Zu den Vorstandssitzungen lädt der Vorsitzende, im Falle seiner Verhinderung das stellvertretende Vorstandsmitglied, unter Bekannt-

Beschlossen am 28.05.2010 zur Mitgliederversammlung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. (DGP), zuletzt geändert durch Vorstandsbeschluss vom 23. Mai 2018. Wenn in Bezug auf Personen nur die maskuline Form verwendet wird, so geschieht dies lediglich aus Vereinfachungsgründen. Selbstverständlich sind damit Männer und Frauen gleichermaßen gemeint.

gabe der Tagesordnung mit einer Ladungsfrist von vierzehn Tagen ein. Den Vorsitz im Vorstand der Stiftung führt der Vorsitzende der DGP e.V.

5. Nach Ablauf der Amtszeit führen die Mitglieder des Vorstands ihr Amt bis zum Amtsantritt der Nachfolger weiter. Scheiden Vorstandsmitglieder vorzeitig aus, bilden die verbliebenen Vorstandsmitglieder bis zur Vervollständigung des Vorstands den Vorstand allein und führen die unaufschiebbaren Aufgaben der Stiftungsverwaltung weiter aus.

§ 4 Aufgaben des Vorstandes. Zu den Aufgaben des Vorstandes gehören insbesondere die Verwaltung des Stiftungsvermögens, die Vergabe der Stiftungsmittel, die Führung der laufenden Geschäfte, die Erstellung von Jahresrechnung und –bericht (§ 7), die Beschlussfassung über

- Satzungsänderungen,
- Aufhebung oder Auflösung der Stiftung
- Zusammenlegung mit oder Zulegung zu einer anderen Stiftung

§ 5 Verwaltung des Stiftungsvermögens. Das Vermögen der Stiftung ist in seinem Bestand ungeschmälert zu erhalten. Die Mittel der Stiftung dürfen nur für die satzungsmäßigen Zwecke verwendet werden. Die Erträge des Stiftungsvermögens sind ausschließlich zur Erfüllung des Stiftungszwecks zu verwenden. Das gleiche gilt für Zuwendungen Dritter, sofern diese ausschließlich dafür bestimmt sind. Anderenfalls sind sie dem Stiftungsvermögen zuzuführen.

Keine Person darf durch Ausgaben, die dem Zweck der Stiftung fremd sind, oder durch unverhältnismäßig hohe Vergütungen begünstigt werden. Verwaltungsausgaben der Stiftung sind auf das notwendige Mindestmaß zu beschränken. Die Stiftungsmittel sind ausschließlich für gemeinnützige Zwecke i. S. d. Abschnitts „steuerbegünstigte Zwecke“ der AO zu verwenden.

Als Geschäftsführendes Vorstandsmitglied der Stiftung fungiert das Geschäftsführende Vorstandsmitglied der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. Die Prüfungen der finanziellen Unterlagen der Stiftung erfolgen durch die beiden ge-

wählten Kassenprüfer der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V.

Neben dem Stiftungsvermögen kann die Stiftung Verbrauchsvermögen bilden, dem allein vom Zuwendenden hierfür bestimmte Zustiftungen zuzuführen sind. Die Stiftung kann derartige Zustiftungen annehmen. Das Verbrauchsvermögen ist ganz oder teilweise für die Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses gemäß § 2 Nummer 4 zu verwenden.

§ 6 Geschäftsjahr. Das Geschäftsjahr ist das Kalenderjahr.

§ 7 Jahresrechnung und Jahresbericht.

1. Der Vorstand erstellt nach Ablauf eines jeden Geschäftsjahres eine Jahresendabrechnung, eine Vermögensübersicht sowie einen Bericht über die Erfüllung des Stiftungszwecks. Diese Unterlagen sind der Aufsichtsbehörde innerhalb von vier Monaten nach Ablauf des Geschäftsjahres vorzulegen.
2. Der Vorstand hat einmal jährlich gegenüber der Mitgliederversammlung der DGP e.V. einen Rechenschaftsbericht für das abgelaufene Kalenderjahr vorzulegen. Der Rechenschaftsbericht muss eine Bilanz enthalten; er ist schriftlich abzufassen und für die Mitglieder der DGP e.V. zu veröffentlichen.

§ 8 Stiftungsaufsicht. Die Stiftung unterliegt der staatlichen Aufsicht nach Maßgabe des jeweiligen Stiftungsrechts.

§ 9 Satzungsänderungen, Auflösung der Stiftung, Anfallsberechtigte.

1. Der Vorstand muss mit 3/4 Mehrheit seiner Mitglieder über Satzungsänderungen beschließen.
2. Ist die weitere Verfolgung des in § 2 der Satzung genannten Zwecks der Stiftung unmöglich geworden oder erscheint sie aufgrund einer wesentlichen Veränderung der Verhältnisse nicht mehr sinnvoll, kann der Vorstand die Auflösung oder eine Änderung des Zwecks der Stiftung beschließen. Der Beschluss kann nur mit Zustimmung aller Vorstandsmitglieder gefasst werden. Ein solcher Beschluss wird erst wirksam, wenn er von der Aufsichtsbehörde genehmigt ist.

3. Bei Aufhebung oder Auflösung der Stiftung oder bei Wegfall steuerbegünstigter Zwecke fällt das Vermögen der Stiftung an die Deutsche Gesellschaft für Pathologie e.V., die es ausschließlich und unmittelbar für gemeinnützige Zwecke zu verwenden hat.

§ 10 Inkrafttreten. Diese Satzung tritt mit der Genehmigung durch die Stiftungsbehörde in Kraft.



Protokoll der DGP- Mitgliederversammlung 2023

Tagesordnung

1. Begrüßung und Beschluss zur Tagesordnung sowie zum Protokoll 2022

Der Vorsitzende, Prof. Baretton, begrüßt die Anwesenden und stellt vor Eintritt in die Tagesordnung die fristgerechte Einladung zur Mitgliederversammlung und damit die Beschlussfähigkeit fest. Er fragt nach Änderungswünschen zur Tagesordnung, die aus dem Kreis der Mitgliederversammlung jedoch nicht vorgetragen werden.

Beschluss: Das Protokoll 2022 und die Tagesordnung werden von der Mitgliederversammlung einstimmig per Akklamation genehmigt.

Der Vorsitzende verliest daraufhin die Namen der seit der letzten Mitgliederversammlung verstorbenen Mitglieder. Es sind dies:

- Herr Prof. Dr. med. Jörg Caselitz (Hamburg)
- Herr PD Dr. med. Volker Bürkle (Dürnau)
- Frau Dr. med. Susanne Enders (Werdohl)
- Herr Prof. Dr. med. Peter Röttger (Düren)
- Herr Prof. Dr. med. Götz Freytag (Münster)
- Herr Prof. Dr. med. Konrad Morgenroth (Bochum)
- Frau Dr. med. Sengül Boral (Berlin)
- Herr Dr. med. Christoph Worbes (Ulm)
- Herr Prof. Dr. med. Christian Kyrieleis (Wegberg/Gehrden)

Er bittet die Anwesenden, sich in stillem Gedenken an die Verstorbenen zu erheben.

2. Bericht des Vorsitzenden

Der Vorsitzende erläutert die Ereignisse und Aktivitäten von Vorstand, Arbeitsgemeinschaften und Geschäftsstelle seit der Mitgliederversammlung im Juni 2022 in Münster.

Dazu gehören

- ein Rückblick auf die Jubiläumsveranstaltung „125 Jahre DGP“, die unter Beteiligung der Politik (die Berliner Staatssekretärin für Wissenschaft, Forschung und Gleichstellung, Frau Naghipour, sowie der Oberbürgermeister von Braunschweig, Herr Dr. Kornblum), zahlreichen Vertretern von Schwes-tergesellschaften sowie des Präsidenten der Bundesärztekammer, Herrn Dr. Reinhard, im Berliner Langenbeck-Virchow-Haus stattgefunden hat,
- der (hybride) Workshop „9. Update Molekularpathologie 2022“ mit 138 Teilnehmer*innen und dem Herbsttreffen der AG Molekularpathologie mit 231 Teilnehmer*innen,
- die weiteren Treffen der AG Thoraxpathologie vom Februar 2023 in Ulm sowie der AG Hämatopathologie im Dezember 2022 in Wuppertal mit 50 bzw. 25 Teilnehmer*innen,
- die Zusammenarbeit mit dem BDP sowie die Interaktionen mit der DFG und der DKG bei der Neubenennung von Vertreterinnen im Fachkollegium Pathologie bzw. in den Zertifizierungskommissionen, die bei der Jahrestagung wiederum kooperierenden Schwes-tergesellschaften DRG, DGCH und DGHO sowie internationalen medizinischen Fachgesellschaften (in Japan, Spanien, Ungarn und China) und Organisationen (ICCR),
- der Besuch einer DGP-Delegation beim Annual Meeting der Japanese Society

Anwesend: 47 Mitglieder und ein Gast (s. Liste)
Zeit: Freitag, 02. Juni 2023, 18.20 Uhr
Ort: Congress Center Leipzig, Seehausener Allee 1, 04356 Leipzig, Ebene 1, Saal 2

- of Pathology (JSP) vom 13.–15. April in Shimonoseki,
- abgeschlossene und begonnene Leitlinien, verbunden mit dem Dank an alle Mitwirkenden und der Bitte an alle Expert*innen, sich auch weiterhin an Leitlinien für die Pathologie (DGP/AOP) zu beteiligen,
 - der diesjährige Virchow-Preisträger, Herr Dr. med. Sebastian Försch (UK Mainz), den die Jury für seine Arbeit zum Thema „Multistain deep learning for prediction of prognosis and therapy response in colorectal cancer“ ausgezeichnete,
 - die Öffentlichkeitsarbeit mit den Mitteilungen in „DIE PATHOLOGIE“, eigenen DGP-posts auf LinkedIn, u. a. zur DGP-Jahrestagung und den AG-Treffen, und die Pressemitteilung zur erfolgreichen Akkreditierung der QuIP GmbH im Januar 2023.

Abschließend berichtet er über das umfangreiche Programm der QuIP sowie die weiteren Planungen bei regulären bzw. prototypischen Ringversuchen sowie Digital Readout Tests (DRT).

3. Bericht des Geschäftsführenden Vorstandsmitgliedes

Herr Maas erläutert zunächst den Jahresabschluss 2022 der DGP und anschließend den der Rudolf-Virchow-Stiftung (RVS). Während die DGP einen im Vergleich zum letzten Jahr – unter Berücksichtigung von Wertstellungsverschiebungen – ähnlich hohen Überschuss erwirtschaftet habe, weise die Stiftung erneut einen Verlust in Höhe von knapp 15T€ aus. Dem beim Berliner Senat gestellten Antrag auf Auflösung der Stiftung habe die Behörde inzwischen stattgegeben, so dass mit der Abwicklung begonnen werden könne. Die Leistungen der Stiftung werde die DGP weiter erbringen und ggf. sogar ausweiten. Hierzu gehöre u. a. die mögliche Erhöhung des Preisgeldes für den Virchow-Preis von derzeit 5T€ auf 10T€.

Aufgrund des zu erwartenden Überschusses bei den verschiedenen DGP-Tagungen und der insgesamt stabilen Finanzsituation sieht Herr Maas keine Notwendigkeit, die Beiträge im nächsten Jahr zu erhöhen. Daran änderten auch die

Mehrbelastungen durch die DGP-Nachwuchsakademie im Herbst 2023 sowie den Relaunch der DGP-Homepage nichts.

Die DGP-Mitgliederzahl habe sich mit 1063 im Vergleich zum Vorjahr nur minimal, nämlich um drei Personen, erhöht. Ziel müsse es also sein, noch mehr, und vor allem junge Mitglieder, von den Vorteilen einer Mitgliedschaft in der DGP zu überzeugen und diese in der Gesellschaft zu halten.

4. Bericht der Kassenprüfer und Entlastung des Vorstandes

Herr Prof. Herbst trägt, wie im letzten Jahr, den Bericht der Kassenprüfer stellvertretend auch für Herrn Prof. Denkert vor. Beide Kassenprüfer haben die Konten und Belege bei einem Termin in der Geschäftsstelle am 21. April 2023 gemeinsam geprüft. Dabei seien keinerlei Beanstandungen festzustellen gewesen. Dem Vorstand bescheinigen sie eine satzungsgemäße und sparsame Mittelverwendung. Die Dokumentation bezeichnen sie als sorgfältig und nachvollziehbar. Herr Herbst beantragt daher die Entlastung des Vorstandes für das Berichtsjahr 2022.

Beschluss: Die Mitgliederversammlung beschließt die Entlastung des Vorstandes (ohne Gegenstimmen bei acht Enthaltungen in eigener Sache).

5. Festsetzung des Mitgliedsbeitrags für das kommende Jahr

Der Vorsitzende schlägt vor, den Mitgliedsbeitrag 2024 in den verschiedenen Beitragskategorien unverändert beizubehalten.

Die Mitgliederversammlung kommt darauf hin zu folgendem einstimmigen

Beschluss: Die Mitgliederversammlung stimmt dem Vorschlag des Vorstandes zu, die Beiträge 2024 unverändert auf dem Niveau von 2023 zu belassen.

6. Wahl der Kassenprüfer für das Geschäftsjahr 2023

Der Vorsitzende berichtet, dass sich die Herren Professoren Herbst und Denkert im Vorfeld bereit erklärt hatten, erneut für das Amt als Kassenprüfer zu kandidieren. Herr

Maas bittet die Mitgliederversammlung um das Votum.

Beschluss: Die Mitgliederversammlung wählt die Herren Herbst und Denkert zu Kassenprüfern für das Geschäftsjahr 2023 (einstimmig mit einer Enthaltung in eigener Sache).

7. Neuwahlen zum Vorstand

Der Vorsitzende informiert die Mitglieder, dass Herr Prof. Fend als Tagungspräsident 2023 sowie Frau Prof. Lebeau wegen des Ablaufs ihrer letzten Amtszeit als Vorstandsmitglieder ausscheiden. Da sich der Beirat Herr Prof. Dr. med. Phillip Ströbel als designierter Tagungspräsident 2025 bewirbt, müssten nun also zwei Beisitzerpositionen im Vorstand neu besetzt werden. Der Vorstand schlägt dafür Frau Prof. Dr. med. Gabriele Köhler (UM Marburg, Campus Fulda) und Frau Prof. Dr. med. Claudia Wickenhauser (UK Halle) für die beiden offenen Positionen vor.

Der Vorsitzende fragt die Mitgliederversammlung, ob es weitere Vorschläge aus dem Plenum für die genannten Positionen gebe und ob der Wunsch nach einer geheimen Abstimmung bestehe. Dies ist nicht der Fall. Es ergehen daraufhin folgende

Beschlüsse (jeweils mit Enthaltung in eigener Sache):

- i. Die Mitgliederversammlung wählt Herrn Prof. Ströbel (Göttingen) zum designierten Tagungspräsidenten 2025.
- ii. Die Mitgliederversammlung wählt Frau Prof. Köhler und Frau Wickenhauser als neue Beisitzerinnen in den Vorstand.

Schließlich kündigt Herr Baretton an, dass satzungsgemäß auch seine Position des Vorsitzenden neu bestimmt werden müsse. Er sei dazu bereit, die Position weitere zwei Jahre auszuüben und übergibt die Sitzungsleitung an den stellvertretenden Vorsitzenden, Herrn Röcken und verlässt den Raum mit dem Hinweis darauf, dass er die anschließende Diskussion nicht durch seine Präsenz beeinflussen wolle.

Herr Röcken fragt die anwesenden Mitglieder, ob es Alternativvorschläge zur Position des Vorsitzenden gebe. Die Mitglie-

Protokoll der Mitgliederversammlung

dersammlung macht keine weiteren Vorschläge. Daraufhin fragt Herr Röcken, ob es Gegenstimmen zum Vorschlag des Vorstandes gebe, Herrn Baretton für eine dritte – und damit letztmögliche – Amtszeit zum Vorsitzenden zu wählen. Aus der Mitgliederversammlung kommen keine Gegenstimmen, auch Enthaltungen werden nicht vorgebracht. Es ergeht folgender einstimmiger

Beschluss: Die Mitgliederversammlung wählt Herrn Prof. Dr. med. Gustavo Baretton erneut zum DGP-Vorsitzenden.

Herr Baretton betritt wieder den Raum und nimmt auf Nachfrage von Herrn Röcken die Wahl an. Die Mitgliederversammlung drückt ihre Zustimmung durch Applaus aus. Herr Baretton bedankt sich für das Vertrauen in seine Amtsführung, übernimmt erneut die Sitzungsleitung von Herrn Röcken und fragt, ob die neugewählten Vorstandsmitglieder die Wahl annehmen wollen. Frau Wickenhauser, Frau Köhler und Herr Ströbel erklären, dass sie ihre Wahl jeweils mit Freude annehmen.

8. Information über das Hauptthema und den Tagungsort 2024

Der Vorsitzende kündigt an, dass die DGP-Jahrestagung 2024 im SCC München-Garching stattfinden werde. Unter dem Motto „Next Generation Pathology“ liege der Schwerpunkt auf den Themen Molekularpathologie, Computational Pathology Vergleichende Pathologie und Personalisierte Krebsmedizin. Auch die Digitale Pathologie werde wieder eine wichtige Rolle einnehmen. Tagungspräsident sei Herr Prof. Weichert, der von seinem Team am Institut der TU München unterstützt werde.

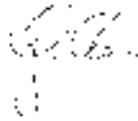
Der Tagungsort habe sich bereits beim letzten Herbsttreffen der AG Molekularpathologie bewährt und biete allen Teilnehmerinnen und Teilnehmern ein großzügiges Ambiente. Zudem sei der Tagungsort mit einer eigenen U-Bahnstation sehr gut von der Innenstadt aus angebunden und verfüge über mehrere Hotels in Laufweite zum SCC.

9. Verschiedenes

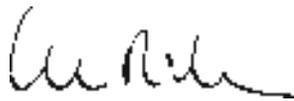
Keine Befassung.

Der Vorsitzende schließt die Mitgliederversammlung um 19.10 Uhr und dankt den Anwesenden für ihre aktive Teilnahme und die gute Diskussion.

Dresden/Kiel, den 9. November 2023



Prof. Dr. med. G. Baretton
Vorsitzender



Prof. Dr. med. C. Röcken
stellvertretender Vorsitzender



Geschäftsordnung

für den Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V.

Präambel

Auf der Grundlage von § 6 Ziffer 4 der Satzung gibt sich der Vorstand eine Geschäftsordnung. In Ausführung dieser Satzungsbestimmung gibt sich der Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. die folgende Geschäftsordnung:

I. Organisation

1. Die Vorstandsmitglieder sind verpflichtet, auf der Geschäftsstelle die Privatadresse, eine aktive Telefonverbindung und eine E-Mail-Adresse zu hinterlegen.
2. Der Vorstand hat das Recht, Kommissionen und AG's zu bilden, deren Aufgaben festzulegen und sie zu beenden.
3. Die Ausführung der Vorstandsbeschlüsse wird durch die zuständigen Vorstandsmitglieder veranlasst und überwacht. Im Falle einer fehlenden Zuständigkeit eines Vorstandsmitglieds obliegt dies dem Vorsitzenden.

II. Vorstandssitzungen

1. Vorstandssitzungen finden mindestens zweimal jährlich und im Bedarfsfall statt, wobei die Einladung zu einer Vorstandssitzung durch E-Mail-Schreiben erfolgt. Bei Eilbedürftigkeit (Gefahr in Verzug) oder auf Antrag von 3 Vorstandsmitgliedern kann zeitnah zu einer Vorstandssitzung eingeladen werden.
2. Der/die Vorsitzende – im Verhinderungsfall dessen Stellvertreter/in oder ein von ihm benannter Vertreter/in – leitet die Vorstandssitzung.
3. Ein Vorstandsmitglied, i. d. R. das geschäftsführende Vorstandsmitglied, führt das Protokoll der Vorstandssit-

zung und leitet dieses nach Erstellung dem Vorsitzenden zur Unterschrift zu. Maßgeblich ist das Originalprotokoll. Das Originalprotokoll wird in der Geschäftsstelle aufbewahrt; die Vorstandsmitglieder erhalten eine Protokollabschrift per E-Mail oder als Briefkopie rechtzeitig vor der nächsten Vorstandssitzung. Falls kein Einspruch erfolgt, wird das Protokoll bei der folgenden Vorstandssitzung verabschiedet.

4. Der/die Vorsitzende oder ein von ihm Beauftragter führt in den jeweiligen Tagesordnungspunkt ein. Nach der Einführung in den Tagesordnungspunkt findet eine Aussprache statt. Hierbei erteilt der/die Vorsitzende das Rederecht, sowie – im Bedarfsfall – eine Redezeitbegrenzung. Nach Abschluss der Aussprache findet, falls erforderlich, eine Beschlussfassung gemäß Abschnitt III dieser Geschäftsordnung statt.
5. Jedes Vorstandsmitglied ist berechtigt, schriftlich oder per E-Mail-Schreiben Anträge zur Tagesordnung einer Vorstandssitzung zu stellen. Die Antragsfrist beträgt 7 Tage vor der Vorstandssitzung. Anträge zur Tagesordnung sind zu begründen. Ein wirksam gestellter Antrag zur Tagesordnung wird berücksichtigt.
6. Der/die Vorsitzende entscheidet über den Zeitrahmen der Vorstandssitzung, ihre Unterbrechung oder Vertagung der Vorstandssitzung bzw. die Vertagung einzelner Tagesordnungspunkte.

III. Beschlussfassung

1. Der Vorstand beschließt in allen ihm satzungsgemäß obliegenden Fragen sowie allen Angelegenheiten, die die

Geschäftsordnung

Geschäftsordnung oder die Vertretung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. mit sich bringen.

2. Der Vorstand soll nach Möglichkeit die Beschlüsse einstimmig fassen. Ergibt sich in der Vorstandssitzung bei einer zur Beschlussfassung anstehenden Angelegenheit kein Einvernehmen, so bestimmt der Vorsitzende, ob förmlich über den Beschlussvorschlag abgestimmt oder die Beschlussfassung ausgesetzt werden soll. Bei einer Aussetzung ist der Tagesordnungspunkt in der nächsten Vorstandssitzung erneut zu verhandeln. Beschlüsse, die nicht einstimmig gefasst werden, sind im Protokoll mit dem jeweiligen Abstimmungsverhältnis kenntlich zu machen. Auf Antrag eines Vorstandsmitglieds ist dessen Abstimmungsverhalten namentlich zu protokollieren.
3. Abstimmungen werden in beschlussfähigen Vorstandssitzungen der DGP und/oder der Rudolf-Virchow-Stiftung mit einfacher Stimmenmehrheit gefasst. Bei Stimmengleichheit gibt die Stimme des Vorsitzenden den Ausschlag. Alternativ können Beschlüsse bei besonderer Eilbedürftigkeit auch im elektronischen Umlaufverfahren gefasst werden. Die auf diesem Weg zustanden gekommenen Beschlüsse sind von der Geschäftsstelle in geeigneter Weise zu dokumentieren und zu archivieren.

IV. Ressort

1. Der Vorstand führt die Geschäfte der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. gesamtverantwortlich und loyal nach einheitlichen Zielsetzungen, Plänen und Richtlinien. Unbeschadet der Gesamtverantwortung des Vorstandes handelt jedes Vorstandsmitglied in einem ihm zugewiesenen Ressort eigenverantwortlich, ist aber verpflichtet, stets dem Gesamtwohl des Verbandes den Vorzug zu geben.
2. Der Vorstand ist berechtigt, durch Vorstandsbeschluss innerhalb des Vorstandes einen Geschäftsverteilungsplan zu fassen, der dem Gesamtvorstand vorzulegen ist.
3. Bestehen zwischen einzelnen Vorstandsmitgliedern bei der Ressort-

bildung im Geschäftsverteilungsplan Meinungsverschiedenheiten über die Ressortabteilung, so entscheidet der Vorsitzende.

4. Unbeschadet der Ressortzuständigkeit werden alle Vorstandsmitglieder, die für den Geschäftsverlauf des Verbandes entscheidende Vorfälle laufend verfolgen, um jederzeit auf die Abwendung drohender Nachteile, auf Verbesserungen oder zweckmäßige Änderungen durch Anrufung des Vorstandes, Unterrichtung des Vorsitzenden oder sonst auf geeignete Weise hinwirken zu können.
5. Der/die Vorsitzende vertritt die Gesellschaft nach außen und gegenüber anderen Verbänden. Der Kongresspräsident bestimmt Programm und Referenten der Jahrestagung. Das geschäftsführende Vorstandsmitglied ist für die Mitgliederkartei und den Beitragseinzug sowie den Finanzhaushalt verantwortlich.
6. Weitere Aufgaben, die verantwortlich an eines der Vorstandsmitglieder vergeben werden können, sind Weiterbildung, Qualitätssicherung, Leitlinienvorhaben, Interaktionen mit der IAP, Fortbildungen, Gebührenordnungsfragen mit dem BV. Die Aufgabenfelder sind den aktuellen Erfordernissen anzupassen.
7. Die Kosten- und Aufwandsentschädigungen für Mitglieder des Vorstandes werden nur gewährt werden können, wenn sich die Höhe der Auslagen in einem angemessenen Rahmen bewegt und die finanziellen Möglichkeiten der DGP nicht wesentlich beeinträchtigt. Darüber entscheiden der Vorsitzende und der stellvertretende Vorsitzende jährlich neu.

Berlin, 27. Mai 2016

Preisverleihungen 2023



Rudolf-Virchow-Preis 2023

Dr. med. Sebastian Försch

Universitätsmedizin Mainz, Institut für Pathologie, Mainz

Multistain deep learning for prediction of prognosis and therapy response in colorectal cancer

Forschungspreis der DGP 2023

PD Dr. med. Felix Bremmer

Universitätsmedizin Göttingen, Institut für Pathologie, Göttingen

Germ cell tumour-related somatic-type malignancies: Characterizing the mutational burden, DNA methylation landscape and proteome to identify the tissue-of-origin, mechanisms of therapy resistance and druggable targets

Promotionspreis der DGP 2023

Dr. med. Franziska Kellers

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Institut für Pathologie, Kiel

Tumor-Immune-Interaction and Senescence-associated Molecules in Colorectal Carcinoma

Posterpreise der DGP 2023

Dr. Andre Oszwald

Medizinische Universität Wien, Klinisches Institut für Pathologie, Wien (Österreich)

Digital Spatial Profiling: Pre-analytical effect of EDTA and target sequence annotation

Dr. Balint Andras Barta

Universitätsklinikum Freiburg, Institut für Pathologie, Freiburg

Lasso-based feature selection identifies active relaxation as the most informative left ventricular parameter for proteomic perturbations during myocardial remodeling and reverse-remodeling

Clara Van Wymersch

Universitätsklinikum Freiburg, Institut für Pathologie, Freiburg

The ETS transcription factor ELF3 regulates the matrisome of invasive bladder carcinoma via SERPINB2

Aylin Hansen

Universitätsklinikum Bonn, Institut für Pathologie, Bonn

BRD9 inhibition as potential treatment option for testicular germ cell tumors

Förderpreise der 5. DGP-Nachwuchsakademie 2023

Dr. med. Julia Maier

Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Ulm

Boolean network modeling to elucidate the pathobiology of Richter Syndrome

Dr. med. Dr. rer. nat. Andreas Mock

Pathologisches Institut, Ludwig-Maximilians-Universität München

Identification of therapeutic targets in sinonasal undifferentiated carcinoma by FFPE-based single nucleus RNA-seq

Dr. med. Bianca Grosser

Institut für Pathologie und Molekulare Diagnostik, Universitätsklinikum Augsburg

Umfassende Charakterisierung von tumorassoziierten Makrophagen in Stroma AReactive Invasion Front (SARIFA) positiven Magenkarzinomen

Dr. med. Philip Bischoff

Institut für Pathologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin

Identifizierung neuer tumormikromilieu-basierter immunprädiktiver Biomarker im nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom

DEUTSCHE
GESELLSCHAFT FÜR
PATHOLOGIE E.V.
Seit 1897 – dem Leben verpflichtet



Trägerinnen und Träger des Rudolf-Virchow- Preises

2023 **Sebastian Försch**, Mainz
2022 **Maximilian Ackermann**,
Mainz/Wuppertal
2021 **Christian Schürch**, Tübingen
2020 **Thomas Grünewald**, Heidelberg
2019 **Daniela Hirsch**, Mannheim
2018 **Peter Boor**, Aachen
2017 **Sylvia Hartmann**, Frankfurt am
Main
2016 **Daniel Baumhoer**, Basel, Schweiz
2015 **Beate Straub**, Heidelberg
2014 **Thomas Longenrich**, Heidelberg
2013 **Peter Johannes Wild**, Zürich,
Schweiz
2012 **Irene Esposito**, München
2012 **David Horst**, München
2011 **Diego Francesco Calvisi**, Greifswald
2010 **Sven Perner**, Tübingen
2009 **Wilfried Roth**, Heidelberg
2007 **Martin Anlauf**, Kiel
2007 **Aurel Perren**, Zürich, Schweiz
2006 **Stefan Gattenlöhner**, Würzburg
2005 **Karl Sotlar**, Tübingen
2004 **Wolfram Jochum**, Zürich, Schweiz
2003 **Arndt Hartmann**, Regensburg
2002 **Axel Greiner**, Würzburg
2001 **Thomas Brabletz**, Erlangen
2000 **Frank Dombrowski**, Bonn
1999 **Iver Petersen**, Berlin
1998 **Martina Deckert-Schlüter**, Bonn
1997 **Guido Sauter**, Basel, Schweiz
1996 **Thomas Papadopoulos**, Würzburg
1995 **Paul Komminoth**, Zürich, Schweiz
1994 **Henrik Griesser**, Toronto, Kanada/
Kiel
1991 **Roland Moll**, Mainz
1989 **Herrmann-Josef Gröne**, Göttingen
1988 **Josef Müller-Höcker**, München
1987 **Mathias Vierbuchen**, Köln
1982 **Rüdiger Waldherr**, Heidelberg
1980 **Franz Borchard**, Düsseldorf
1980 **Ursus-Nikolaus Riede**, Freiburg

Träger der Rudolf- Virchow-Medaille der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V.

2023 **Thomas Kirchner**, München
2021 **Udo Löhrs**, München
2019 **Michael Mihatsch**, Basel, Schweiz
2017 **Ferdinand Hofstädter**, Regensburg
2015 **Manfred Dietel**, Berlin
2013 **Paul Kleihues**, Zürich, Schweiz
2011 **Hans-Konrad Müller-Hermelink**,
Würzburg
2009 **Philipp U. Heitz**, Zürich, Schweiz
2007 **Gottfried Geiler**, Leipzig †
2005 **Dieter Harms**, Kiel
2003 **Robert Fischer**, Köln †
2001 **Roland Bässler**, Fulda
1999 **Ekkehard Grundmann**, Münster
1997 **Gerhard Seifert**, Hamburg †
1995 **Karl Lennert**, Kiel †
1993 **Wolfgang Oehmichen**,
Mönchengladbach †
1991 **Hans-Werner Altmann**, Würzburg †
1989 **Christoph Hedinger**, Zürich,
Schweiz †
1987 **Wilhelm Doerr**, Heidelberg †
1985 **Walter Büngeler**, München †
1983 **Walter Müller**, Essen †
1981 **Franz Büchner**, Freiburg †

Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie

Ehrenmitglieder der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e. V.

Sir C. Berry

London (Großbritannien)

G. Dallenbach-Hellweg

Heidelberg

G. Dhom †

Homburg/Saar

J. Diebold

Paris (Frankreich)

F. M. Enzinger

Washington (USA)

J. H. Holzner †

Wien (Österreich)

P. Isaacson

London (Großbritannien)

A. Llombart-Bosch

Valencia (Spanien)

H. Moch

Zürich (Schweiz)

W. Oehmichen †

Mönchengladbach

W. Schlake

Gelsenkirchen

P. Schirmacher

Heidelberg

G. Seifert †

Hamburg

M. Stolte

Bayreuth

A. Tennstedt

Mühlhausen

J. R. Warren

Perth (Australien)

H. H. Wegener

Berlin

Korrespondierende Mitglieder der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e. V.

M. Brinkhous

Chapel Hill (USA)

G. Bussolati

Turin (Italien)

A. Cardesa

Barcelona (Spanien)

T. M. Grogan

Arizona (USA)

T. Hattorin

Otsu (Japan)

R. Machinami

Tokyo (Japan)

O. Midorikawa

Kyoto (Japan)

A. B. Price

Harrow (Großbritannien)

H. Rotterdam

New York (USA)

E. Tahara

Hiroshima (Japan)

J. Han J.M. van Krieken

Nijmegen (Niederlande)

Z. Wu

Wuhan (Hubei, China)



Geschäftsstelle der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e. V.

Jörg Maas (V. i. S. d. P.)

Generalsekretär der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e. V. (DGP)

Robert-Koch-Platz 9, 10115 Berlin

Tel. 030-25 760-728 · Fax 030-25 760-729

E-Mail: geschaeftsstelle@pathologie-dgp.de

www.pathologie-dgp.de

Vorsitzende der Arbeitsgemeinschaften der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e. V.

AG Dermatopathologie

E. Bierhoff, Bonn

D. Metze, Münster

AG Gastroenteropathologie

J. Neumann, München

A. Quaas, Köln

AG Geschichte und Ethik der Pathologie

T. Braunschweig, Aachen

K. Schierle, Heilbronn

AG Gynäkopathologie und Mammopathologie

R. Erber, Erlangen

E.-C. Burandt, Hamburg

AG Hämatopathologie

G. Ott, Stuttgart

AG Herz-, Gefäß-, Nieren- und Transplantationspathologie

J. H. Bräsen, Hannover

J. Wohlschläger, Flensburg

AG Informatik, innovative Bildgebung und Biobanking

N. Zerbe, Berlin

P. Boor, Aachen

AG Kinder- und Fetalpathologie

E. Gradhand, Frankfurt/Main

T. Hager, Flensburg

AG Knochen-, Gelenk- und Weichgewebspathologie

T. Barth, Ulm

B. Märkl, Augsburg

AG Kopf-/Halspathologie

N. Rupp, Zürich (Schweiz)

S. Perner, Hamburg

AG Molekularpathologie

U. Siebolts, Köln

N. Pfarr, München

J. Sperveslage, Münster

AG Thoraxpathologie

K. Steinestel, Ulm

C. Kümpers, Lübeck

AG Uropathologie

H. Reis, Frankfurt/Main

F. Bremmer, Göttingen

AG Zytopathologie

D. Schmidt, Trier

Ordinarienkonvent

P. Schirmacher, Heidelberg

Stand: 18.10.2023

Wissenschaftliches Komitee der 106. Jahrestagung der DGP 2023 in Leipzig

K. Amann (Erlangen)	G. Köhler (Fulda)
I. Anagnostopoulos (Würzburg)	R. Langer (Linz, Österreich)
D. Aust (Dresden)	S. Laßmann (Freiburg)
H. A. Baba (Essen)	A. Lebeau (Lübeck/Hamburg)
G. Baretton (Dresden)	T. Longerich (Heidelberg)
T. Barth (Ulm)	A. Lugli (Bern, Schweiz)
D. Baumhoer (Basel, Schweiz)	M. Matter (Basel, Schweiz)
S. Berezowska (Lausanne, Schweiz)	D. Mayr (München)
E. Bierhoff (Bonn)	G. Mechtersheimer (Heidelberg)
H. Bläker (Leipzig)	S. Merkelbach-Bruse (Köln)
R. Bohle (Homburg/Saar)	D. Metze (Münster)
I. Bonzheim (Tübingen)	H. Moch (Zürich, Schweiz)
P. Boor (Aachen)	B. Märkl (Augsburg)
F. Bremmer (Göttingen)	A. Müller (Köln)
J. H. Bräsen (Hannover)	J. Neumann (München)
L. Bubendorf (Basel, Schweiz)	S. Oschlies (Kiel)
E. Burandt (Hamburg)	G. Ott (Stuttgart)
H. Bösmüller (Tübingen)	S. Perner (Hamburg)
E. Dahl (Aachen)	A. Perren (Bern, Schweiz)
C. Denkert (Marburg)	N. Pfarr (München)
S. Dirnhofer (Basel, Schweiz)	A. Quaas (Köln)
U. Drebber (Köln)	L. Quintanilla-Fend (Tübingen)
R. Erber (Erlangen)	H. Reis (Frankfurt am Main)
I. Esposito (Düsseldorf)	S. Ribback (Greifswald)
J. Fassunke (Köln)	A. Rosenwald (Würzburg)
F. Fend (Tübingen)	W. Roth (Mainz)
L. Fink (Wetzlar)	N. Rupp (Zürich, Schweiz)
A. Fisseler-Eckhoff (Wiesbaden)	C. Röcken (Kiel)
S. Försch (Mainz)	T. Rüdiger (Karlsruhe)
N. Gaisa (Ulm)	A. Scheel (Köln)
S. Gattenlöhner (Gießen)	P. Schirmacher (Heidelberg)
S. Glombitza (Hannover)	D. Schmidt (Trier)
E. Gradhand (Frankfurt am Main)	C. Schürch (Tübingen)
I. Grünwald (Münster)	U. Siebolts (Köln)
T. Grünwald (Heidelberg)	S. Singer (Tübingen)
T. Hager (Flensburg)	A. Stäbler (Tübingen)
F. Haller (Erlangen)	K. Steinestel (Ulm)
A. Hartmann (Erlangen)	B. Straub (Mainz)
S. Hartmann (Frankfurt am Main)	P. Ströbel (Göttingen)
W. Hartmann (Münster)	A. Tannapfel (Bochum)
H. Herbst (Berlin)	V. Tischler (Bonn)
L. Horn (Leipzig)	M. Toma (Bonn)
D. Horst (Berlin)	M. Trautmann (Münster)
S. Ihrler (München)	A. Tzankov (Basel, Schweiz)
D. Jonigk (Hannover)	Z. Varga (Zürich, Schweiz)
K. Junker (Bremen)	M. Vieth (Bayreuth)
G. Kayser (Freiburg)	E. Wardelmann (Münster)
W. Klapper (Kiel)	M. Werner (Freiburg)
F. Klauschen (München)	C. Wickenhauser (Halle/Saale)
B. Konkwietz (München)	P. Wild (Frankfurt am Main)
H. Kreipe (Hannover)	J. Wohlschläger (Flensburg)
G. Kristiansen (Bonn)	F. Zakrzewski (Dresden)
H. M. Kvasnicka (Wuppertal)	N. Zerbe (Berlin)

Posterpreis-Jury 2023

Vorsitzender: D. Horst (Berlin)
 I. Bonzheim (Tübingen)
 D. Hirsch (Mannheim)
 P. Jurmeister (München)
 B. Märkl (Augsburg)
 R. Langer (Linz, Österreich)
 V. Tischler (Bonn)

Promotionspreis-Jury 2023

Vorsitzender: P. Ströbel (Göttingen)
 N. Gaisa (Ulm)
 W. Klapper (Kiel)
 C. Kümpers (Lübeck)
 T. Rau (Düsseldorf)
 S. Rössler (Heidelberg)

Rudolf-Virchow-Preis-Jury 2023

Vorsitzende: E. Wardelmann (Münster)
 L. Bubendorf (Basel, Schweiz)
 S. Perner (Hamburg)
 C. Wickenhauser (Halle/Saale)
 Ausgesetzt wegen Befangenheit: W. Roth (Mainz)

Vorankündigung: 107. Jahrestagung der DGP 2024



23. bis 25. Mai 2024, München

Themenschwerpunkte:

- Molekulare Pathologie
- Personalisierte Medizin
- Computational Pathology
- Vergleichende Pathologie
- Aus- und Weiterbildung
- Gemeinsame Sitzungen mit anderen Fachgesellschaften
- AG-Sitzungen zu allen Teilbereichen der Pathologie

Wissenschaftliche Leitung/Tagungsteam

Prof. Dr. med. Carolin Mogler
 PD Dr. med. vet. Katja Steiger
 Dipl.-Biol. Nicole Pfarr
 PD Dr. med. Dr. nat. med. habil. Kristina Schwamborn
 Dr. rer. nat. Karin von Schwarzenberg
 Prof. Dr. med. Peter Schöffler
 Technische Universität München
 Institut für Pathologie, Trogerstr. 18, 81675 München

Forschungspreis-Jury 2023

Vorsitzender: H. Kreipe (Hannover)
 H. Bläker (Leipzig)
 C. Brochhausen-Delius (Mannheim)
 I. Esposito (Düsseldorf)
 R. Erber (Erlangen)
 A. Perren (Bern, CH)
 N. Pfarr (München)
 M. Werner (Freiburg)

Autor*innenverzeichnis

A

Ahadova, A.S188

B

Baltisser, I.S263
Barth, T.S250
Berezowska, S.S222
Bernhards, J.S267
Bierhoff, E.S232
Bisig, B.S128
Bläker, H.S188
Bonzheim, I.S150
Bräsen, J.S244
Braunschweig, T.S237
Bremmer, F.S109, S260
Burandt, E.S239

C

Campo, E.S121
Cathomas, C.S222
Claus, R.S155
Coupland, S.S150

D

De Leval, L.S128
Dettmeyer, R.S198
Dietel, M.S277
Dintner, S.S155

E

Enderle, M.S183
Erber, R.S239

F

Fahrner, M.S176
Fend, F.S100, S144
Försch, S.S104

Frei, A.S225
Friemann, J.S271

G

Gekeler, F.S150
Gradhand, E.S248
Grobholz, R.S222, S225
Gross, U.S269

H

Hager, T.S248
Hansmann, M.S140
Hauptmann, K.S265
Haybäck, J.S229
Heemann, U.S193
Henkel, M.S222
Herrmanns, S.S183
Hirschbühl, K.S155
Horst, D.S102, S265
Hüneburg, R.S188

J

Janowczyk, A.S225
Jesinghaus, M.S104
Jeske, S.S193
Jochum, W.S222

K

Kellers, F.S113
Kloor, M.S188
Koelzer, V.S222
Kreutzfeldt, M.S222
Kümpers, C.S256

L

Lahmer, T.S193
Langer, A.S155

Leinauer, B.S215
Lopez-Beltran, A.S204
Lutteri, G.S215

M

Märkl, B.S250
Mellert, K.S215
Menter, T.S160
Mertz, K.S222
Mihatsch, M.S273, S275
Mogler, C.S277
Möller, P.S215
Montes Moreno, S.S136
Müller, S.S279

N

Nann, D.S144
Neumann, J.S235

O

Ott, G.S242

P

Pfarr, N.S254
Porubsky, S.S193
Protzer, U.S193

Q

Quaas, A.S235
Qerimi, A.S229
Quintanilla-Martinez, L.S144, S160

R

Rasch, S.S193
Reis, H.S260
Rössle, M.S222
Rupp, N.S252

Aufgeführt sind alle Autor*innen der Beiträge, die korrespondierenden Autor*innen sind **fett** markiert.

S

Saft, L.	S164
Salaverria, I.	S150
Salmerón-Villalobos, J.	S150
Schatz, C.	S229
Schierle, K.	S237
Schilling, O.	S176
Schirmacher, P.	S277
Schmid, C.	S155
Schmid, R.	S193
Schmidt, D.	S263
Schmutz, M.	S155
Schneider, E.	S220
Schulz, S.	S104
Schustetter, C.	S193
Seppälä, T.	S188

Siebolts, U.	S254
Slotta-Huspenina, J.	S193
Soldini, D.	S222
Sommer, S.	S155
Spitzer, M.	S155
Steinestel, K.	S256
Stenzinger, A.	S188
Stock, K.	S193
Süsskind, D.	S150
Szurman, P.	S155

T

Trepel, M.	S155
Tschavoll, F.	S215

U

Ulrich, R.	S208
-----------------	------

W

Weichert, W.	S193
Weirich, G.	S193
Werner, T.	S176
Wohlschläger, J.	S244

Z

Zeller, B.	S97
Zerbe, N.	S246
Zlobec, I.	S97

Verlag: Springer Medizin Verlag GmbH, Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin (Betriebsstätte Heidelberg: Springer Medizin Verlag GmbH, Tiergartenstraße 17, 69121 Heidelberg; Tel. +49 6221/487-0), www.springermedizin.de
Geschäftsführung: Fabian Kaufmann, Dr. Cécile Mack, Dr. Hendrik Pügge
Director Journals & e Publishing: Dr. Paul Herrmann (V.i.S.d.P.)
Head of Journals & ePublishing 1: Dr. Stefanie Schumacher-Schmidt
Director Editorial Processes: Dr. Frank Sommerauer
Head of Educational Publishing: Martina Siedler
Managing Editor „Die Pathologie“: Gabriele Staab, Tel. -8225, gabriele.staab@springer.com
Project Coordinator: Petra Meyer-vom Hagen, Tel. -8239, Fax -68239, Petra.Meyer-vomHagen@springernature.com
Gesamtleitung Corporate Publishing: Ulrike Hafner (Adressdaten jeweils wie Betriebsstätte Heidelberg)
Anzeigen: Jens Dessin (Leitung Sales & Advertising); Silvia Ziemann (Anzeigenleitung, verantwortlich), silvia.ziemann@springer.com, Springer Medizin Verlag GmbH, Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin, Tel. +49 30/82787-5713, www.mediatdaten.springermedizin.de
Druck: Wilco B.V., Vanadiumweg 9, 3812 PX Amersfoort. Printed in the Netherlands
Erscheinungsweise: zweimonatlich
Papierausgabe: ISSN 2731-7188, gedruckt auf säurefreiem Papier.
Elektr. Ausgabe: ISSN 2731-7196
 Die elektronische Version finden Sie unter www.springermedizin.de/die-pathologie. Hinsichtlich der aktuellen Version eines Beitrags prüfen Sie bitte immer die Online-Version der Publikation.
Eigentümer & Copyright: © Springer Medizin Verlag GmbH, ein Teil von Springer Nature 2023
 Die Zeitschrift sowie alle in ihr enthaltenen einzelnen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsgesetz zugelassen ist, bedarf der vorherigen schriftlichen Zustimmung des Verlags. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.
 Für die in dieser Zeitschrift als Sonderteil enthaltenen Mitteilungen der IAP, DGP, ÖGPath/IAP Austria, SGPath/SSPath und des BDP sind die Springer-Verlag GmbH und die oben angegebenen Personen nicht verantwortlich. Die diesbezüglichen Verantwortlichkeiten ergeben sich aus dem gesonderten Impressum in den Mitteilungen der IAP, DGP, ÖGPath/IAP Austria, SGPath/SSPath und des BDP.
Bezugspreise: Preis für ein Individualabonnement inkl. Online-Basis-Lizenz 2023: (6 Hefte) EUR 449,- (unverb. Preisempfehlung inkl. gesetzlicher MwSt.) zzgl. Versandkosten (Deutschland: EUR 30,-, Ausland: EUR 48,-). **Einzelheftpreis 2023:** EUR 77,- (unverb. Preisempfehlung inkl. gesetzlicher MwSt.) zzgl. Versandkosten.
Für Ärztinnen und Ärzte in Weiterbildung ermäßigt sich 2023 der Bezugspreis auf jährlich EUR 269,40 (unverb. Preisempfehlung inkl. gesetzlicher MwSt., Nachweis über Studium/Ausbildung erforderlich) zzgl. Versandkosten (Deutschland: EUR 30,-, Ausland: EUR 48,-).
Institutspreis inkl. Online-Basis-Lizenz 2023: (6 Hefte) EUR 1110,- (unverb. Preisempfehlung zzgl. gesetzlicher MwSt. und Versandkosten, Deutschland: EUR 30,-, Ausland: EUR 48,-).
 Der Bezugspreis ist im Voraus zu zahlen. Das Abonnement kann bis 30 Tage vor Ende des Bezugszeitraums gekündigt werden.

Kontakt

**Haben Sie Fragen, Anmerkungen, Lob oder Kritik?
 So erreichen Sie den Verlag:**

Fragen zum Abonnement / Adressänderungen / Online-Zugang
 Springer Nature Customer Service Center GmbH
 Tiergartenstraße 15, 69121 Heidelberg
 Tel.: +49 (0)6221/345-0, Fax: +49 (0)6221/345-4229,
 Montag bis Freitag, 9.00 Uhr bis 17.00 Uhr
 E-Mail: Leserservice@springernature.com

Wichtiger Hinweis: Zeitschriften werden nicht automatisch im Rahmen eines Nachsendeantrags berücksichtigt. Bitte informieren Sie unseren Kundenservice daher frühzeitig über Adressänderungen.

Redaktion Springer Medizin Verlag:

Gabriele Staab
 Springer Medizin Verlag GmbH,
 Tiergartenstraße 17, 69121 Heidelberg,
 Tel.: +49 (0)6221/487-8225,
 E-Mail: gabriele.staab@springer.com

Bestellungen oder Rückfragen nimmt jede Buchhandlung oder der Verlag entgegen.

Springer Customer Service Center GmbH, Tiergartenstraße 15, 69121 Heidelberg, Tel. +49 6221/345-0, Fax +496221/345-4229, Leserservice@springer.com (Mo.–Fr. 9.00 Uhr bis 17.00 Uhr)

Autorinnen und Autoren können unter bestimmten Voraussetzungen an der Ausschüttung der Bibliotheks- und Fotokopiertantiemen teilnehmen. Einzelheiten bei VG WORT, Abt. Wissenschaft, Goethestraße 49, 80336 München.

Angaben über Dosierungsanweisungen und Applikationsformen sind anhand anderer Literaturstellen oder der Packungsbeilage auf ihre Richtigkeit zu überprüfen. Der Verlag übernimmt keine Gewähr.

Gendgerechte Sprache: Der Verlag veröffentlicht die Beiträge in der von den Autorinnen und Autoren gewählten Genderform. Die Verwendung einer angemessenen gendgerechten Sprache, um Menschen in ihrer Vielfalt wertschätzend anzusprechen, wird begrüßt.

Indexed in Science Citation Index Expanded and Medline



