

CA 12-5, CA 15-3 und CEA - Expression und prognostische Bedeutung beim Ovarialkarzinom

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Anne Gerlinde Knauf
aus Schwalmstadt-Ziegenhain

Gießen 2001

CA 12-5, CA 15-3 und CEA - Expression und prognostische Bedeutung beim Ovarialkarzinom

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereiches Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Anne Gerlinde Knauf
aus Schwalmstadt-Ziegenhain

Gießen 2001

Aus dem Medizinischen Zentrum für Frauenheilkunde und Geburtshilfe
des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen

Leiter: Herr Prof. Dr. med. Wolfgang Künzel

1. Gutachter: Herr PD Dr. med. Karsten Münstedt

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. W. Schachenmayr

Tag der Disputation: 27.06.2002

Meinen Eltern Anna-Maria und Wilhelm Knauf,
die meine Ausbildung ermöglicht haben.

1	Einleitung	1
1.1	Karzinogenese	1
1.1.1	Strukturveränderungen bei malignen Zellen	2
1.2	Definition des Begriffes Tumormarker	3
1.2.1	Aufgaben eines Tumormarkers	4
1.2.2	Zur Geschichte der Tumormarker	4
1.3	Immunhistochemie	5
1.3.1	Verwendete Tumormarker	7
1.3.2	CA 12-5	7
1.3.3	CA 15-3	8
1.3.4	CEA	9
1.4	Epidemiologie und Ätiologie des Ovarialkarzinoms	10
1.4.1	Verschiedene histologische Differenzierungsformen des Ovarialkarzinoms	12
1.4.2	Klinik und Therapie des Ovarialkarzinoms	13
1.4.3	Vorsorge, Nachsorge und Prognose	14
2	Fragestellung	16
3	Patientinnen, Material und Methode	17
3.1	Das Gießener Ovarialkarzinom Kollektiv und klinische Prognosefaktoren	17
3.2	Histologie	21
3.3	Immunhistochemie	22
3.3.1	Verwendete Primärantikörper	23
3.3.2	Auswertung der Immunhistochemie nach dem ImmunReaktiven Score (IRS) (Remmele & Stegner, 1987)	23
3.4	CA 12-5-Serumwerte	25
3.5	Statistik	26
4	Ergebnisse	27
4.1	Klassische Prognosefaktoren	27
4.1.1	Postoperativer Resttumor	27
4.1.2	FIGO-Stadium	29
4.1.3	Aszites	31
4.1.4	Grading	33

4.1.5	Wachstumsmuster	35
4.1.6	Histologie	40
4.1.7	Nekrose	45
4.2	Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe	47
4.3	CA 12-5 - Serumwerte	53
4.4	Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe	55
4.5	Expression von CEA im Tumorgewebe	60
5	Diskussion	<i>Fehler! Textmarke nicht definiert.</i>
5.1	Die Prognosefaktoren in der Einzelbetrachtung	66
5.1.1	Klassische Prognosefaktoren	66
5.1.1.1	Postoperativer Resttumor	66
5.1.1.2	Tumorstadium nach FIGO	66
5.1.1.3	Aszites	67
5.1.1.4	Grading	67
5.1.1.5	Histologie	67
5.1.1.6	Wachstumsmuster und Nekrose	68
5.1.2	Tumormarker	69
5.1.2.1	Vergleich der CA 12-5-Serumwerte mit der Expression des Markers im Tumorgewebe	69
5.1.2.2	Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe	70
5.1.2.3	Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe	71
5.1.2.4	Expression von CEA im Tumorgewebe	73
6	APAAP-Technik	76
6.1	Chemikalien und Lösungsansätze	77
7	Literaturverzeichnis	78
8	Zusammenfassung	89

1 Einleitung

1.1 Karzinogenese

Krebs als genetische Erkrankung beruht letztendlich auf einer Anarchie der ansonsten exakt regulierten Entwicklung und Vermehrung von Zellen. Diese Anarchie ist das Resultat eines in mehreren Schritten verlaufenden Prozesses, bestehend aus Initiation, Promotion, Tumorprogression und Metastasierung.

- a) Initiation: Ein chemischer Stoff oder sein Metabolit setzt durch Wechselwirkung mit der zellulären DNS einen genetischen Schaden. Dieser kann, solange er noch nicht auf die Tochterzellen übertragen ist, durch entsprechende Reparaturenzyme behoben werden.
- b) Promotion: Der Genschaden wird durch eine Proliferation initiiertes Zellen in den Tochterzellen etabliert.
- c) Tumorprogression: Irreversibler Übergang von einer präneoplastischen zu einer neoplastischen Zelle, von der letztlich die Proliferation eines Zellklones ausgeht, der im weiteren Verlauf zu einem makroskopisch sichtbaren Tumorknoten heranwächst. Dieser verhält sich zunächst benigne, später maligne.
- d) Metastasierung: Mit zunehmender Progression verlieren die transformierten Zellen auf ihrer Oberfläche Differenzierungsantigene und damit ihren "Zusammengehörigkeitssinn". Sie lösen sich aus dem Zellverband und siedeln sich in anderen Geweben ab, wo sie zu Tochtergeschwülsten heranwachsen (nach Riede & Schäfer, 1999).

1.1.1 Strukturveränderungen bei malignen Zellen

Die Tumorzelle zeichnet sich im Vergleich zur ausdifferenzierten gesunden Zelle durch eine Vielfalt stoffwechselbedingter Besonderheiten aus, die sich insbesondere auch auf Strukturen der Zellmembran ausdehnt (siehe Abbildung 1.1).

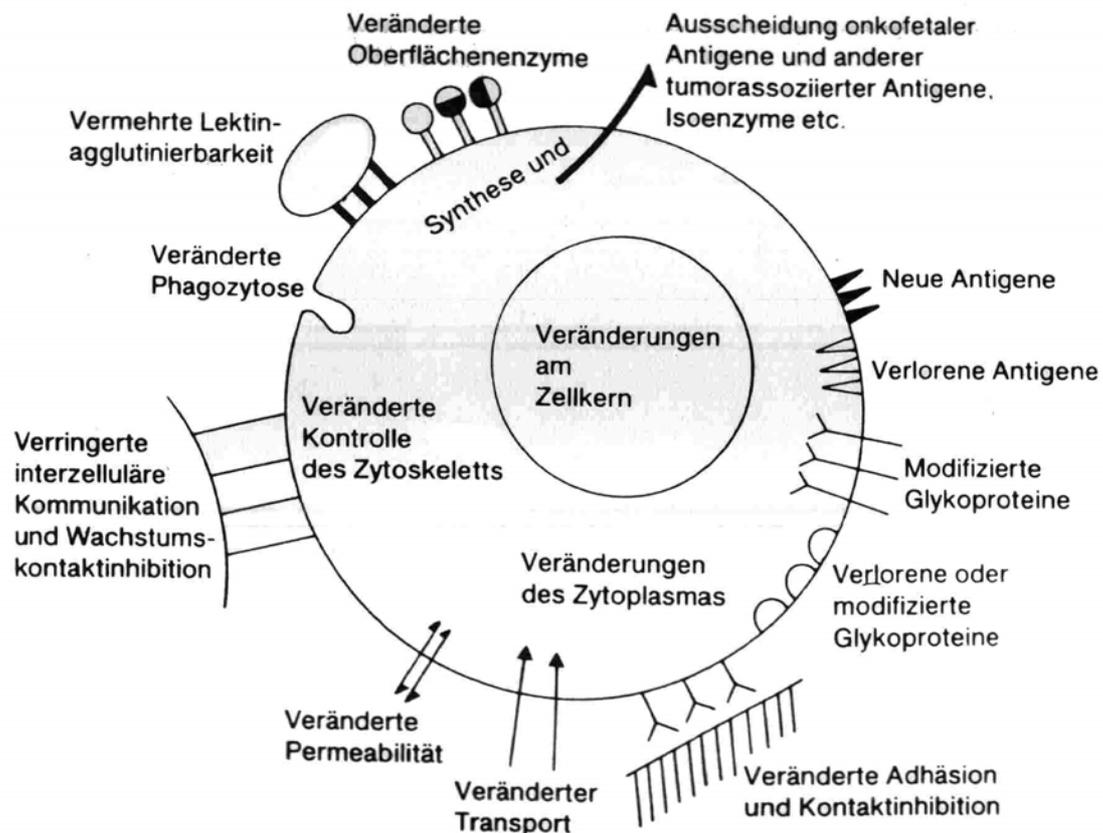


Abbildung 1.1: Phänotypische Merkmale von malignen Zellen

(Aus Gericke u. Drankowsky, 1987)

Das kommt u.a. in einem differenzierten Kohlenhydratgehalt der Glykoproteine und Glykolipide zum Ausdruck, aber auch die Proteinsynthese in der Zelle selbst weist durch Demaskierung fetaler Genstrukturen sowohl quantitative als auch qualitative Unterschiede zur Normalzelle auf (Donaldson et al., 1980; v.Dalen et al., 1984; Koch & Uhlenbruck 1983).

Diese morphologischen und funktionellen Unterschiede der Zelloberflächenstrukturen können unter anderem als Hilfsmittel in der Karzinomdiagnostik genutzt werden. Außerdem werden manche Substanzen, zumeist Glykoproteine, direkt von der Tumorzelle (CEA, Alpha-Fetoprotein, Isoferritin, Glykosyltransferasen, β -Kasein etc.) oder von Änderungen, die sich aus der Tumor-Wirt-Relation ergeben, hergeleitet (Veränderungen im Abwehrsystem des Tumorträgers) und können so nachgewiesen werden (Hünemann 1982; Halter et al., 1984).

1.2 Definition des Begriffes Tumormarker

Eine konkrete Definition des Begriffes Tumormarker ist nur insofern möglich, als es sich dabei um relevante diagnostizierbare Veränderungen der unterschiedlichsten biochemischen und immunologischen Parameter in den verschiedenen Körperflüssigkeiten handelt, wobei ein eindeutiger Zusammenhang mit malignem Zellwachstum bestehen sollte.

Das heißt, daß alle die Substanzen Tumormarker genannt werden, die in Testsystemen nachweisbar sind und die durch ihr vermehrtes Vorkommen die Existenz von Tumorzellen "verraten" . Hierbei handelt es sich um Substanzen, die von der Tumorzelle selbst produziert werden, deren Produktion durch das maligne Wachstum stimuliert wird ("tumor derived products") oder um Substanzen, die im Zuge fortschreitenden Tumorwachstums im Wirtsorganismus vermehrt auftreten ("tumor associated products") (Kleist, 1984a); (siehe Abbildung 1.2).

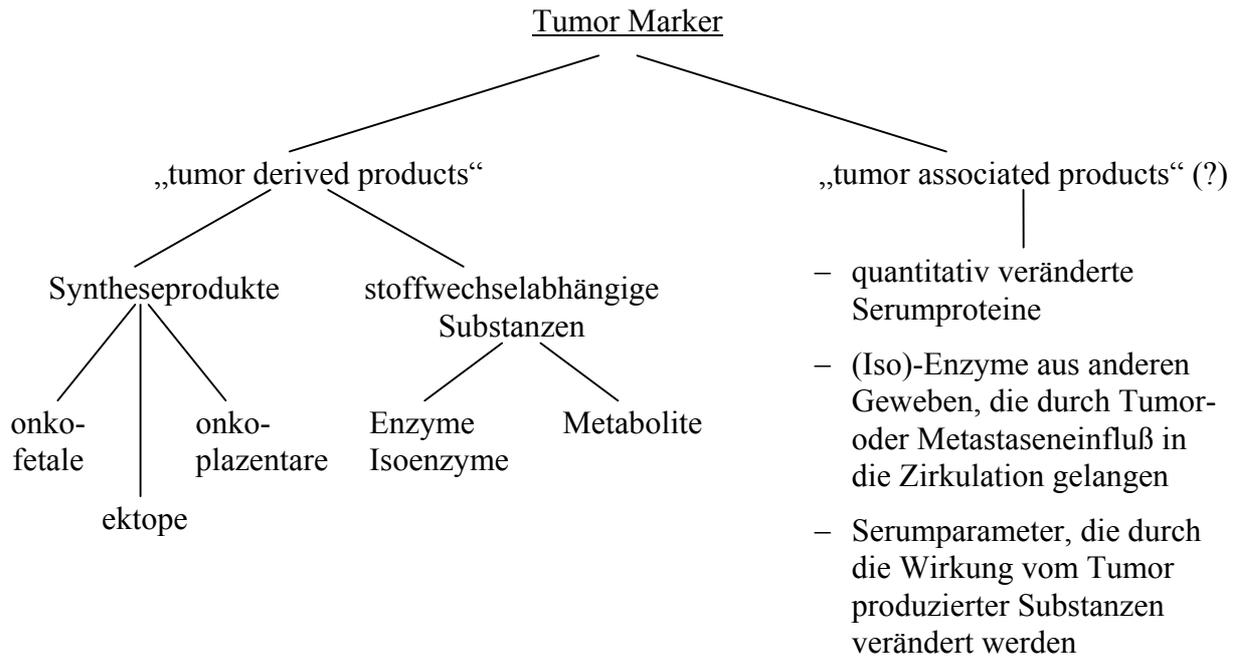


Abbildung 1.2: Substanzen mit Tumormarkereigenschaften

(Aus Gericke u. Drankowsky, 1987)

1.2.1 Aufgaben eines Tumormarkers

Ein idealer Tumormarker sollte folgende Aufgaben erfüllen können:

- Der Marker sollte tumorspezifisch sein und eine hohe Sensitivität besitzen, um eine Krebsfrühdagnostik, Screeninguntersuchung, Überwachung von Risikogruppen und eine Lokalisation des Tumors zu ermöglichen.
- Die Höhe bzw. die Titerbewegung der Markersubstanz sollte Rückschlüsse auf die Prognose der Erkrankung gestatten.
- Der Marker sollte direkt mit der Tumormasse korrelieren und damit für die Metastasen- bzw. Rezidivsuche nutzbar sein.

1.2.2 Zur Geschichte der Tumormarker

Das Bemühen, Laborparameter zur Erkennung malignen Wachstums einzusetzen, ist kein Ergebnis der letzten Jahre, sondern reicht zurück in das neunzehnte Jahrhundert. So stellte bereits Bence-Jones vor fast 150 Jahren im Urin von Patienten mit einem Plasmozytom Präzipitate fest, die sich später als Leichtketten von Immunglobulinen herausstellten. Brown, Zondek und Cushing haben in den

Jahren 1928-1932 erkannt, daß ektope Hormone bei bestimmten Malignomen erhöhte Werte aufweisen. Hier zeigte sich bereits, daß solche Marker tumorbezogen nachweisbar sind. In den folgenden Jahren wurden verschiedene Enzyme und Isoenzyme bei unterschiedlichen Organmanifestationen untersucht (Fuji et al., 1985; Schlegel et al., 1981; Russel, 1977). In den 60er Jahren gelang der Nachweis von onkofetalen Antigenen, speziell des Alpha-Fetoproteins beim Leberzellkarzinom und des CEA bei kolorektalen Karzinomen. Erst durch die Entwicklung der Technologie zur Herstellung monoklonaler Antikörper gegen Tumorantigene durch Köhler und Milstein schien sich 1975 ein Durchbruch in der Tumordiagnostik anzubahnen.

1.3 Immunhistochemie

Das Grundprinzip der Immunhistochemie beruht auf dem Einsatz von Antikörpern zur Markierung von korrespondierenden Antigenen im Gewebe. Die Antigenbindungsstelle kann durch Enzym-Kopplung mit fargebender Reaktion (z.B. von Neufuchsin) sichtbar gemacht werden.

Eines der bewährtesten Verfahren ist auch die im Rahmen dieser Untersuchung verwendete „APAAP-Methode“ (alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase), deren Prinzip sich nicht von der „PAP-Methode“ (Peroxidase-Antiperoxidase) (Cordell et al., 1984) unterscheidet, jedoch eine höhere Spezifität als die PAP-Methode besitzt, da endogene Peroxidasen in verschiedenen Geweben nur schwer blockierbar sind.

Bei der APAAP-Methode wird an den Primärantikörper (Maus, monoklonal) über einen polyklonalen Brückenantikörper (z.B. Kaninchen) ein monoklonaler Anti-Alkalische-Phosphatase-Antikörper gebunden. Hieran bindet sich die alkalische Phosphatase und es entsteht der sogenannte „APAAP-Komplex“. Die alkalische Phosphatase setzt schließlich Neufuchsin in einen intensiv roten Farbstoff um, der vom menschlichen Auge leicht erkannt wird.

Eine Verstärkung der Reaktion ist durch mehrfache Bindung weiterer, mit alkalischer Phosphatase konjugierter Antikörper über den Brückenantikörper möglich. Zur APAAP-Technik siehe Anhang 6 und Abbildung 1.3.

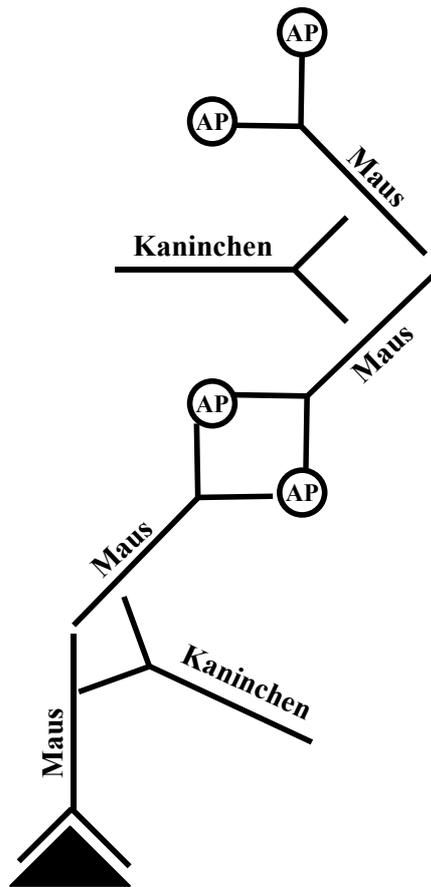


Abbildung 1.3: Enzymkomplexmethode

Das Prinzip der Methode unterscheidet sich nicht von der PAP - Methode (nach Cordell et al., 1984).

Enzymkomplexmethode: An den Primärantikörper wird über einen Brückenantikörper ein monoklonaler Anti-Alkalische-Phosphatase-Antikörper gebunden. Hieran bindet sich die alkalische Phosphatase (APAAP-Komplex). Verstärkung durch mehrfache Bindung weiterer, mit alkalischer Phosphatase konjugierter Antikörper über den Brückenantikörper (Kaninchen).

1.3.1 Verwendete Tumormarker

Es existieren heutzutage viele Untersuchungen zum Nachweis von Tumormarkern im Serum. Da im folgenden ihre Expression in Tumorgeweben direkt untersucht und mit Serumwerten verglichen werden soll, werden die verwendeten Antigengruppen kurz vorgestellt. Die sind:

- CA 12-5 (OC 125),
- CA 15-3 (PEM 835, Polymorphic Epithelial Mucin) und
- CEA (BW 431).

1.3.2 CA 12-5

CA 12-5 ist ein hochmolekulares, hitzelabiles Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 200 000 bis 300 000 Dalton (Bast et al., 1981, 1983). CA 12-5 wird von der Zelloberfläche ins Blut abgegeben. Sein dortiger Nachweis wird zur klinischen Verlaufsbeobachtung bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom genutzt, da sich der CA12-5-Serumspiegel proportional zur Tumormasse verhält (Welander, 1992), wobei die Konzentrationsänderung dem klinischen Verlauf in etlichen Fällen um 1-8 Monate vorausgeht.

Auslöser für die Expression von CA 12-5 ist eine hohe Laktat-Konzentration, wobei dieser Vorgang dem Schutz der Zellen vor schädigenden Wasserstoff-Ionen dienen soll (Bramwell et al., 1983).

Obwohl das Antigen nicht von allen Zellen eines Tumors exprimiert wird, besitzen in den meisten Fällen auch die CA 12-5 negativen Zellen die Fähigkeit zur Markerexpression (Berchuck et al., 1990).

CA 12-5 ist jedoch kein tumorspezifisches Antigen. Erhöhte Serumspiegel können auch im Rahmen der Schwangerschaft, der Menstruation, bei Endometriose, Infektionen im kleinen Becken und gutartigen Tumoren auftreten (Jacobs & Bast, 1989).

Auch nicht ovarielle maligne Tumoren können eine Markererhöhung bewirken; so hat z.B. die Kombination von CA 12-5 und CA 19-9 im Serum eine Sensitivität von etwa 97% für das Pankreaskarzinom (Haga et al., 1986) .

CA 12-5 bzw. Antikörper gegen das CA 12-5-Epitop sind beim Ovarialkarzinom vielfältig verwendbar:

- Zum Screening (Jacobs & Bast, 1989),
- zur Verlaufsbeobachtung unter der Therapie (van der Burg et al., 1992),
- zur Rezidivdiagnostik,
- zur immunszintigraphischen Lokalisation von Tumorgewebe und
- zur Immuntherapie (Kenemans, 1990).
- Der immunhistochemische Nachweis von CA 12-5 im Tumorgewebe soll mit dem Nachweis im Serum korrelieren (Jacobs & Bast, 1989; Breiteneker et al., 1989; Woolas et al., 1996).

1.3.3 CA 15-3

CA 15-3 ist ein hochmolekulares Kohlenhydrat-Antigen der Milchfettkügelchen-Muzin-Familie mit einem Molekulargewicht von 300 000 bis 450 000 Dalton (Hayes et al., 1985), das mit Hilfe monoklonaler Antikörper (z. Zt. ca. 50 bekannt) detektiert werden kann, die unterschiedliche Epitope des gleichen Antigens erkennen. Dieses wurde als bestimmte Glykosylierungsform des „Polymorphen epithelialen Muzin“ (PEM), synonym mit MUC1-Genproduktion, identifiziert (Taylor-Papadimitriou & Epenetos, 1994; Snijdewint et al., 1999; Duffy et al. 2000). CA 15-3 findet man bevorzugt in malignen Tumoren der Mamma, aber auch bei benignen Brustveränderungen sowie zu einem geringen Prozentsatz von ca. 10-20 % in normalem Milchgangsepithel (Kufe et al., 1984). Beim Mammakarzinom steigt die Inzidenz erhöhter Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom klinischen Stadium von 20-40% (Stadium I) auf 60-85% (Stadium IV). Auch bei Malignomen anderer Organe ist das CA15-3 im Serum nachweisbar, so z.B. beim Ovarialkarzinom (71% der Patientinnen) (Tondini et al., 1988), bei kolorektalen Karzinomen, bei Bronchialkarzinomen, bei Melanomen und bei Lymphomen. Außerdem gelingt auch der Nachweis im Normalgewebe der Speichel- und Schweißdrüsen (Gullino, 1977). Im Ovar markiert der Antikörper 95% der Tumoren mit niedrig malignem Potential (Borderline-Tumoren mit apikaler Expression) und verschiedene Tumordifferenzierungen (serös, muzinös, endometroid mit zytoplasmatischer

Expression) sowie die Oberfläche von Ovarialkarzinomzellen in der Zellkultur (Sekine et al., 1985).

Der in dieser Untersuchung gewählte Antikörper erkennt das „Polymorphe epitheliale Muzin“ (PEM) in der CA 15-3-äquivalenten Form (v. Prittitz, 2000).

1.3.4 CEA

Das karzinoembryonale Antigen ist ein membran-assoziiertes Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von ca. 180 000 Dalton und besteht zu 45-60% aus Kohlenhydraten; der Proteinanteil besteht aus einer einzelnen, in sich gedrehten Polypeptidkette, die mit einer größeren Anzahl von komplexen, verzweigten Oligosacchariden über N-Acetylglucosamin-Asparagin-Bindungen verknüpft ist.

Erstmals wurde das CEA 1965 von Gold und Freedman beschrieben. Sie fanden es in Kolonkarzinomen und in fetalem Darmgewebe, nicht aber in normalem Darmgewebe Erwachsener (Gold und Freedman, 1965). Weitere Untersuchungen zeigten allerdings, daß CEA auch in anderen pathologisch veränderten, aber tumorfreien Geweben gebildet wird, wie z.B. bei Patienten mit chronisch obstruktiver Lungenerkrankung, entzündlichen Darmerkrankungen, Divertikulitis, Pankreatitis, entzündlichen Lebererkrankungen etc.. Bei Rauchern können Spiegel gefunden werden, wie sie auch bei Patienten mit metastasierendem Kolonkarzinom vorkommen können (Fletcher, 1986).

Adenokarzinome fast aller Organe exprimieren CEA (Sun et al. 1983; Said et al. 1983). Das Expressionsmuster kann sowohl von Tumor zu Tumor als auch innerhalb eines Tumors sehr stark variieren. Verschiedene Typen von Mammakarzinomen weisen z.B. bezüglich CEA verschiedene Expressionsmuster auf. Etwa ein Drittel der lobulären und fast 90% der duktaalen Karzinome exprimieren CEA (Gion et al. 1986).

Einige Untersuchungen weisen darauf hin, daß Mitglieder der CEA-Familie Funktionen im Rahmen der Zelladhäsion (Benchimol et al. 1989) und/oder der Immunologie (Bakterienerkennung) (Leusch et al. 1990) haben.

Nach Dietel et al. (1985) hat CEA außerdem eine prognostische Bedeutung bei Ovarialtumoren mit niedrig malignem Potential (Borderline).

1.4 Epidemiologie und Ätiologie des Ovarialkarzinoms

Das Ovarialkarzinom ist nach dem Endometrium- und Zervixkarzinom das dritthäufigste Genitalmalignom der Frau und in etwa 28% aller malignen Erkrankungen des weiblichen Genitalbereichs nachzuweisen. Von den Malignomen des weiblichen Genitaltraktes hat das Ovarialkarzinom die ungünstigste Prognose mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von etwa 35%. Die Neuerkrankungsrate zeigt keine wesentlichen Veränderungen in den letzten 20 Jahren, die Mortalität ist in diesem Zeitraum leicht abnehmend.

Die Zahl der jährlichen Neuerkrankungen wird für Europa, einem Nord-Südgefälle folgend, im Norden mit etwa 15 Fällen / 100 000 Frauen und im Mittelmeerraum mit etwa 5 Fällen / 100 000 Frauen angegeben.

Die Ätiologie des Ovarialkarzinoms ist bisher weitgehend unklar, einige Risikofaktoren sind jedoch bekannt. Wie bei vielen Malignomen ist das Lebensalter ein Risikofaktor: Mit zunehmendem Alter steigt auch die Inzidenz des Ovarialkarzinoms an. Ebenfalls mit einem erhöhten Risiko behaftet ist die Nulliparität und das andauernde Vorhandensein ovulatorischer Zyklen, auch „incessant ovulation“ genannt (Fathalla, 1971; Casagrande et al., 1979; Lavecchia et al., 1995). Hierzu paßt auch, daß eine Sterilitätstherapie, in deren Rahmen viele Eizellen zur Reifung gebracht werden, je nach Therapiedauer das Risiko auf das 2 bis 5-fache erhöht (Ozols et al., 1997). Im Gegensatz hierzu scheinen die Anzahl der Schwangerschaften, das Stillen und die Dauer der Einnahme von Ovulationshemmern protektive Faktoren darzustellen. Ein geringeres Risiko besteht ebenfalls bei Frauen, deren Gebärmutter operativ entfernt wurde (Brinton und Hoover, 1997), was sich möglicherweise zum einen durch die intraoperative Kontrolle der Ovarien (Weiss und Harlow, 1986) und zum anderen durch den reduzierten Blutfluß, der die Ovarialfunktion herabsetzt (Ellsworth et al., 1983), erklärt. Mehr als 90% der Ovarialkarzinome treten sporadisch auf, etwa 5-10% scheinen jedoch genetisch bedingt zu sein. Bei Erkrankung eines Verwandten ersten Grades beträgt das relative Risiko 3, bei Frauen mit zwei erkrankten, nahen Verwandten liegt die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Ovarialkarzinoms bereits bei 30-40%.

Folgende verschiedene Genotypen des hereditären Ovarialkarzinoms konnten identifiziert werden:

- a) Brust-Ovarial-Karzinom-Syndrom - Ovarialkarzinom ist mit einem frühen Auftreten des Mammakarzinoms assoziiert; Ursache: mutiertes BRCA1-Gen auf Chromosom 17q21 (Tumorsuppressor-Gen)
- b) Nur-Ovarial-Karzinom-Syndrom - seltener als das Brust-Ovarial-Karzinom-Syndrom, familiäre Häufung von Ovarialkarzinomen
- c) Lynch Typ II Krebsfamilien-Syndrom - Häufung von kolorektalem Krebs, Endometriumkarzinom und seltener auch Ovarialkarzinom
- d) Non-Polyposis-kolorektales Karzinom-Syndrom.

Auch bei nicht hereditärem Brustkrebs in der Anamnese erhöht sich das Risiko, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken. Hierfür wird ein verändertes hormonelles Milieu verantwortlich gemacht, welches die Entstehung beider Erkrankungen begünstigt. Diätetische Einflüsse auf die Inzidenz des Ovarialkarzinoms konnten bisher nicht klar nachgewiesen werden. Siehe hierzu auch Tabelle 1.1.

Tabelle 1.1: Risikofaktoren des Ovarialkarzinoms (nach Ozols et al., 1997)*

Risikofaktor	geschätztes relatives Risiko
höheres Lebensalter	3
Wohnort in Nordamerika oder Nordeuropa	2-5
höheres Bildungsniveau und Einkommen	1,5-2
weiße Rasse	1,5
Anamnese mit Sterilitätstherapie	2-5
frühe Menarche	1,5
späte Menopause	1,5-2
Status nach Hysterektomie	0,5-0,7
Verwendung oraler Kontrazeptiva	0,3-0,5
perineale Talkum-Puderanwendung	1,5-2
Ovarialkarzinom in der Verwandtschaft	3-4

* Die relativen Risiken variieren je nach Studie und Referenzgruppe

1.4.1 Verschiedene histologische Differenzierungsformen des Ovarialkarzinoms

Etwa 90% aller malignen Ovarialtumoren sind epithelial. Der Malignitätsgrad der Karzinome ist sehr unterschiedlich und einerseits vom Subtyp, andererseits vom Differenzierungsgrad abhängig. Günstig sind die sogenannten Borderline- oder LMP-Tumoren (Grenzfälle der Malignität; low malignant potential), die hochdifferenzierten muzinösen und endometrioiden Adenokarzinome, die klarzelligen Karzinome, ferner auch die nicht-epithelialen Keimzell- und Granulosatumoren. Ungünstig und mit einer sehr frühen Ausbreitung im Abdomen vergesellschaftet sind undifferenzierte und seröse Karzinome (nach Russel & Farnsworth, 1997).

1.4.2 Klinik und Therapie des Ovarialkarzinoms

Aufgrund des häufig symptomarmen Krankheitsverlaufes in den Frühstadien erfolgt die Diagnosestellung in 70% der Fälle erst in den fortgeschrittenen Stadien FIGO III und IV, wo die Patientinnen erstmals mit von Aszites und Tumormassen gefülltem Bauch beim Frauenarzt vorstellig werden.

Die erste Säule der Therapie stellt der operative Eingriff dar, wobei die möglichst vollständige Entfernung makroskopisch sichtbaren Tumorgewebes das angestrebte Ziel sein sollte, um bestmögliche Voraussetzungen für die Wirkung der anschließenden Kombinationschemotherapie zu schaffen.

Die Wichtigkeit der Radikalität des Primäreingriffes wird in zahlreichen neueren Studien bestätigt (z.B. Michel et al. 1997). Als Operation der Wahl gilt beim Ovarialkarzinom die Hysterektomie, die Adnexektomie bds. und die Omentektomie. Außerdem gehören das Gewinnen von Peritonealzytologie und Biopsien aus makroskopisch suspekt erscheinenden Bereichen zum Standardvorgehen. Eine regionäre Lymphonodektomie erscheint nur bei weitgehender Tumorfreiheit sinnvoll.

Je nach Stadium muß dann die Operation ggf. auch auf andere Organe ausgedehnt werden.

Die zweite Säule in der Therapie stellt die Chemotherapie dar. Die Ansprechrate und Effektivität der Chemotherapie hängt im wesentlichen von drei Faktoren ab:

1. Tumorbiologie (Grading und histologischer Tumortyp)
2. Tumorgröße (Durchmesser des größten Tumorrestes postoperativ)
3. Art der ersten Chemotherapie und Zeitintervall zwischen erster und zweiter Chemotherapie.

Insgesamt sind Ovarialkarzinome in etwa 70% sensibel gegenüber Chemotherapie (Münstedt & Vahrson, 1995).

Zu den wirksamsten und damit am häufigsten verwendeten Zytostatika zählen Cis- und Carboplatin, Cyclophosphamid, Anthrazykline und in neuerer Zeit Paclitaxel.

Eine weitere sehr wirksame Substanz ist das Topotecan. Für den Einsatz dieser Zytostatika lassen sich vier verschiedene Ansätze definieren:

1. Adjuvante Chemotherapie: Nach operativer Entfernung allen sichtbaren Tumorgewebes zur Beseitigung vermuteter Mikrometastasen
2. Chemotherapie mit kurativem Ansatz: nach optimalem Tumor- Debulking (Tumorrest $\leq 1\text{cm}$)
3. Primäre (Induktions-) Chemotherapie mit nachfolgendem Versuch der Entfernung der Resttumoren (auch „neoadjuvante“ Chemotherapie genannt)
4. Palliative Chemotherapie zur Reduktion von Tumorgröße und Beschwerden.

Die dritte große Säule in der Behandlung des Ovarialkarzinoms stellt die Strahlentherapie dar. Obwohl ihre Wirksamkeit hier nachgewiesen ist und auch etwa 70% der Tumoren strahlensensibel sind (Münstedt & Vahrson, 1995), wird die Strahlentherapie im Vergleich zur Chemotherapie selten eingesetzt.

Das Indikationsgebiet der primären adjuvanten Strahlentherapie erstreckt sich bei Berücksichtigung des Gradings vor allem auf die Stadien I und II nach R0-Resektion oder auf die fortgeschrittenen Stadien nach R1- oder R2-Resektion, wenn die Tumorreste im Oberbauch keinen größeren Durchmesser als 4 mm aufweisen.

Die Bestrahlung kann entweder perkutan oder als intraperitoneale Therapie mit Radiokolloiden erfolgen. Das Zielvolumen muß beim Ovarialkarzinom immer das gesamte Abdomen erfassen; im Beckenbereich wird in der Regel ein Boost appliziert. Es sind jedoch noch weitere Studien erforderlich, um den Stellenwert der Strahlentherapie im Gesamt-Therapiekonzept beim Ovarialkarzinom näher zu definieren.

1.4.3 Vorsorge, Nachsorge und Prognose

Nach der Therapie werden die Patienten in die Tumornachsorge entlassen. Hierbei werden sie im ersten und zweiten Jahr alle 3 Monate vorstellig, im dritten bis fünften Jahr alle 6 Monate und im sechsten bis zehnten Jahr alle 12 Monate. Bei jeder

Vorstellung erfolgt die Erhebung der Anamnese, Aufklärung und Beratung, psychologische Betreuung und die körperliche Untersuchung mit gynäkologischer Untersuchung. Außerdem wird der Tumormarker CA 12-5 bestimmt und die Sonographie der Vagina bzw. des Abdomens durchgeführt. Die Anfertigung einer Mammographie wird alle 12 Monate empfohlen; Röntgen Lunge und Zusatzuntersuchungen sollten nur bei entsprechender klinischer Symptomatik erfolgen (Schwiersch et al., 1998; Schröck et al., 1995; Schröck et al., 1993).

Die insgesamt schlechte Prognose der Patienten könnte entscheidend verbessert werden, wenn geeignetere Screeningmethoden zur Verfügung stünden. So sind die verschiedenen Tumormarker zwar hilfreich bei Diagnostik und Therapie von Adnexmalignomen, sie sind jedoch aufgrund ihrer zu niedrigen Sensitivität und Spezifität für den generellen Einsatz als Screeningmethode ungeeignet (Meier, 1997).

Ähnliches gilt für die Vaginalsonographie. Aus einer Vielzahl von Untersuchungen weiß man, daß man bei unselektionierten, asymptomatischen Patientinnen etwa 350 bis 1000 untersuchen müßte, um ein Karzinom zu diagnostizieren (Bernaschek et al., 1993; Goldstein et al., 1995). Das National Cancer Institute hat daher 1998 in einem Konsensus-Papier festgelegt, daß der eindeutige Nachweis einer Morbiditäts- oder Mortalitätssenkung durch den Einsatz der Vaginalsonographie bisher nicht erbracht ist.

2 Fragestellung

Obwohl die sogenannten Tumormarker CA 12-5, CA 15-3 und CEA schon seit langem bekannt sind und einen Stellenwert in Verlaufsbeobachtung und Rezidiverkennung (Serumanalyse) haben, ist deren Funktion und möglicherweise deren prognostische und prädiktive Bedeutung kaum erforscht.

In Paraffin konserviertes Gewebe von 221 Fällen wurde im Hinblick auf die Expression der Tumormarker CA 12-5, CEA und CA 15-3 immunhistochemisch untersucht.

Die hierbei bestimmten Ergebnisse wurden mit klinischen Daten verglichen, wobei folgende Fragen interessierten:

1. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Expression der verschiedenen Marker im Tumorgewebe und der Überlebenszeit der Patientinnen ?
2. Speziell für CA 12-5: Inwiefern besteht ein Zusammenhang zwischen der Expression dieses Markers im Gewebe und dem Nachweis im Serum ?
3. Besteht ein Zusammenhang zwischen der Expression der Marker im Tumorgewebe und der Tumorbeschaffenheit (histologischer Typ, Grading, etc.) ?
4. Können die klassischen Prognosefaktoren (z.B. FIGO-Stadium, Tumorgrading etc.) in ihrer Bedeutung bestätigt werden ?

3 Patientinnen, Material und Methode

Grundlage der vorliegenden Arbeit sind die Krankenakten und die an der Universitätsfrauenklinik Gießen und am Institut für Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen archivierten Gewebeblöcke von 221 Patientinnen, die zwischen 1982 und 1996 vor Ort in der Abteilung Gynäkologische Onkologie und Strahlentherapie behandelt wurden. Die Krankenakten wurden im Hinblick auf die klinischen Daten und klinischen Prognosefaktoren kritisch reevaluiert. Die Ein- und Ausschlusskriterien für diese Studie sind weiter unten dargestellt. Zweitmalignome waren kein primäres Ausschlusskriterium, sofern diese nicht Todesursache waren. Die individuelle Nachbeobachtungszeit der Patientinnen lag im Mittel bei 3,9 Jahren mit einer Spannweite von 4 Tagen bis 15,8 Jahren. Der Median lag bei 2,6 Jahren, da die Mehrzahl der Patientinnen bereits früh am Ovarialkarzinom verstarben.

Einschlusskriterien zur Untersuchung der Prognosefaktoren des Ovarialkarzinoms:

- a) histologisch gesichertes Karzinom der Ovarien,
- b) postoperative Nachbehandlung an der Universitätsfrauenklinik Gießen,
- c) Vorliegen kompletter klinischer Daten, insbesondere Operationsbericht, Originalhistologie, postoperativer Behandlungsplan,
- d) komplettes Follow-up der Patientinnen; bei noch lebenden Patientinnen letzter Patientenkontakt < 1 Jahr,
- e) Vorliegen Paraffin-eingebetteten Tumorgewebes der Primäroperation.

3.1 Das Gießener Ovarialkarzinom-Kollektiv und klinische Prognosefaktoren

Die Charakteristika des untersuchten Gießener Ovarialkarzinom-Kollektivs (G. O. K.) hinsichtlich des Jahres der Primäroperation, des Alters der Patientinnen bei der Primäroperation, der Verteilung der Tumorstadien und der Verteilung der verschiedenen histologischen Differenzierungstypen sind den Abbildungen 3.1 bis 3.4 zu entnehmen.

Von den untersuchten 221 Patientinnen wurden 115 (52%) radikal operiert, d.h., nach dem Operationsbericht waren keine Tumorresiduen verblieben. Nach dem Plan zur Nachbehandlung des Ovarialkarzinoms erhielten 12,1% der Patientinnen keine Nachbehandlung (Stadium Ia und Ib sowie bei Ablehnung der Therapie), 18,3%

ausschließlich eine Strahlentherapie (Radiogold, Radiophosphor, Beckengegenfeld- und Openfeldbestrahlung), 10,8% eine ausschließlich chemotherapeutische Behandlung, überwiegend mit PEC- Kombinationen (Cisplatin 50mg/qm, Epirubicin 60mg/qm und Cyclophosphamid 500mg/qm; q28). Bei der Mehrzahl (58,8%) bestand der Behandlungsplan aus einer Kombination o.g. radiotherapeutischer und chemotherapeutischer Maßnahmen. Die Behandlungsrichtlinien waren während des Zeitraums ähnlich, wurden jedoch verschiedentlich modifiziert.

Im Rahmen der retrospektiven Analyse wurden folgende klinische und pathologische Prognosefaktoren erfaßt:

- a) Alter
- b) Tumorstadium (FIGO)
- c) Radikaloperation (Hysterektomie, Ovarektomie beidseits, Omentektomie ja/nein)
- d) postoperativ verbliebene Resttumormasse (keine Tumorresiduen, $\leq 100g$, $\leq 500g$, $\leq 1000g$, $> 1000g$)
- e) größter Durchmesser des verbliebenen Resttumors ($< 2cm$, $\geq 2cm$)
- f) Aszitesmenge bei Primäroperation (nicht vorhanden, $\leq 500ml$, $> 500ml$)
- g) Histologie
- h) Tumordifferenzierung (Grading) in Anlehnung an Baak et al.(1987)
- i) Therapieplan wie festgelegt beendet (ja/ nein)
- j) Therapieplan zeitgerecht und ohne Dosisreduktionen bei Chemotherapie beendet (ja/ nein)

120 Patientinnen (55,3%) waren zum Zeitpunkt der Datenerhebung (9/97) am Ovarialkarzinom verstorben, 4 Patientinnen waren tumorunabhängig verstorben, 78 Patientinnen lebten noch; in 19 Fällen ließ sich die genaue Todesursache nicht zuverlässig eruieren. Letztere Fälle wurden zurückhaltend als nicht tumorabhängig gewertet. Die rezidivfreie Überlebenszeit wird im Rahmen dieser Untersuchung wegen methodischer Schwierigkeiten nicht berücksichtigt. In vielen Fällen lag Tumorpersistenz vor.

Bei echten Rezidiven ist eine exakte Bestimmung des zeitlichen Beginns zudem schwierig. Je nachdem, welches Kriterium (Anstieg der Tumormarker, Nachweis durch apparative Maßnahmen, klinische Symptome) gewählt wird, ergeben sich unterschiedliche Zeitspannen. Nicht immer haben im vorliegenden Patientinnenkollektiv alle Patientinnen regelmäßig an allen planmäßigen Nachsorgeuntersuchungen teilgenommen. Da die diesbezüglichen Ergebnisse auf der Auswertung einer zu geringen Fallzahl beruhen würden, berücksichtigen die vorgelegten Analysen nur die Gesamtüberlebenszeit.

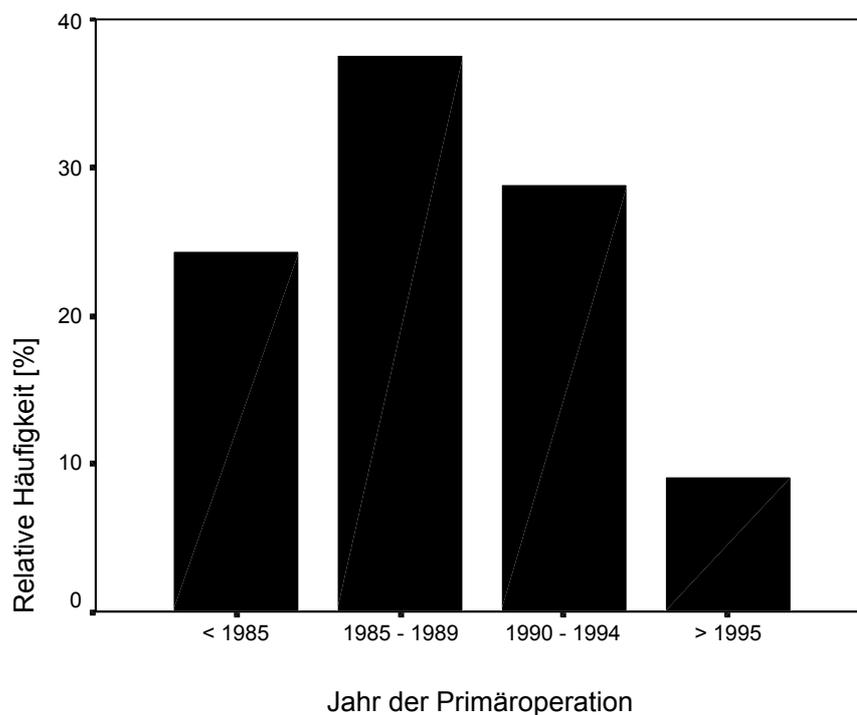


Abbildung 3.1: G.O.K.: Zeitpunkte der Primärintervention.

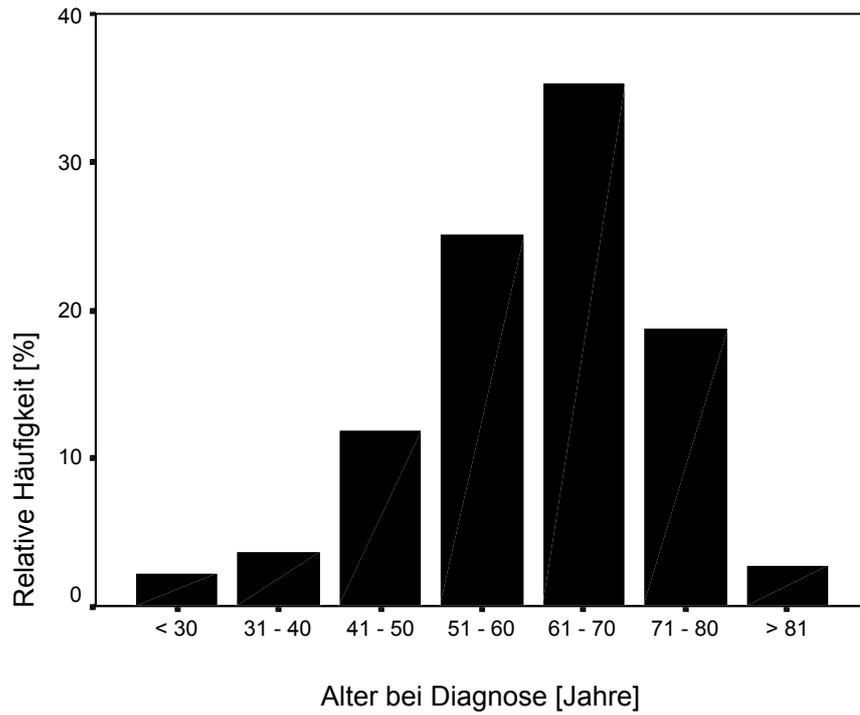


Abbildung 3.2: G.O.K.: Altersverteilung der Patientinnen (Mittelwert 60,5 Jahre; Median 62,6 Jahre; Standardabweichung 12,4 Jahre).

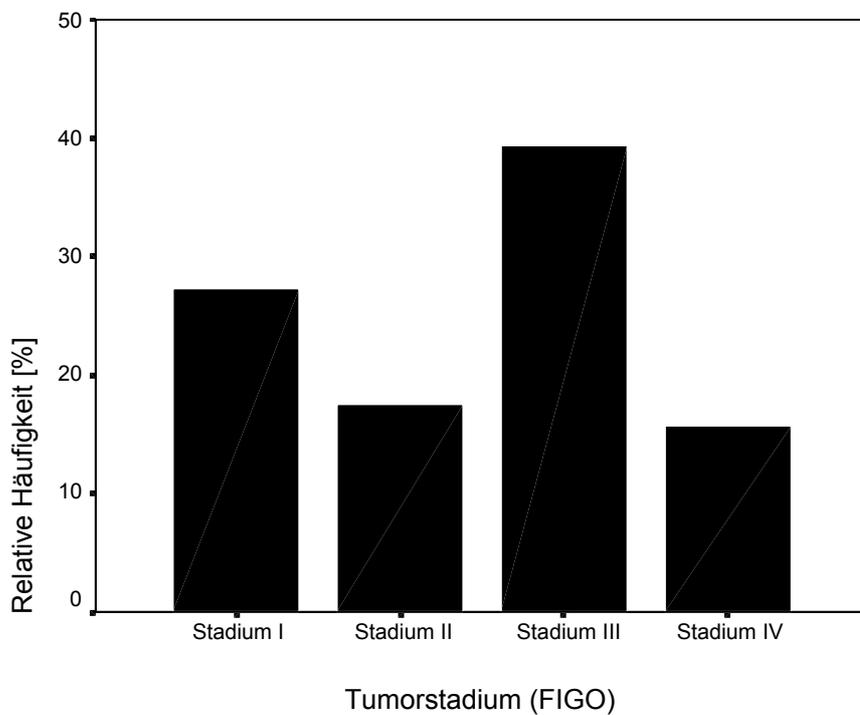


Abbildung 3.3: G.O.K.: Verteilung der Tumorstadien (FIGO)

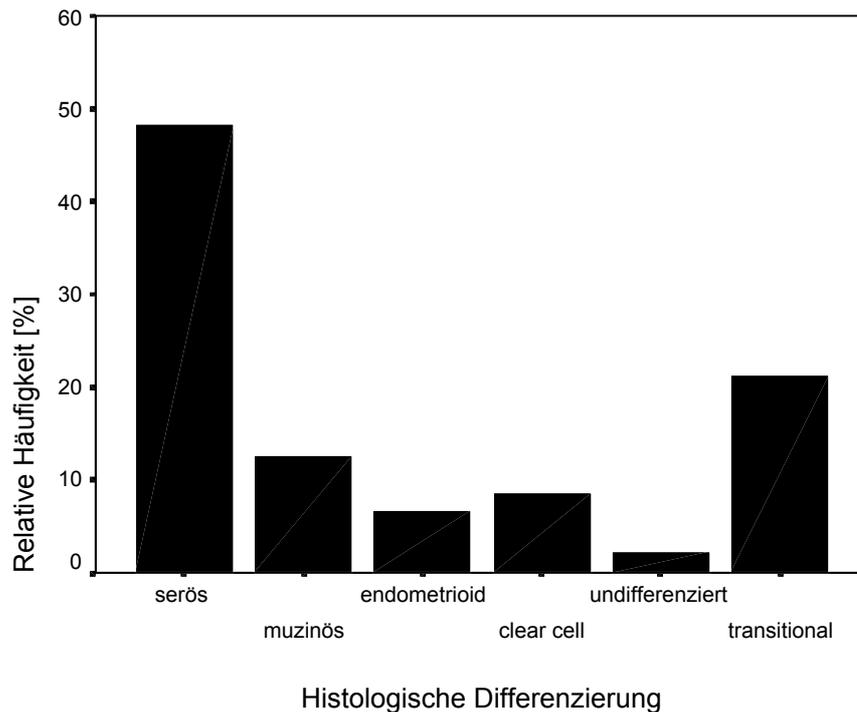


Abbildung 3.4: G.O.K.: Histologische Differenzierungsformen

3.2 Histologie

In Zusammenarbeit mit Herrn OA Dr. med. F. E. Franke, Institut für Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen, wurden sämtliche histologische Diagnosen überprüft und einer einheitlichen Bewertungssystematik zugeführt. Unter Heranziehen des HE-Schnittmaterials der Tumorprimäroperation wurde die Diagnose Ovarialkarzinom auch unter Berücksichtigung der weiteren Anamnese der Patientin sichergestellt, um insbesondere Ovarmetastasen anderweitig lokalisierter epithelialer Tumoren auszuschließen. Unter Berücksichtigung der aktuellen histologischen Typisierung der Ovarialkarzinome (Russel& Farnsworth: Surgical Pathology of the Ovaries 2nd Edition, Churchill Livingston New York, 1997) und der Erweiterung derselben um die „Transitionale Differenzierung“ (Ordonez, 2000) erfolgte eine histologische Subtypisierung. In den meisten Fällen vor 1990 erfolgte keine Beurteilung der histologischen Differenzierung (Grading). In diesen Fällen wurde das Grading in Anlehnung an Baak et al. (1987) bestimmt, in allen anderen Fällen überprüft. Ferner wurde das Hauptwachstumsmuster der Tumoren überprüft, wobei zwischen den Formen „zystisch“, „papillär“, „tubulär“, „solid-tubulär“ und „solide“

unterschieden wurde. Als weiterer möglicher Prognosefaktor wurde der relative Anteil der Nekrose im Tumorgewebe bestimmt. Unterteilt wurde dieser in „nicht vorhanden“, „gering“, „mäßig“ und „ausgeprägt“.

3.3 Immunhistochemie

Von den Gewebeblöcken, die nach eingehender Überprüfung das repräsentative Tumorgewebe enthielten, wurden je 20 Schnitte a 2 µm Dicke mit einem Mikrotom (Modell Jung SM2000R, Fa. Leica, Nussloch) angefertigt und nach Glättung im Wasserbad (Aqua destillata, 45°C) auf spezielle, hochgereinigte Objektträger aufgezogen (Superfrost, Fa. Menzel-Gläser, USA). Nach dem Trocknen über Nacht im Brutschrank (BE 400, Fa. Memmert, Schwabach) bei 37°C wurde zudem pro Block eine Hämatoxilin-Eosin-Kontrolle angefertigt. Die restlichen Schnitte wurden bis zur immunhistochemischen Färbung in einem Objektträgerschrank für bis zu 6 Monate aufbewahrt.

Das Vorgehen bei der Immunhistochemie und die benötigten Reagenzien sind im Anhang 5 über die APAAP-Technik dargestellt.

Beispiele der jeweils in den Tumoren vorliegenden Reaktionsmustern sind in den Abbildungen 4.14 A - F dargestellt.

3.3.1 Verwendete Primärantikörper

Für die immunhistochemische Analyse des Tumormaterials wurden Primärantikörper gegen folgende Epitope verwendet:

- a) CA 12-5 (mouse anti-human ovarian cancer antigen), monoklonal, Typ IgG1, Konzentration 1 mg/ml, Affinitätskonstante 8×10^9 l/mol, Katalognummer MAB4043, Chargen Nummer 17090122, Fa. Chemicon International Inc., Temecula, Kalifornien, USA, Bezug über Fa. DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Verdünnung 1:750
- b) PEM 835 (Polymorphic Epithelial Mucin) (identisch zu CA 15-3), (Maus anti-Human), monoklonal, Typ IgG1, Konzentration 13,41 mg/ml, Chargennummer 66UV0892/3, Behringwerke Marburg, Verdünnung 1:10.000
- c) BW 431 (CEA) (Klon 26), (Maus anti-Human), monoklonal, Typ IgG1, Kappa, Fa. Georg Weber & Partner Forschungsprodukte GbR, Amöneburg, Verdünnung 1:20

Folgende Antikörper wurden als Sekundär-, bzw. Tertiärantikörper zur Detektion verwendet:

- a) LINK Kaninchen anti-Maus Immunglobuline, polyklonal, überwiegend IgG, Chargennummer 065, Katalognummer Z 0259, DAKO Hamburg, Verdünnung 1:250
- b) APAAP Mouse Monoclonal (Klon AP7/6/7), Typ IgG1, Kappa, Konzentration 0,12 mg/ml, Chargennummer 025, Katalognummer D 651, DAKO Hamburg, Verdünnung 1:50

3.3.2 Auswertung der Immunhistochemie nach dem ImmunReaktiven Score (IRS)

Die Auswertung der immunhistochemischen Schnitte erfolgte nach den Richtlinien von Remmele und Stegner (1987). Diese Methode weist den geringsten Variationskoeffizienten und damit im Interobserver-Test die beste Reproduzierbarkeit auf. Der genannte immunreaktive Score (IRS) berücksichtigt die beiden Parameter Färbeintensität (Staining Intensity = SI) und den Prozentsatz der positiven Zellen und wird aus dem Produkt beider Parameter errechnet. Bei der Beurteilung ist der vorherrschende Intensitätsgrad maßgebend.

Die Färbeintensität (Stärke der Immunreaktivität) wird wie folgt unterteilt:

- 0 = keine Färbeintensität
- 1 = schwache Färbereaktion
- 2 = mäßige Färbereaktion
- 3 = starke Färbereaktion

Der Prozentsatz positiver Zellen wird eingeteilt in:

- 0 = keine positiven Zellen
- 1 = <10% positive Zellen
- 2 = 10-50% positive Zellen
- 3 = 51-80% positive Zellen
- 4 = >80% positive Zellen

Bei der Multiplikation beider Faktoren ergibt sich somit ein Maximalwert des IRS von 12. Die Unterteilung des Prozentsatzes der positiven Zellen trägt auch dem Umstand Rechnung, daß diesem eine besondere Bedeutung zukommt (Remmele & Stegner, 1987). Ursprünglich für die objektivere Erfassung von Immunreaktivität gegen Steroidhormonrezeptoren entwickelt, hat sich die dargestellte Auswertung der Immunhistochemie auch für andere diagnostische und wissenschaftliche Fragestellungen gut bewährt (Münstedt et al., 2000; Franke et al., 2000). Für die Auswertung der Ergebnisse wurden die IRS wie folgt zusammengefaßt:

- 0 = keine Expression
- 1-3 = geringe Expression
- 4-8 = mäßige Expression
- 9/12 = starke Expression

Bei der zellulären Lokalisation der Immunreaktion wurde außerdem unterschieden in „zytoplasmatische“, „membranöse“ und „apikale“ (luminal-polare) Expression.

Vor der Gesamtauswertung wurde für jeden einzelnen Antikörper geprüft, ob die Antigenität der Präparate eventuell durch die Lagerzeit der Gewebsblöcke beeinträchtigt wurde. Es konnte diesbezüglich keine Korrelation zwischen dem Alter des Gewebes und dem IRS festgestellt werden, so daß die von den verwendeten Antikörpern markierten Epitope offenbar auch über lange Lagerzeiten stabil detektierbar sind.

3.4 CA 12-5-Serumwerte

Anhand der Akten wurden auch die CA 12-5 -Serum-Werte im G.O.K. überprüft. Da die Bestimmung des Tumormarkers CA 12-5 an der Universitätsfrauenklinik Gießen erst ab 1989 erfolgte, standen für die Korrelation des Markers mit der Gewebeexpression insgesamt 38 Fälle zur Verfügung, bei denen präoperativ gemessene CA 12-5-Werte im Serum vorlagen. Der höchste Wert betrug 5806 U/ml und der niedrigste 24 U/ml. Bei einem cut-off-Wert von 30 U/ml lagen insgesamt nur 2 Serumwerte präoperativ im Normbereich. Der Mittelwert betrug 1186 bei einer Standardabweichung von 1634 U/ml.

Die Serumwerte wurden nach den Perzentilen in 4 Gruppen unterteilt:

0-155 U/ml	= I
156-424 U/ml	= II
425-1395 U/ml	= III
1396-5806 U/ml	= IV.

Zur Prüfung des Zusammenhanges von Expression im Serum und Expression im Tumorgewebe im Sinne von Expression „Ja/Nein“ wurden auch die 101 vorliegenden postoperativen Serumwerte miteinbezogen. Lagen für einen Fall sowohl prä-, als auch postoperative Werte vor, und war der präoperative Wert >30 U/ml und der postoperative kleiner, so wurde der Tumor als „Serumpositiv“ gewertet. Expression im Serum bejaht bedeutet hier also, daß entweder prä- oder postoperativ mindestens einmal ein Wert >30 U/ml im Serum gemessen wurde.

3.5 Statistik

Die Datenerfassung und Auswertung erfolgte mit Hilfe des Computerprogrammes SPSS for Windows®, Version 7.5. Grundlage für die klinischen Daten waren die Datenbanken des Tumorzentrums Gießen (Leiter: Prof. Dr. med. H. v. Lieven), wobei die Datensätze überprüft und um o. g. klinische, histologische und immunhistochemische Parameter ergänzt wurden. Bei der statistischen Datenanalyse wurden bivariate Korrelationen und Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalysen durchgeführt. Da es sich bei den Werten der tumorbiologischen Faktoren um nicht-parametrische Daten handelt, wurden zur Bestimmung ihrer gegenseitigen Abhängigkeit der Spearman Rangkorrelationskoeffizient sowie Kendall's Tau verwendet (Diehl & Kohr, 1993). Die Korrelationen wurden zweiseitig geprüft.

Die Prüfung der nicht-linearen Parameter histologischer Subtyp, Wachstumsmuster und zelluläre Expressionslokalisation erfolgten mit Hilfe des Chi²-Tests. Hierzu mußten teilweise Gruppen von verschiedenen Ausprägungen zusammengefaßt werden. In einem Fall (Tumortyp im Vergleich zu den verschiedenen Wachstumsmustern) war die Anwendung des Chi²-Tests dennoch nicht möglich, da eine weitere Zusammenfassung der Gruppen das Ergebnis verfälscht hätte.

Das Vorhandensein bzw. das Fehlen von postoperativen Tumorresiduen hat unmittelbare Auswirkungen sowohl auf die Prognose als auch auf die Therapie. Daher erfolgten die Auswertungen der Prognosefaktoren nicht nur am Gesamtkollektiv, sondern auch selektiv an den Untergruppen der Patientinnen ohne und mit postoperativem Resttumor. Insbesondere Patientinnen mit makroskopischem Resttumor sind als Hochrisiko-Kollektiv für die Analyse prognostischer und prädiktiver Faktoren besonders geeignet, da es sich ganz überwiegend um Patientinnen in fortgeschrittenen Tumorstadien handelt, bei denen von einer Heilung durch die Operation nicht ausgegangen werden kann. Entsprechende Analysen dieser Untergruppen finden sich auch in der Literatur (z.B. Henriksen et al., 1994).

4 Ergebnisse

4.1 Klassische Prognosefaktoren

4.1.1 Postoperativer Resttumor

Wie in der Abbildung 4.1 dargestellt bestand ein hochsignifikanter Zusammenhang ($p < 0,001$) zwischen dem Vorhandensein bzw. der Größe des postoperativen Resttumors und der Überlebenszeit, wobei die Patientinnen ohne postoperativen Resttumor durchschnittlich 10,77 Jahre überlebten, während Patientinnen mit einem postoperativen Tumorrest < 2 cm nur 26% dieser Überlebenszeit erreichten, nämlich 2,79 Jahre. Ein postoperativer Tumorrest > 2 cm reduzierte die postoperative Überlebenszeit auf durchschnittlich 1,66 Jahre.

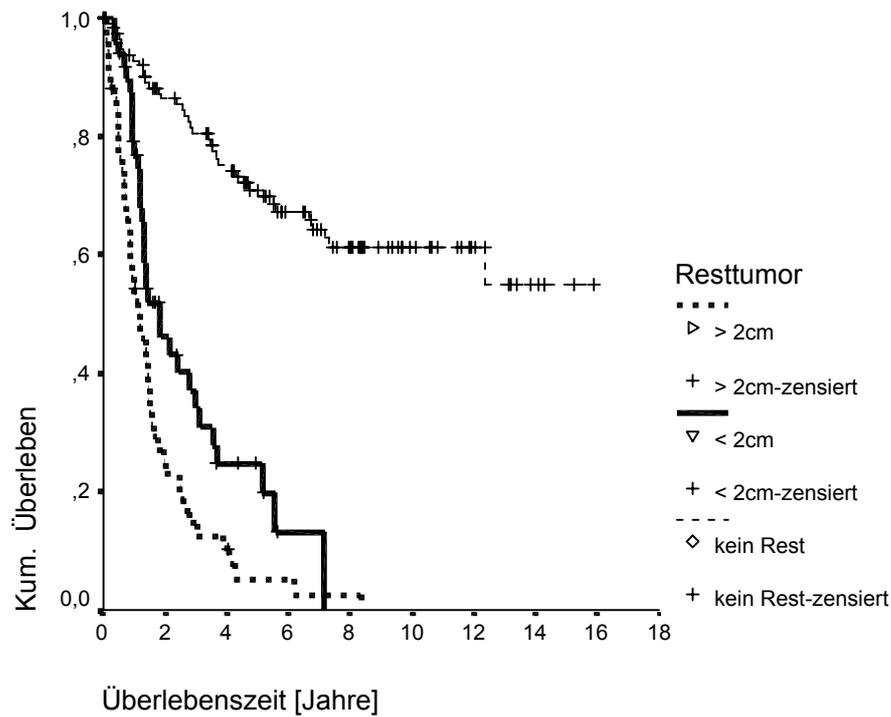


Abbildung 4.1: G.O.K.:Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für postoperativen Resttumor im Gesamtkollektiv (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	113,09	2	<0,0001
Breslow	90,68	2	<0,0001
Tarone-Ware	101,44	2	<0,0001

Resttumor	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
kein Rest	113	10,77	0,66
Rest <2cm	50	2,79	0,37
Rest >2cm	54	1,66	0,25

4.1.2 FIGO-Stadium

Wie in der Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse dargestellt, hatten Patientinnen in einem niedrigeren FIGO-Stadium des Primärtumors hochsignifikante Überlebensvorteile gegenüber denen mit einem höheren Stadium ($p < 0,001$). So reduzierte sich die mittlere Überlebenszeit von 11,17 Jahren im Stadium FIGO I auf 2,61 Jahre im Stadium FIGO IV. Der deutlichste Abfall der Überlebenszeit zeigte sich zwischen den FIGO-Stadien II und III mit einem Sprung von 9,13 Jahren im Stadium FIGO II auf 3,93 Jahre im Stadium FIGO III; das bedeutet eine Reduktion der Überlebenszeit um 57% (siehe Abbildung 4.2).

Außerdem bestanden signifikante Korrelationen zwischen dem FIGO-Stadium und dem Auftreten von Aszites, wobei es in niedrigeren FIGO-Stadien seltener zum Auftreten von Aszites kam (Kendall's Tau= 0,402; $p < 0,001$. Spearman's Rho= 0,446; $p < 0,001$), ferner zwischen dem FIGO-Stadium und dem Grading (siehe Tabelle 4.1) und zwischen FIGO-Stadium und Histologie (siehe hierzu unter dem Kapitel 4.1.6).

Keine signifikanten Zusammenhänge zeigten sich zwischen FIGO-Stadium und Wachstumsmuster, als auch dem Grad der Nekrose des Primärtumors.

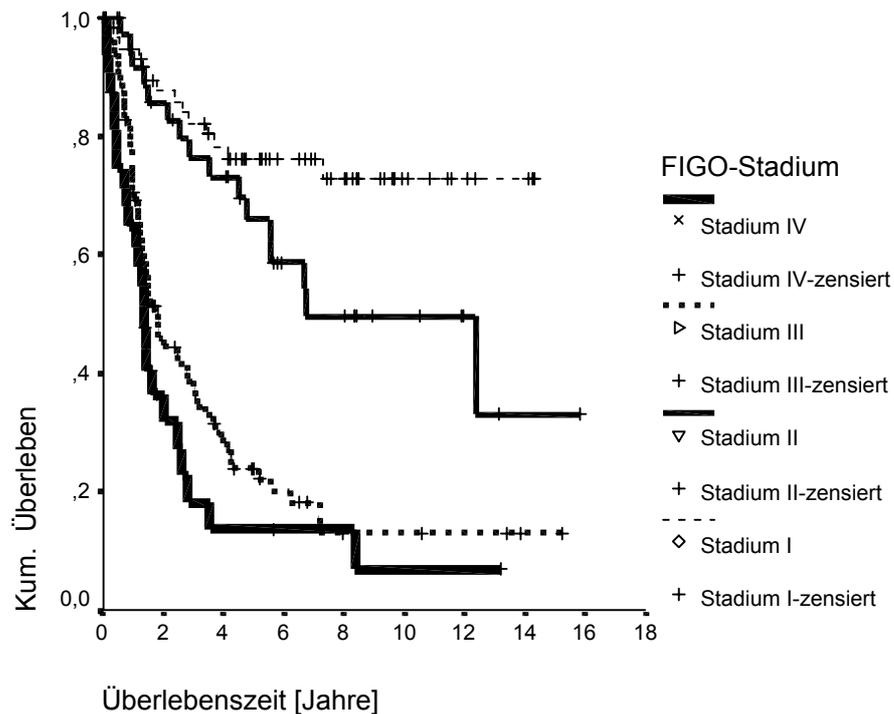


Abbildung 4.2: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für das FIGO-Stadium im Gesamtkollektiv (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	67,21	3	<0,0001
Breslow	59,07	3	<0,0001
Tarone-Ware	64,20	3	<0,0001

FIGO-Stadium	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
FIGO I	59	11,17	0,73
FIGO II	38	9,13	1,15
FIGO III	84	3,93	0,59
FIGO IV	34	2,61	0,71

4.1.3 Aszites

Das Vorhandensein von Aszites und auch die Menge, in der er vorhanden war, hatten einen hochsignifikanten Einfluß auf die Überlebenszeit der Patientinnen im G.O.K. ($p < 0,001$). So reduzierte sich die mittlere Überlebenszeit von Patientinnen ohne Aszites von 8,44 Jahre auf 6,54 Jahre, wenn weniger als 500 ml Aszites vorhanden war; und, noch deutlicher, um 55% auf 2,94 Jahre, wenn mehr als 500 ml Aszites vorhanden war (siehe Abbildung 4.3).

Keine signifikanten Korrelationen bestanden zwischen Aszites und dem Grad der Tumornekrose einerseits und zwischen Aszites und Histologie des Tumors andererseits.

Die Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von Aszites und dem Grading, dem FIGO-Stadium und dem Wachstumsmuster waren jeweils signifikant und sind in den entsprechenden Kapiteln dargestellt (4.1.2, 4.1.4, 4.1.5).

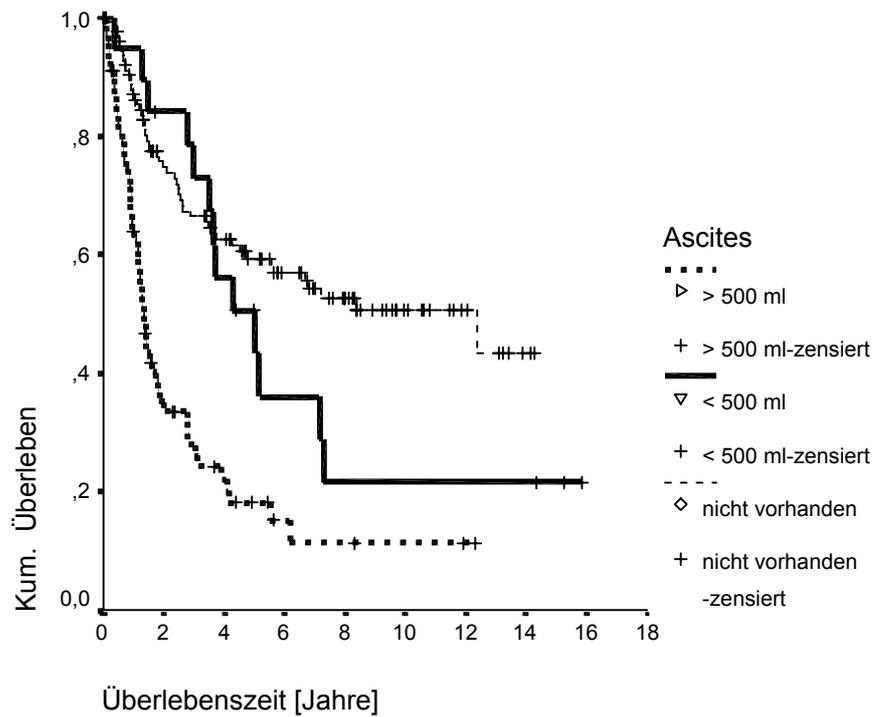


Abbildung 4.3: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für die Menge des Aszites im Gesamtkollektiv (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	43,97	2	<0,0001
Breslow	41,66	2	<0,0001
Tarone-Ware	43,43	2	<0,0001

Aszites	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahren]	Standard Error
kein Aszites	125	8,44	0,59
Aszites<500ml	19	6,54	1,30
Aszites>500ml	72	2,94	0,51

4.1.4 Grading

Je besser ein Tumor differenziert war, desto länger war die mittlere Überlebenszeit der Patientinnen ($p < 0,001$). Die Unterschiede in der Überlebenszeit waren am deutlichsten zwischen den „mäßig differenzierten Tumoren“ (G2) (mittlere ÜLZ 8,38 Jahre) und den „schlecht differenzierten Tumoren“ (G3) (mittlere ÜLZ 4,26 Jahre) mit einem Abfall der mittleren Überlebenszeit von 49%. Patientinnen mit „gut differenzierten Tumoren“ (G1) hatten eine nur um 27% längere mittlere Überlebenszeit als solche mit G2-Tumoren, nämlich 11,48 Jahre (siehe Abbildung 4.4).

Die Zusammenhänge zwischen dem Grading und der Histologie, der Tumornekrose und dem Wachstumsmuster waren jeweils signifikant. Die Darstellung erfolgt in den entsprechenden Kapiteln (4.1.5, 4.1.6, 4.1.7). Ebenfalls signifikante Korrelationen bestanden einerseits zwischen dem Grading und dem Vorhandensein von Aszites, wobei es bei den G1-Tumoren seltener zur Ausbildung von Aszites kam; und andererseits zwischen dem Tumorgrading und dem FIGO-Stadium, wobei die G1-Tumoren überwiegend in den niedrigen FIGO-Stadien zu finden waren (siehe Tabelle 4.1).

Tabelle 4.1: G.O.K.: Korrelation zwischen Tumorgrading und anderen Parametern

Parameter	Kendall's Tau	Signifikanz (2-seitig)	Spearman's Rho	Signifikanz (2-seitig)
Aszites	0,178	0,005	0,190	0,005
FIGO- Stadium	0,177	0,004	0,198	0,004

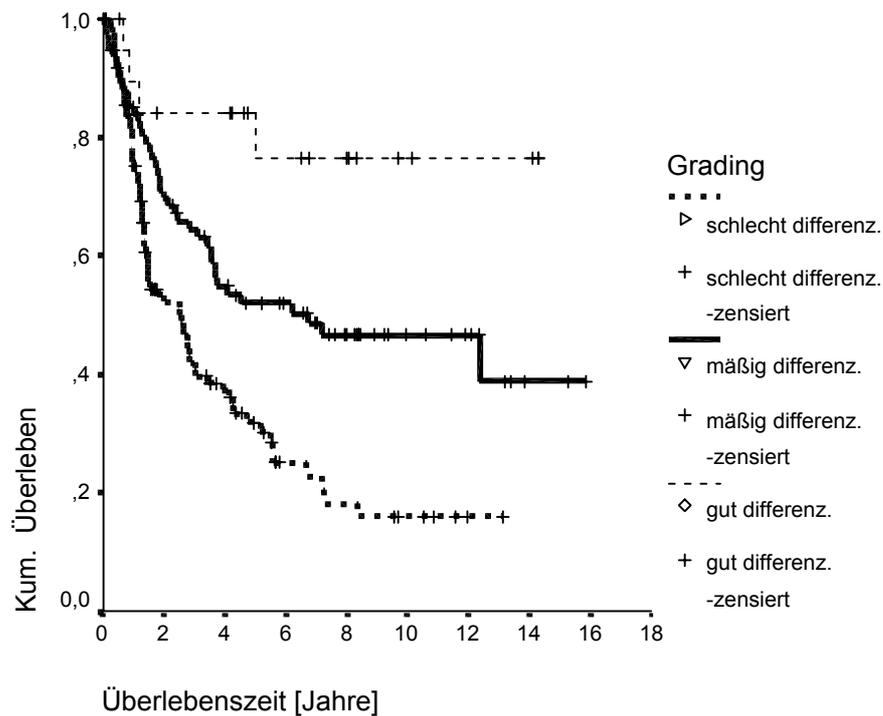


Abbildung 4.4: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für das Grading im Gesamtkollektiv (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	23,10	2	<0,0001
Breslow	16,29	2	0,0003
Tarone-Ware	19,55	2	0,0001

Grading	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
gut differenziert	20	11,48	1,25
mäßig differenziert	82	8,38	0,80
schlecht differenziert	114	4,26	0,49

4.1.5 Wachstumsmuster

Das Wachstumsmuster gehört zwar nicht zu den klassischen Prognosefaktoren im eigentlichen Sinne, wurde hier aber zusammen mit diesen auf eine mögliche prognostische Bedeutung hin untersucht.

Wie in der Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse dargestellt, hatten Patientinnen mit zystisch wachsenden Tumoren Überlebensvorteile (8,51 Jahre mittlere ÜLZ), wobei Patientinnen mit solide wachsenden Tumoren die kürzeste Überlebenszeit aufwiesen (4,12 Jahre mittlere ÜLZ; $p = 0,028$). An zweiter, dritter und vierter Stelle im Hinblick auf die Dauer der mittleren Überlebenszeit stehen die papillären, die tubulären und die solid-tubulären Tumoren, wobei letztere eine nur um 0,65 Jahre längere mittlere ÜLZ aufwiesen als die soliden Tumoren (siehe Abbildung 4.5).

Die Zusammenhänge zwischen dem Wachstumsmuster und der Histologie sind im Kapitel 4.1.6 dargestellt.

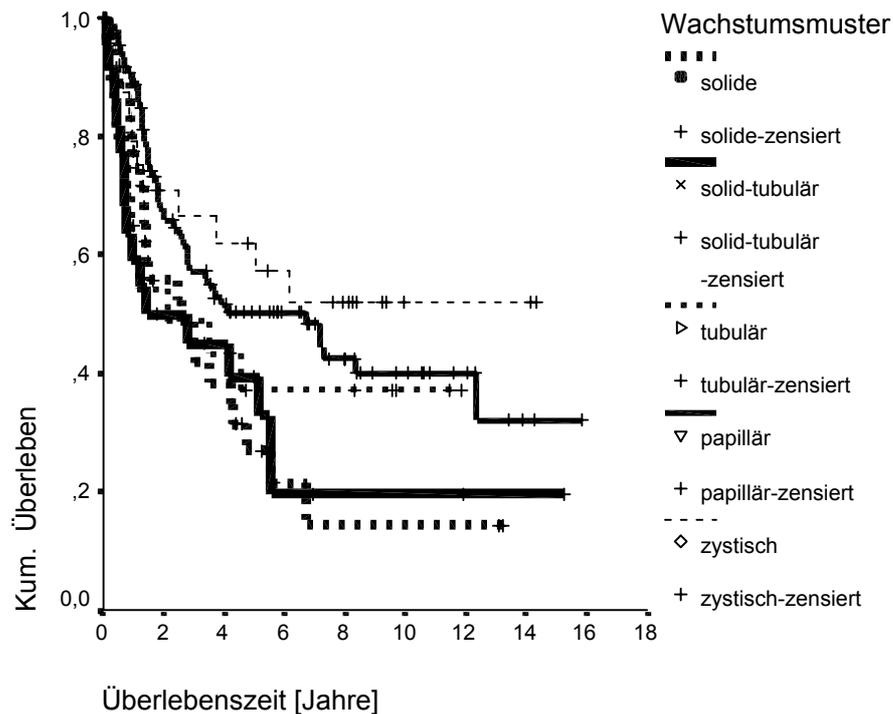


Abbildung 4.5: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für verschiedene Wachstumsmuster im Gesamtkollektiv (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	10,92	4	0,028
Breslow	11,78	4	0,019
Tarone-Ware	11,28	4	0,024

Wachstumsmuster	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
zystisch	25	8,51	1,29
papillär	110	7,72	0,73
tubulär	20	5,27	1,20
solid-tubulär	22	4,77	1,27
solide	39	4,12	0,82

Bei der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Wachstumsmuster und Grading fiel auf, daß die zystisch wachsenden Tumoren den größten Anteil der G1-Tumoren stellten, und daß die soliden Tumoren mit 92,5% den größten Anteil der G3- Tumoren aufwiesen (siehe Tabelle 4.2).

Bei der Verteilung der verschiedenen Wachstumsmuster auf die FIGO-Stadien stellten die zystischen Tumoren relativ betrachtet den größten Anteil am FIGO-Stadium I (50%). Dieser Befund war jedoch nicht signifikant.

Tabelle 4.2: G.O.K.: Wachstumsmuster im Vergleich zum Grading (Chi²= 47,20; df= 4; p<0,001)

			Wachstumsmuster/Grading			Gesamt	
			Grading				
Wachstumsmuster			gut differenziert	mäßig differenziert	schlecht differenziert		
zystisch	Anzahl		11	11	4	26	
	% von Wachstumsmuster		42,3%	42,3%	15,4%	100,0%	
	papillär	Anzahl		11	51	49	111
		% von Wachstumsmuster		9,9%	45,9%	44,1%	100,0%
		tubulär	Anzahl			11	9
% von Wachstumsmuster					55,0%	45,0%	100,0%
solid-tubulär	Anzahl			6	16	22	
	% von Wachstumsmuster			27,3%	72,7%	100,0%	
solide	Anzahl			3	37	40	
	% von Wachstumsmuster			7,5%	92,5%	100,0%	
Gesamt	Anzahl		22	82	115	219	
	% von Wachstumsmuster		10,0%	37,4%	52,5%	100,0%	

Es zeigte sich weiterhin ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Aszites und dem Wachstumsmuster, wobei es bei den solid-tubulären Tumoren am häufigsten zur Ausbildung von Aszites kam (siehe Tabelle 4.3).

Tabelle 4.3: G.O.K.: Wachstumsmuster im Vergleich zum Aszites (Chi²= 14,52; df= 4; p 0,006)

			Aszites		Gesamt
			kein Aszites	Aszites	
Wachstumsmuster	zystisch	Anzahl % von Wachstumsmuster	17 68,0%	8 32,0%	25 100,0%
	papillär	Anzahl % von Wachstumsmuster	69 62,7%	41 37,3%	110 100,0%
	tubulär	Anzahl % von Wachstumsmuster	14 70,0%	6 30,0%	20 100,0%
	solid-tubulär	Anzahl % von Wachstumsmuster	5 22,7%	17 77,3%	22 100,0%
	solide	Anzahl % von Wachstumsmuster	22 56,4%	17 43,6%	39 100,0%
Gesamt		Anzahl % von Wachstumsmuster	127 58,8%	89 41,2%	216 100,0%

Solide wachsende Tumoren neigten am häufigsten und zystische Tumoren am geringsten zur Ausbildung von Nekrose ($p= 0,006$; siehe Tabelle 4.4).

Tabelle 4.4: G.O.K.: Wachstumsmuster im Vergleich zum Grad der Nekrose (Chi²= 14,32; df= 4; p= 0,006)

Wachstumsmuster			NEKROSE				Gesamt
			keine	gering	mäßig	ausgeprägt	
zystisch	Anzahl	6	12	6	3	27	
	% von Wachstumsmuster	22,2%	44,4%	22,2%	11,1%	100,0%	
papillär	Anzahl	6	63	36	6	111	
	% von Wachstumsmuster	5,4%	56,8%	32,4%	5,4%	100,0%	
tubulär	Anzahl	2	10	7	1	20	
	% von Wachstumsmuster	10,0%	50,0%	35,0%	5,0%	100,0%	
solid-tubulär	Anzahl	2	9	8	3	22	
	% von Wachstumsmuster	9,1%	40,9%	36,4%	13,6%	100,0%	
solide	Anzahl		12	21	7	40	
	% von Wachstumsmuster		30,0%	52,5%	17,5%	100,0%	
Gesamt		Anzahl	16	106	78	20	220
		% von Wachstumsmuster	7,3%	48,2%	35,5%	9,1%	100,0%

4.1.6 Histologie

Bei der Untersuchung des Zusammenhanges zwischen Tumortyp und Überlebenszeit zeigte sich, daß Patientinnen mit muzinösen Tumoren Überlebensvorteile hatten (mittlere ÜLZ 8,71 Jahre). Die kürzeste mittlere ÜLZ mit 1,45 Jahren ergab sich für Patientinnen mit undifferenzierten Tumoren. Die mittlere Überlebenszeit von Patientinnen mit serösen, endometrioiden, transitionalen und mesonephroid/clear cell-Tumoren bewegte sich mit nur geringen Unterschieden in einer Spanne von 6,96 bis 5,34 Jahren mittlere ÜLZ. Die Ergebnisse der Statistik ergaben hier keine Signifikanz (siehe Abbildung 4.6).

Ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang bestand zwischen dem Tumortyp und dem Vorhandensein bzw. „nicht-Vorhandensein“ von Aszites.

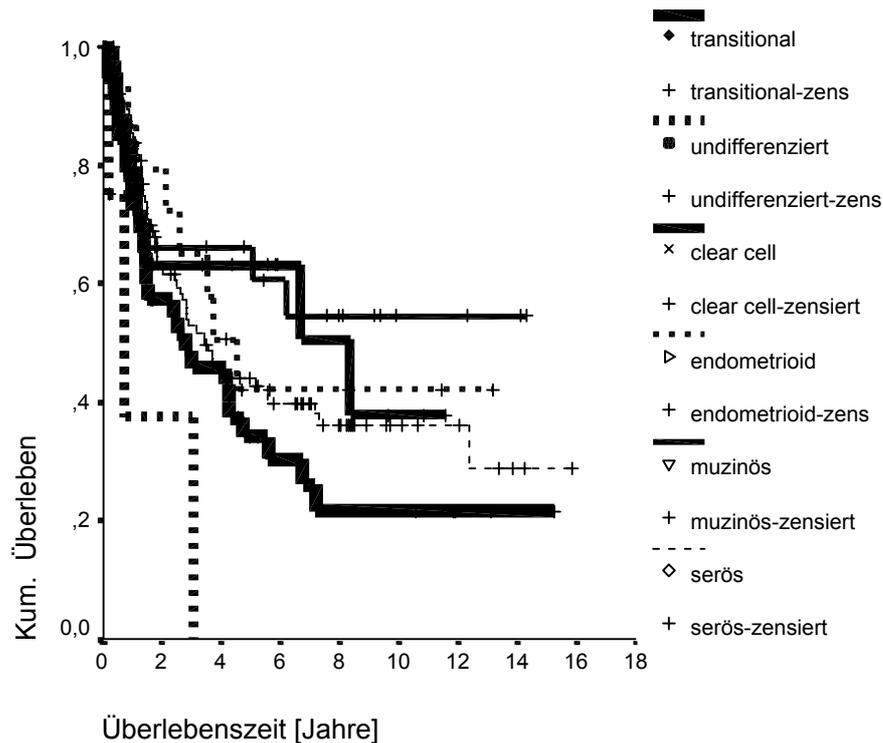


Abbildung 4.6: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für die verschiedenen Tumortypen im Gesamtkollektiv (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	10,46	5	0,063
Breslow	8,10	5	0,151
Tarone-Ware	9,12	5	0,104

Histologie	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
serös	106	6,96	0,70
muzinös	26	8,71	1,34
endometrioid	15	6,96	1,47
mesonephroid/clear cell	19	6,57	1,17
undifferenziert	5	1,45	0,88
transitional	46	5,34	0,95

Die Analyse des Tumortyps im Verhältnis zu anderen Prognosefaktoren wie dem Grading, dem FIGO-Stadium und dem Grad der Nekrose zeigte, zumindest für muzinöse und undifferenzierte Tumoren, eine logische Verbindung zu den Ergebnissen der KMÜ: Die muzinösen Tumoren stellten den größten Anteil gut differenzierter Tumore, den relativ größten Anteil an Tumoren im Stadium FIGO I und neigten am wenigsten zur Nekrosebildung. Die undifferenzierten Tumoren waren dagegen ausschließlich schlecht differenziert, stellen den relativ größten Anteil der Tumoren im Stadium FIGO IV und neigten am häufigsten zur Nekrosebildung.

Die Zusammenhänge zwischen Tumortyp und Grading, FIGO-Stadium und Nekrose sind jeweils signifikant (Ergebnisdarstellung mittels Kreuztabellen und Chi²-Test nach Pearson siehe unten).

Tabelle 4.5: G.O.K.: Tumortyp im Vergleich zum Grading (Chi²= 47,63; df 5= p<0,001)

			Grading			Gesamt
			gut differenziert	mäßig differenziert	schlecht differenziert	
Histologie	serös	Anzahl	10	50	47	107
		% von Histologie	9,3%	46,7%	43,9%	100,0%
	muzinös	Anzahl	12	10	5	27
		% von Histologie	44,4%	37,0%	18,5%	100,0%
	endometrioid	Anzahl		11	4	15
		% von Histologie		73,3%	26,7%	100,0%
	clear cell	Anzahl		5	14	19
		% von Histologie		26,3%	73,7%	100,0%
	undifferenziert	Anzahl			5	5
		% von Histologie			100,0%	100,0%
	transitional	Anzahl		7	40	47
		% von Histologie		14,9%	85,1%	100,0%
Gesamt		Anzahl	22	83	115	220
		% von Histologie	10,0%	37,7%	52,3%	100,0%

Tabelle 4.6: G.O.K.: Tumortyp im Vergleich zum FIGO-Stadium (Chi²= 14,87; df= 5; p 0,011)

			FIGO-Stadium				Gesamt
			I	II	III	IV	
Histologie	serös	Anzahl	29	14	51	12	106
		% von Histologie	27,4%	13,2%	48,1%	11,3%	100,0%
	muzinös	Anzahl	14	2	3	5	24
		% von Histologie	58,3%	8,3%	12,5%	20,8%	100,0%
	endometrioid	Anzahl	3	6	1	5	15
		% von Histologie	20,0%	40,0%	6,7%	33,3%	100,0%
	clear cell	Anzahl	9	3	5	2	19
		% von Histologie	47,4%	15,8%	26,3%	10,5%	100,0%
	undifferenziert	Anzahl			2	3	5
		% von Histologie			40,0%	60,0%	100,0%
	transitional	Anzahl	4	13	23	7	47
		% von Histologie	8,5%	27,7%	48,9%	14,9%	100,0%
Gesamt		Anzahl	59	38	85	34	216
		% von Histologie	27,3%	17,6%	39,4%	15,7%	100,0%

Tabelle 4.7: G.O.K.: Tumortyp im Vergleich zum Grad der Nekrose (Chi²= 15,33; df= 5; p 0,009)

			NEKROSE				Gesamt
			keine	gering	mäßig	ausgeprägt	
Histologie	serös	Anzahl	7	62	31	7	107
		% von Histologie	6,5%	57,9%	29,0%	6,5%	100,0%
	muzinös	Anzahl	6	14	7	1	28
		% von Histologie	21,4%	50,0%	25,0%	3,6%	100,0%
	endometrioid	Anzahl	1	5	7	2	15
		% von Histologie	6,7%	33,3%	46,7%	13,3%	100,0%
	clear cell	Anzahl	1	6	10	2	19
		% von Histologie	5,3%	31,6%	52,6%	10,5%	100,0%
	undifferenziert	Anzahl		2	1	2	5
		% von Histologie		40,0%	20,0%	40,0%	100,0%
	transitional	Anzahl	1	18	22	6	47
		% von Histologie	2,1%	38,3%	46,8%	12,8%	100,0%
Gesamt		Anzahl	16	107	78	20	221
		% von Histologie	7,2%	48,4%	35,3%	9,0%	100,0%

Wie der Tabelle 4.8 zu entnehmen ist, bevorzugten verschiedene Tumortypen verschiedene Wachstumsmuster: Die deutlichsten Präferenzen zeigten die serösen Tumoren mit 81% papillärem Wachstum, die muzinösen Tumoren mit 79% zystischem Wachstum und die undifferenzierten Tumoren mit 80% solidem Wachstum.

Tabelle 4.8: G.O.K.:Tumortyp im Vergleich zu den verschiedenen Wachstumsmustern

			Format					Gesamt
			zystisch	papillär	tubulär	solid-tubulär	solide	
Histologie	serös	Anzahl	2	86	4	8	6	106
		% von Histologie	1,9%	81,1%	3,8%	7,5%	5,7%	100,0%
	muzinös	Anzahl	22	4	2			28
		% von Histologie	78,6%	14,3%	7,1%			100,0%
	endometrioid	Anzahl	1	1	11		2	15
		% von Histologie	6,7%	6,7%	73,3%		13,3%	100,0%
	clear cell	Anzahl		12	2	3	2	19
		% von Histologie		63,2%	10,5%	15,8%	10,5%	100,0%
	undifferenziert	Anzahl				1	4	5
		% von Histologie				20,0%	80,0%	100,0%
	transitional	Anzahl	2	8	1	10	26	47
		% von Histologie	4,3%	17,0%	2,1%	21,3%	55,3%	100,0%
Gesamt	Anzahl	27	111	20	22	40	220	
	% von Histologie	12,3%	50,5%	9,1%	10,0%	18,2%	100,0%	

4.1.7 Nekrose

Die Nekroseneigung von Tumorgewebe gehört wie das Wachstumsmuster nicht zu den eigentlichen klassischen Prognosefaktoren beim Ovarialkarzinom, wurde hier aber zusammen mit diesen auf eine mögliche prognostische Bedeutung hin untersucht.

Es ergab sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Grad der Tumornekrose und der Überlebenszeit im Gesamtkollektiv. Dies stellte sich jedoch anders für das Patientinnenkollektiv mit postoperativem Resttumor dar. Hier hatten die Patientinnen mit „geringer“ und „mäßiger Nekrose“ deutliche Überlebensvorteile gegenüber Patientinnen „ohne“ oder mit „ausgeprägter Nekrose“ ($p = 0,001$; siehe Abbildung 4.7).

Ein signifikanter Zusammenhang bestand ferner zwischen dem Grad der Nekrose und dem Grading (Kendall's Tau= 0,505; $p < 0,001$. Spearman's Rho= 0,543; $p < 0,001$).

Keine signifikanten Korrelationen ergaben sich zwischen dem Grad der Nekrose und dem Aszites einerseits sowie dem FIGO-Stadium andererseits.

Die Zusammenhänge zwischen dem Grad der Tumornekrose, der Tumorphistologie und dem Wachstumsmuster waren jeweils signifikant und sind in den entsprechenden Kapiteln bereits dargestellt worden (4.1.5, 4.1.6).

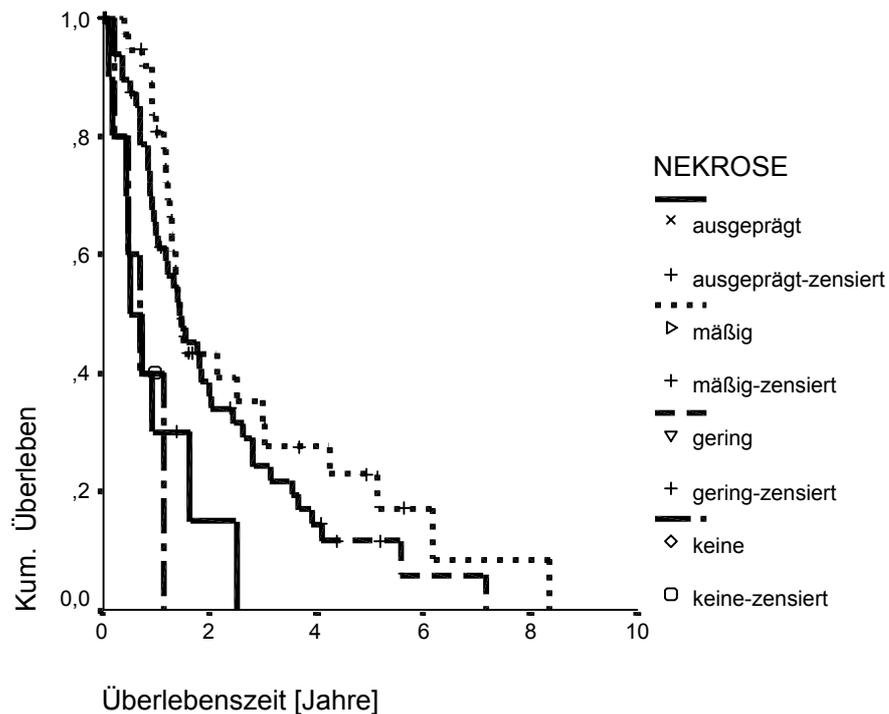


Abbildung 4.7: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für den Grad der Tumornekrose im Kollektiv der Patientinnen mit postoperativem Resttumor (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	15,61	3	0,001
Breslow	16,82	3	0,001
Tarone-Ware	16,13	3	0,001

Nekrose	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
keine Nekrose	5	0,73	0,19
geringe Nekrose	49	2,14	0,29
mäßige Nekrose	38	2,79	0,45
ausgeprägte Nekrose	12	0,94	0,27.

4.2 Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe

Von den insgesamt 210 ausgewerteten Fällen zeigten wie in Abbildung 4.8 dargestellt 16,7% keine Expression, 15,7% eine geringe Expression, 31,9% eine mäßige Expression und 35,7% eine starke Expression von CA 12-5. Beispiele sind in Abbildung 4.14 A und B wiedergegeben.

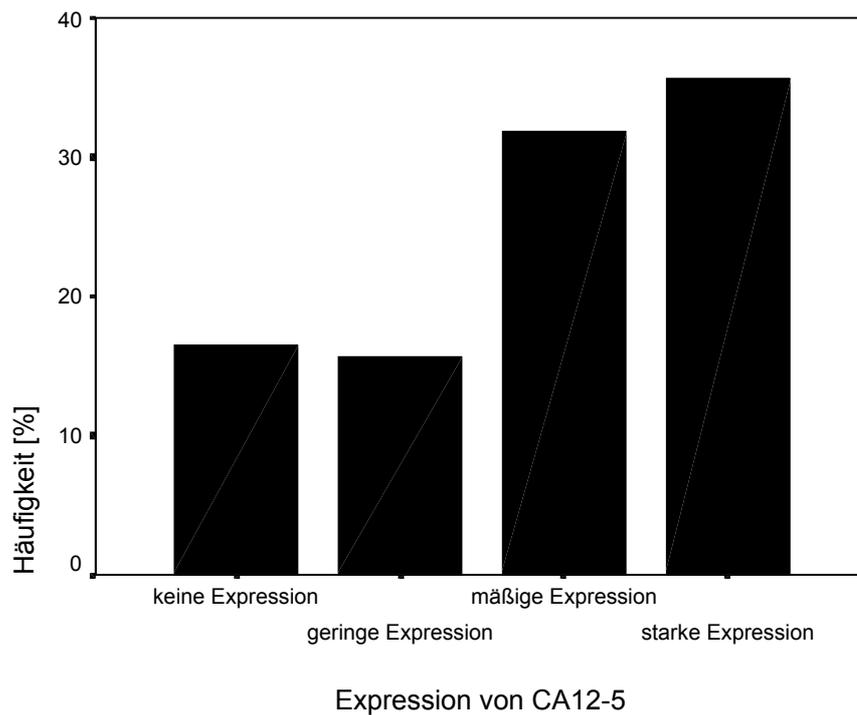


Abbildung 4.8: G.O.K.: Expression von CA12-5 im Tumorgewebe

Die Verteilung auf die verschiedenen histologischen Typen ist in Tabelle 4.9 dargestellt.

Hier sieht man, daß sowohl der Großteil der serösen Tumoren als auch der clear cell-Tumoren und der transitionalen Tumoren eine mäßige bis starke Expression zeigten, während der Großteil der muzinösen, der endometrioiden und der undifferenzierten Tumoren CA 12-5 nicht oder nur gering exprimierten. Dieses Ergebnis bestätigte folglich den signifikanten Zusammenhang von histologischem Tumortyp und der CA 12-5 Expression im Tumorgewebe.

Kein Zusammenhang bestand zwischen der zellulären Lokalisation und der Stärke der Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe.

Tabelle 4.9: G.O.K.: Tumortyp im Verhältnis zur Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe (Chi²= 41,73; df 5=; p<0,001)

Expression von CA12-5/Histologie

			Expression von CA12-5				Gesamt
			keine Expression	geringe Expression	mäßige Expression	starke Expression	
Histologie	serös	Anzahl	6	14	35	46	101
		% von Histologie	5,9%	13,9%	34,7%	45,5%	100,0%
	muzinös	Anzahl	14	7		5	26
		% von Histologie	53,8%	26,9%		19,2%	100,0%
	endometrioid	Anzahl	7	1	6	1	15
		% von Histologie	46,7%	6,7%	40,0%	6,7%	100,0%
	clear cell	Anzahl	2	4	7	6	19
		% von Histologie	10,5%	21,1%	36,8%	31,6%	100,0%
	undifferenziert	Anzahl	3		1	1	5
		% von Histologie	60,0%		20,0%	20,0%	100,0%
	transitional	Anzahl	3	7	18	16	44
		% von Histologie	6,8%	15,9%	40,9%	36,4%	100,0%
Gesamt		Anzahl	35	33	67	75	210
		% von Histologie	16,7%	15,7%	31,9%	35,7%	100,0%

Betrachtet man die Verteilung der CA 12-5-Expression in Bezug zu verschiedenen Wachstumsmustern, zeigten papilläre Tumoren häufig eine starke Expression (45,8%); wohingegen zystische (46,2%) und tubuläre Tumoren (42,1%) oft keine Expression aufwiesen. Es bestand mithin ein signifikanter Zusammenhang zwischen Wachstumsmuster und CA 12-5-Expression im Tumorgewebe (siehe Tabelle 4.10).

Tabelle 4.10: G.O.K.: Wachstumsmuster im Verhältnis zur Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe ($\chi^2 = 35,39$; $df = 4$; $p < 0,001$)

			Wachstumsmuster/Expression von CA12-5				Gesamt
			keine Expression	geringe Expression	mäßige Expression	starke Expression	
Wachstumsmuster	zystisch	Anzahl	12	6	3	5	26
		% von Wachstumsmuster	46,2%	23,1%	11,5%	19,2%	100,0%
	papillär	Anzahl	8	16	34	49	107
		% von Wachstumsmuster	7,5%	15,0%	31,8%	45,8%	100,0%
	tubulär	Anzahl	8	5	4	2	19
		% von Wachstumsmuster	42,1%	26,3%	21,1%	10,5%	100,0%
	solid-tubulär	Anzahl	1	2	10	7	20
		% von Wachstumsmuster	5,0%	10,0%	50,0%	35,0%	100,0%
	solide	Anzahl	6	4	16	11	37
		% von Wachstumsmuster	16,2%	10,8%	43,2%	29,7%	100,0%
Gesamt		Anzahl	35	33	67	74	209
		% von Wachstumsmuster	16,7%	15,8%	32,1%	35,4%	100,0%

Zur Korrelation der Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe und anderen Faktoren siehe Tabelle 4.11. Wie in der Tabelle dargestellt, bestanden signifikante Korrelationen nur mit der Expression von CA 15-3 und CEA, wobei die Korrelation zu CEA sich invers darstellte.

Tabelle 4.11: G.O.K.: Korrelation zwischen der Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe und anderen Faktoren

Parameter	Spearman Rho	Signifikanz (2-seitig)	Kendall's Tau	Signifikanz (2-seitig)
Menge des Aszites	0,13	0,853	0,12	0,849
Grad der Nekrose	-0,38	0,579	-0,34	0,57
Expression CA 15-3	0,217	0,002	0,186	0,002
Expression CEA	-0,299	<0,001	-0,274	<0,001
FIGO-Stadium	0,35	0,621	0,31	0,599
Tumorigradung	0,34	0,628	0,29	0,635

Kein signifikanter Zusammenhang zeigte sich zwischen der Intensität der CA 12-5 Expression im Tumorgewebe und der Überlebenszeit.

Bei den Patientinnen mit postoperativem Resttumor ergaben sich allerdings signifikante Überlebensvorteile für solche Patientinnen, deren Tumoren CA 12-5 stark exprimierten (siehe Abbildung 4.9).

Außerdem bestand für die Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe eine signifikante Abhängigkeit der mittleren Überlebenszeit von der zellulären Expressionslokalisation, wobei Patientinnen, deren Tumoren das Antigen apikal exprimierten, eine mittlere Überlebenszeit von 8,26 Jahren hatten, solche mit zytoplasmatischer Expression eine mittlere ÜLZ von 5,03 Jahren und Patientinnen mit membranöser Expression eine mittlere ÜLZ von nur noch 3,15 Jahren ($p=0,0001$) hatten. Die mittlere ÜLZ von Patientinnen mit membranöser Expression sank somit im Vergleich zu der von Patientinnen mit apikaler (polar gerichteter) Expression um 62% (siehe Abbildung 4.10).

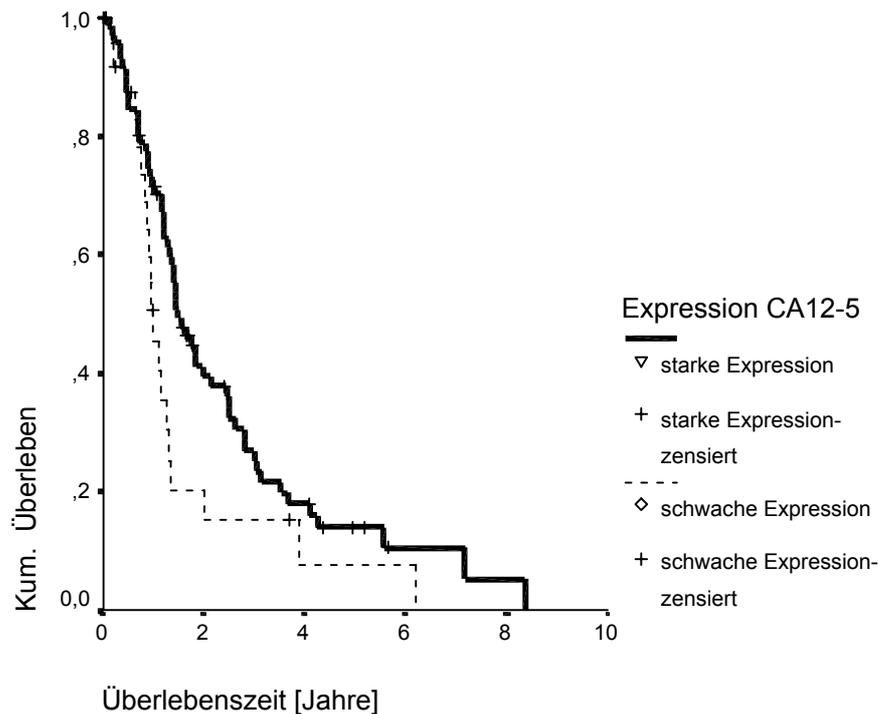


Abbildung 4.9: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für die Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe; Kollektiv der Patientinnen mit postoperativem Resttumor (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	4,08	1	0,0433
Breslow	4,59	1	0,0321
Tarone Ware	4,70	1	0,0301

Expression	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
schwach	26	1,56	0,37
stark	73	2,41	0,29

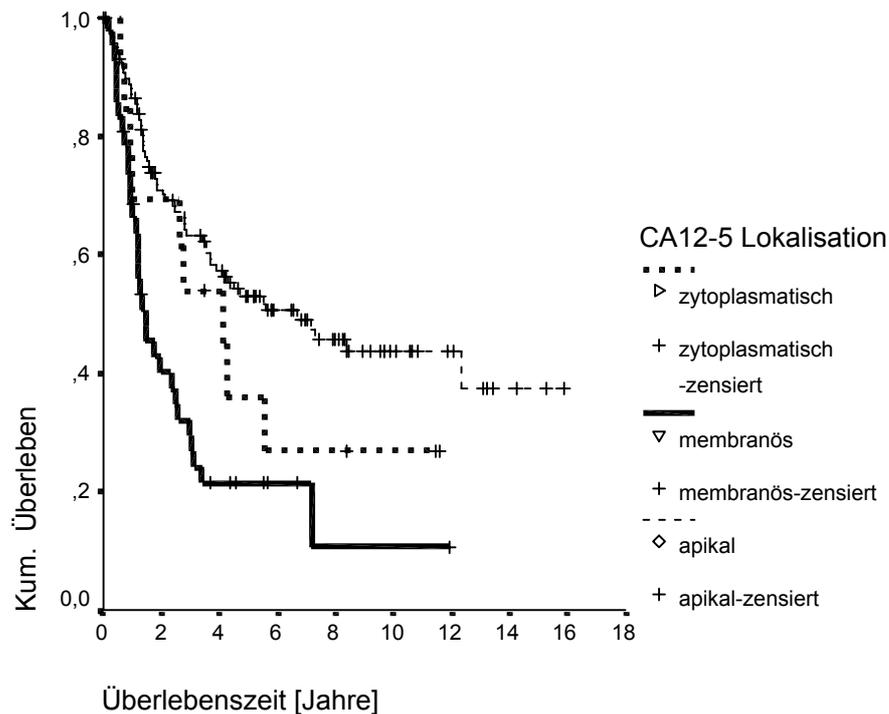


Abbildung 4.10: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für CA 12-5 im Tumorgewebe in Abhängigkeit von der zellulären Expressionslokalisierung (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	19,64	2	0,0001
Breslow	18,48	2	0,0001
Tarone Ware	19,41	2	0,0001

Färbelokalisation	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
zytoplasmatisch	13	5,03	1,21
membranös	42	3,15	0,66
apikal	119	8,26	0,68

4.3 CA 12-5 - Serumwerte

Obwohl der Verlauf der CA 12-5-Serumwerte bereits als bedeutender Prognosefaktor etabliert ist (Münstedt et al., 1997), ergab sich im G.O.K. kein Überlebensvorteil für Patientinnen mit niedrigeren CA 12-5 Ausgangswerten im Serum.

Im Vergleich von CA 12-5 im Tumorgewebe mit den korrespondierenden Serumwerten zeigte die Gruppe mit tumorzellulärer Expression deutlich höhere Mittelwerte als die Gruppe ohne tumorzelluläre Expression. Die relativ geringe Zahl analysierbarer Fälle limitierte jedoch eine statistische Analyse (siehe Tabelle 4.12).

Analog zu den Ergebnissen für die tumorzelluläre Expression von CA 12-5 und die prognostische Bedeutung ihrer zellulären Lokalisation (siehe Kapitel 4.2), wurde zudem ein möglicher Zusammenhang zwischen der Expressionslokalisierung von CA 12-5 und der Höhe der entsprechenden Serumwerte untersucht; auch hier war die geringe Fallzahl nicht ausreichend für ein statistisch abzusicherndes Ergebnis.

Tabelle 4.12: G.O.K.: Präoperative CA 12-5-Serumwerte; deskriptive Statistik für Tumoren mit und ohne Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe

CA 12-5 prä- OP	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardab- weichung
Tumoren ohne CA 12-5- Expression	5	24,00	831,00	392,0	337,97
Tumoren mit CA 12-5- Expression	31	26,00	5806,00	1358,58	1761,83

Bei der Untersuchung des Zusammenhangs von Expression im Serum „Ja/Nein“ zur Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe „Ja/Nein“ fiel auf, daß in 38,6% der Fälle mit tumorzellulärer Expression von CA 12-5 das Antigen im Serum dennoch nicht erhöht nachzuweisen war. Andererseits war in 37,5% der Fälle ohne tumorzelluläre Expression der Marker erhöht im Serum nachweisbar, was allerdings nur 6 Fällen entsprach. In 61,4% der Fälle mit tumorzellulärer Expression waren auch erhöhte Serumwerte nachweisbar (siehe Tabelle 4.13; hier eingeschlossen auch postoperative CA 12-5-Serumwerte).

Tabelle 4.13: G.O.K.: Expression von CA 12-5 im Serum im Vergleich zur Expression im Tumorgewebe (n.s.)

Expression CA12-5 im Tumorgewebe/ Expression CA12-5 im Serum

			Expression CA12-5 im Serum		Gesamt
			keine Expression	Expression	
Expression CA12-5 im Tumorgewebe	keine Expression	Anzahl % von Expression CA12-5 im Tumorgewebe	10 62,5%	6 37,5%	16 100,0%
	Expression	Anzahl % von Expression CA12-5 im Tumorgewebe	34 38,6%	54 61,4%	88 100,0%
Gesamt		Anzahl % von Expression CA12-5 im Tumorgewebe	44 42,3%	60 57,7%	104 100,0%

4.4 Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe

Von den 214 auszuwertenden Tumorfällen zeigten 16,4% keine Expression von CA 15-3, 20,6% eine geringe, 37,4% eine mäßige und 25,7% eine starke Expression (siehe hierzu Abbildung 4.11). Beispiele des immunhistologischen Reaktionsspektrums sind in Abbildung 4.14 C und D gezeigt.

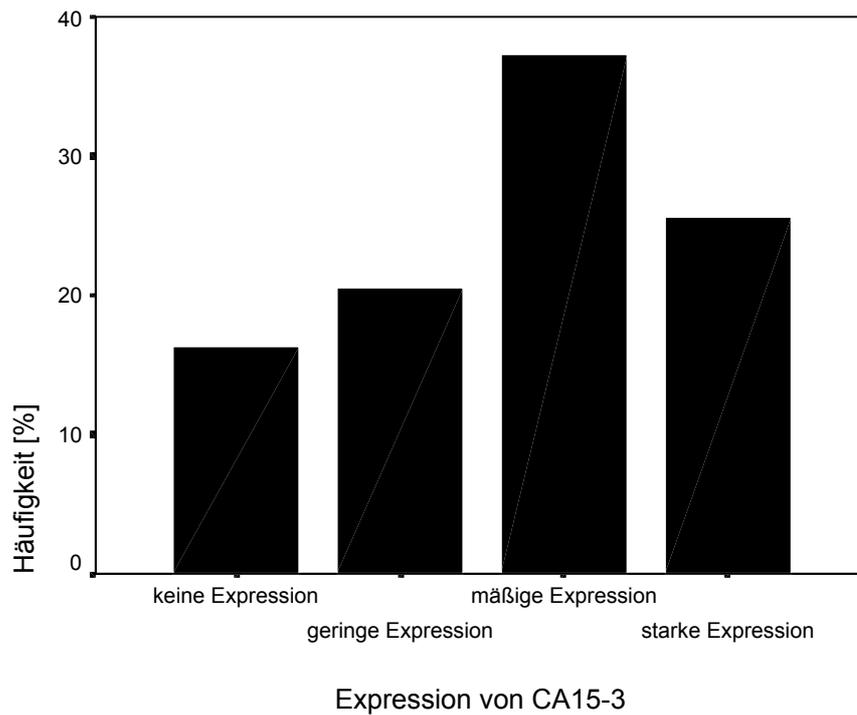


Abbildung 4.11: G.O.K.: Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe

Die Verteilung auf die verschiedenen histologischen Typen ist in Tabelle 4.14 dargestellt. Bereits in der Kreuztabelle erkennt man - ähnlich wie bei der CA 12-5 Expression -, daß seröse, transitionale und clear cell-Tumoren CA 15-3 oft mäßig oder stark exprimierten, während es sich bei muzinösen, endometrioiden und undifferenzierten Tumoren genau umgekehrt verhielt .

Es zeigte sich hier ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumortyp und der Stärke der Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe.

Wie bei CA 12-5 fand sich, im Gegensatz zum Tumortyp, keine signifikante Abhängigkeit von CA 15-3 im Tumorgewebe von der zellulären Lokalisation der Expression.

Tabelle 4.14: G.O.K.: Tumortyp im Vergleich zur Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe (Chi²= 55,08; df= 5; p<0,001)

			Expression von CA15-3				Gesamt
			keine Expression	geringe Expression	mäßige Expression	starke Expression	
Histologie	serös	Anzahl	7	25	38	36	106
		% von Histologie	6,6%	23,6%	35,8%	34,0%	100,0%
	muzinös	Anzahl	17	5		1	23
		% von Histologie	73,9%	21,7%		4,3%	100,0%
	endometrioid	Anzahl	5	4	6		15
		% von Histologie	33,3%	26,7%	40,0%		100,0%
	clear cell	Anzahl	2	6	7	3	18
		% von Histologie	11,1%	33,3%	38,9%	16,7%	100,0%
	undifferenziert	Anzahl	2	1		2	5
		% von Histologie	40,0%	20,0%		40,0%	100,0%
	transitional	Anzahl	2	3	29	13	47
		% von Histologie	4,3%	6,4%	61,7%	27,7%	100,0%
Gesamt		Anzahl	35	44	80	55	214
		% von Histologie	16,4%	20,6%	37,4%	25,7%	100,0%

Wie in Tabelle 4.15 dargestellt bestand aber ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe und dem Wachstumsmuster. 81,8% der zystischen und 60% der tubulären Tumoren entfielen auf die Gruppen „keine“ und „geringe Expression“, wohingegen 66,1% der papillären, 77,2% der solid-tubulären und 82,5% der soliden Tumoren eine mäßige oder starke Expression zeigten.

Tabelle 4.15: G.O.K.: Wachstumsmuster im Verhältnis zur Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe (Chi²= 32,35; df= 4; p <0,001)

			Expression von CA15-3				Gesamt
			keine Expression	geringe Expression	mäßige Expression	starke Expression	
Wachstumsmuster	zystisch	Anzahl	13	5	3	1	22
		% von Wachstumsmuster	59,1%	22,7%	13,6%	4,5%	100,0%
	papillär	Anzahl	9	28	39	33	109
		% von Wachstumsmuster	8,3%	25,7%	35,8%	30,3%	100,0%
	tubulär	Anzahl	7	5	6	2	20
% von Wachstumsmuster		35,0%	25,0%	30,0%	10,0%	100,0%	
solid-tubulär	Anzahl	2	3	12	5	22	
	% von Wachstumsmuster	9,1%	13,6%	54,5%	22,7%	100,0%	
solide	Anzahl	4	3	19	14	40	
	% von Wachstumsmuster	10,0%	7,5%	47,5%	35,0%	100,0%	
Gesamt		Anzahl	35	44	79	55	213
		% von Wachstumsmuster	16,4%	20,7%	37,1%	25,8%	100,0%

Zur Korrelation der Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe mit anderen Faktoren siehe Tabelle 4.16. Signifikante Korrelationen von CA 15-3 bestanden für das FIGO-Stadium, das Tumorgrading und - invers - für die Expression von CEA.

Tabelle 4.16: G.O.K.: Korrelation der Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe mit anderen Faktoren

Parameter	Spearman Rho	Signifikanz (2-seitig)	Kendall's Tau	Signifikanz (2-seitig)
Menge des Aszites	0,112	0,105	0,100	0,103
Grad der Nekrose	0,121	0,076	0,107	0,072
Expression CEA	-0,276	<0,001	-0,250	<0,001
FIGO-Stadium	0,241	<0,001	0,209	<0,001
Tumorgrading	0,343	<0,001	0,309	<0,001

Die Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse an dem Gesamtkollektiv konnte keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe und der Überlebenszeit ausweisen, insbesondere auch nicht im Zusammenhang mit der zellulären Expressionslokalisierung.

In der Überlebenszeitanalyse der Patientinnen mit postoperativem Resttumor ergaben sich dagegen für die Fälle mit der stärkeren Expression des Antigens deutliche Überlebensvorteile ($p= 0,009$). Hier wurden für die Analyse 3 Gruppen gebildet: „Keine Expression“, „starke Expression“ und eine geringe sowie mäßige wurden jeweils zusammengefaßt zu einer „mittleren Expression“ (siehe Abbildung 4.12).

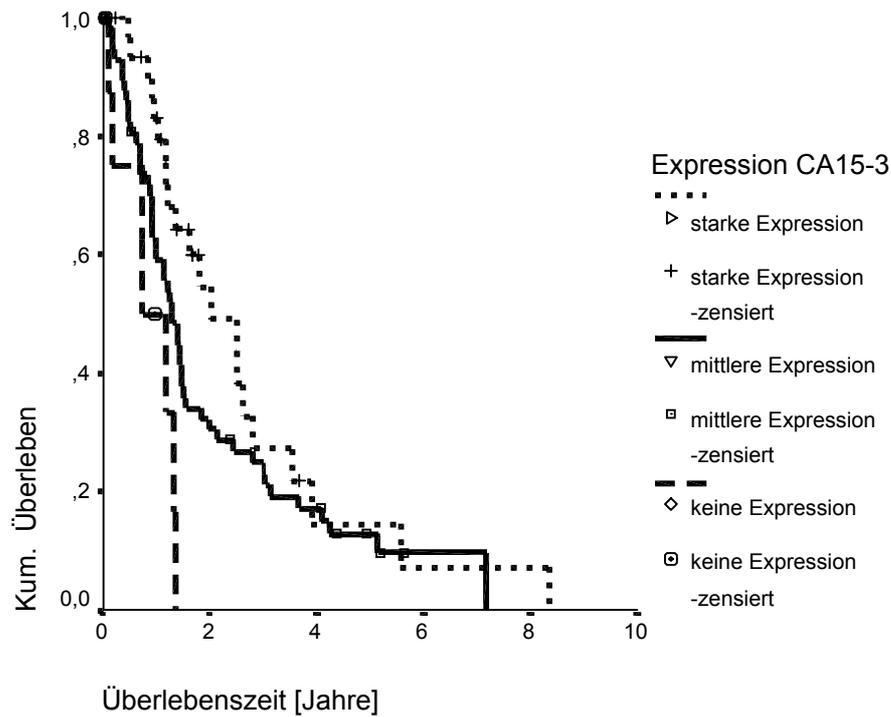


Abbildung 4.12: G.O.K.: Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse für die Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe; Kollektiv der Patientinnen mit postoperativem Resttumor (Ergebnisse der Statistik siehe unten)

Expression	Anzahl der Fälle	mittlere Überlebenszeit [Jahre]	Standard Error
keine	9	0,85	0,18
mittelstark	59	2,07	0,28
stark	32	2,68	0,47

	Statistik	df	Signifikanzniveau
Log Rank	9,33	2	0,009
Breslow	9,74	2	0,008
Tarone-Ware	9,64	2	0.008

4.5 Expression von CEA im Tumorgewebe

Abbildung 4.13 zeigt, daß 90% der Tumoren im G.O.K. keine Expression von CEA im Tumorgewebe aufwiesen, 5,9% eine geringe Expression, 3,2% eine mäßige Expression und nur 0,9% eine starke Expression. Beispiele der Immunreaktivität sind in Abbildung 4.14 E und F illustriert.

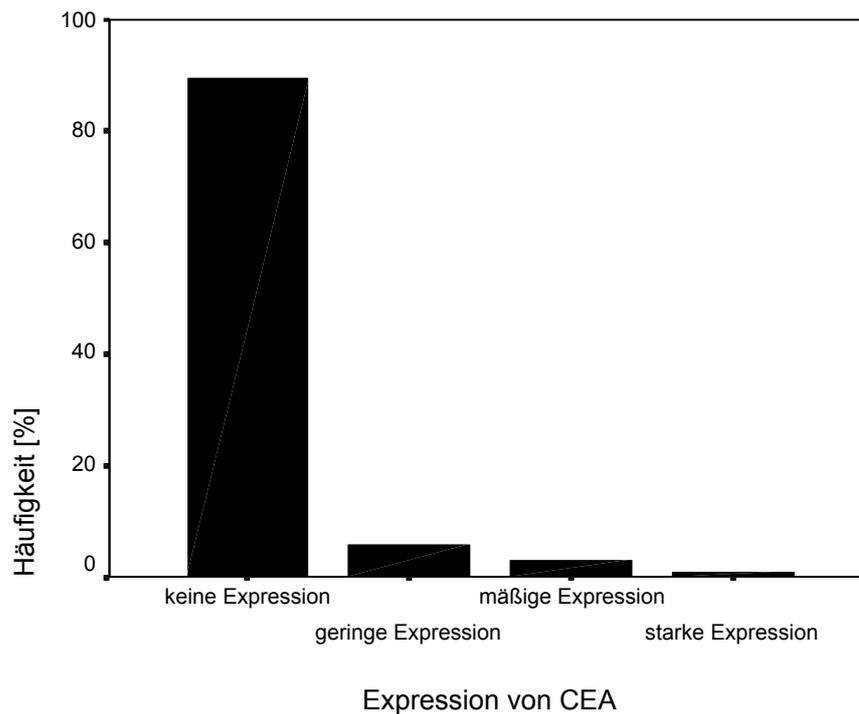


Abbildung 4.13: G.O.K.: Expression von CEA im Tumorgewebe

Muzinöse Tumoren waren die einzigen Tumortypen, die in größerer Zahl CEA exprimierten (53,8%). Die clear cell- und undifferenzierten Tumoren zeigten generell keine Expression von CEA. Der Zusammenhang zwischen tumorzellulärer Expression von CEA und Tumortyp erwies sich deshalb als hochsignifikant (siehe Tabelle 4.17).

Tabelle 4.17: G.O.K.: Tumortyp im Verhältnis zur Expression von CEA im Tumorgewebe (Chi²= 78,45; df= 5; p<0,001)

			Expression von CEA				Gesamt
			keine Expression	geringe Expression	mäßige Expression	starke Expression	
Histologie	serös	Anzahl	106		1		107
		% von Histologie	99,1%		,9%		100,0%
	muzinös	Anzahl	12	10	3	1	26
		% von Histologie	46,2%	38,5%	11,5%	3,8%	100,0%
	endometrioid	Anzahl	10	1	3	1	15
		% von Histologie	66,7%	6,7%	20,0%	6,7%	100,0%
	clear cell	Anzahl	19				19
		% von Histologie	100,0%				100,0%
	undifferenziert	Anzahl	5				5
		% von Histologie	100,0%				100,0%
	transitional	Anzahl	45	2			47
		% von Histologie	95,7%	4,3%			100,0%
Gesamt		Anzahl	197	13	7	2	219
		% von Histologie	90,0%	5,9%	3,2%	,9%	100,0%

Wegen der geringen Gesamtzahl CEA exprimierender Tumoren wird auf die Darstellung der Beziehungen zum Wachstumsmuster und zur zellulären CEA-Lokalisation verzichtet.

Zur Korrelation der Expression von CEA im Tumorgewebe mit anderen Faktoren siehe Tabelle 4.18.

Es bestand eine inverse Korrelation zum Tumorgrading.

Auf die ebenfalls inverse Beziehung der Expression von CEA zur Expression von CA 12-5 und CA 15-3 im Tumorgewebe wurde bereits in den vorangegangenen Kapiteln hingewiesen.

Tabelle 4.18: G.O.K.: Korrelation der Expression von CEA im Tumorgewebe mit anderen Faktoren

Parameter	Spearman's Rho	Signifikanz (2-seitig)	Kendall's Tau	Signifikanz (2-seitig)
Aszites	0,059	0,389	0,059	0,388
Grad der Nekrose	-0,077	0,256	-0,073	0,255
FIGO-Stadium	0,022	0,754	0,020	0,753
Tumorgrading	-0,269	<0,001	-0,260	<0,001

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression von CEA und der Überlebenszeit wurde nicht festgestellt.

Weiterhin ergeben sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Expression von CEA und der Überlebenswahrscheinlichkeit im Kollektiv der Patientinnen mit postoperativem Resttumor.

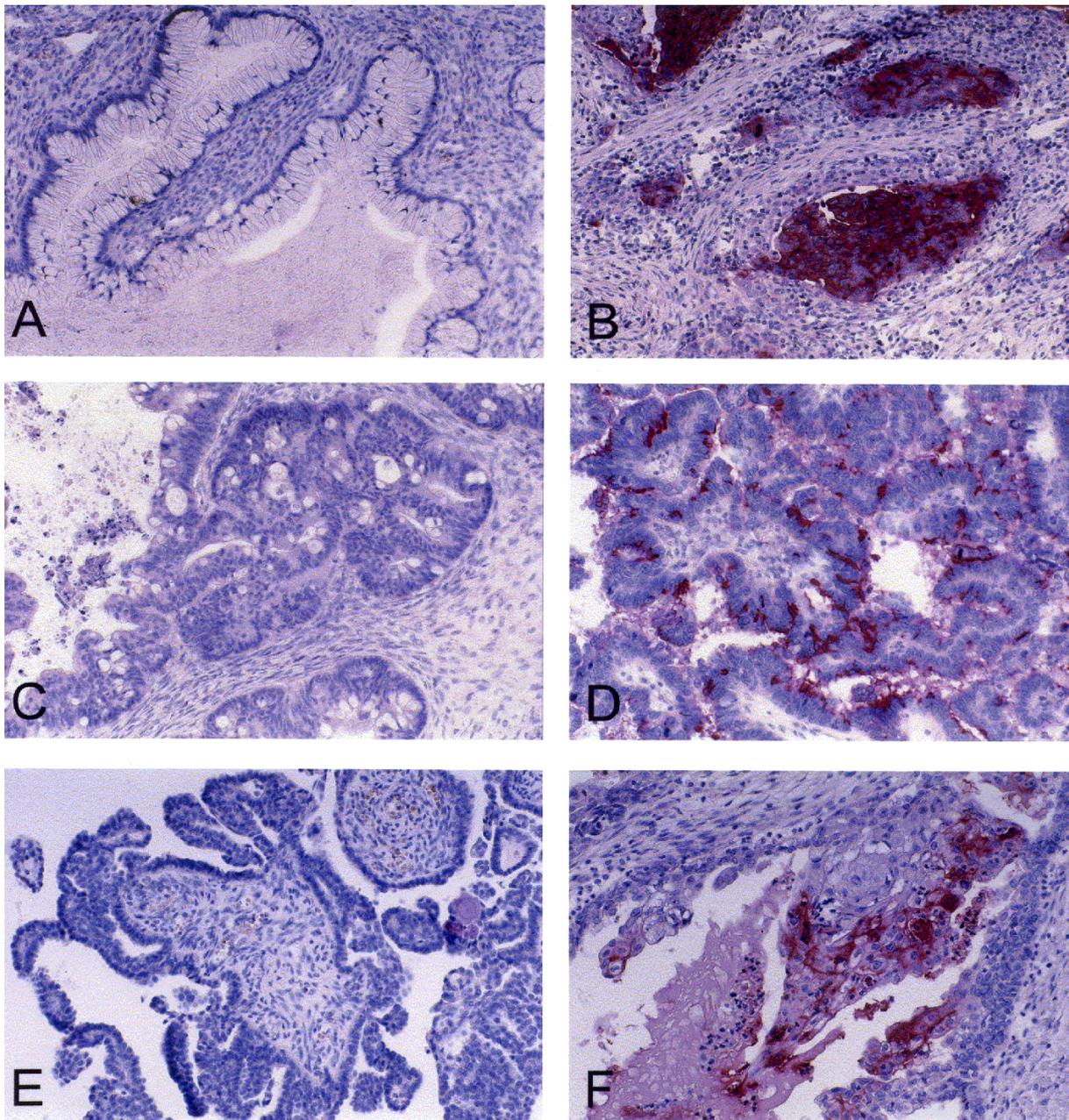


Abb. 4.14 A-F : Beispiele der immunhistochemischen Reaktionsmuster von anti-Tumormarker CA 12-5 (A und B), CA 15-3 (C und D) sowie CEA (E und F) an Ovarialkarzinomen des G.O.K.. Jeweils ist ein den Tumormarker nicht exprimierendes Karzinom (A ,C und E) einem exprimierenden Karzinom (B,D und F) gegenübergestellt. Die in der APAAP-Technik erzielte Detektion stellt sich in einem rot-farbigem Reaktionsprodukt zumeist an den Zelloberflächen der Tumorzellen dar. Im Gegensatz zu CA 12-5 und CA 15-3 betrifft die CEA-Immunoreaktivität nur vereinzelte Tumorzellgruppen und ist bei Ovarialkarzinomen vergleichsweise schwach ausgeprägt.

Es ist das Ziel zahlreicher Bemühungen, anhand von zuverlässigen Prognosefaktoren eine für jeden Patienten individuelle, möglichst Risiko-adaptierte und Prognose-orientierte Therapie zu finden, die den größtmöglichen Gewinn an Lebenszeit mit der größtmöglichen Lebensqualität vereint. Als Voraussetzung für die Entwicklung von Algorithmen, die eine Kalkulation des individuellen Risikos erlauben, wurden zahlreiche Studien zu prognostischen Faktoren durchgeführt, von denen einige exemplarisch hier dargestellt sind:

- Mutationen des viel untersuchten Tumorsuppressorgens p53 zeigten keinen Einfluß auf die Prognose beim Ovarialkarzinom (Fallows et al., 2001)
- bei den beiden Rezeptoren für onkogenetische Wachstumsfaktoren Her-2/neu (auch bekannt unter dem Namen C-erbB2) und EGFR fand sich nur EGFR als unabhängiger Prognosefaktor, jedoch beschränkt auf Ovarialkarzinome im Stadium FIGO I und II (Skirnisdottir et al., 2001)
- die Apoptosemarker Bax, Bcl-x(L) und Mcl-1 haben jeweils alleine keine prognostische Aussagekraft. Lediglich Bax- und Bcl-2-Expression zusammen betrachtet ergaben einen unabhängigen Prognosefaktor, jedoch nur für die Untergruppe der Ovarialkarzinome im Stadium FIGO III (Baekelandt et al., 2000)
- durchflußzytometrische DNA-Quantifizierung zeigte sich als unabhängiger Prognosefaktor beim Ovarialkarzinom, jedoch nur für die Untergruppe der Tumoren im Stadium FIGO I und II (Valverde et al., 2001)
- das Kallikrein-Gen 5 (KLK5) ist ein unabhängiger Prognosefaktor, jedoch wieder nur für die Untergruppe der Ovarialkarzinome im Stadium FIGO I und II (Kim et al., 2001)
- bei den Steroidhormonrezeptoren zeigte sich die Kombination ER-PR+ als günstiger Prognosefaktor, wobei diese Kombination nur in etwa 10% der Tumoren zu finden ist (Münstedt et al., 2000)
- der Zellproliferationsmarker Ki-67 (auch bekannt als MIB 1) zeigte sich zwar als unabhängiger Prognosefaktor hinsichtlich der Tumorprogression, jedoch nicht hinsichtlich der Überlebenszeit (Sengupta et al., 2000).

Da Tumormarker wie CEA, CA 12-5 und CA 15-3 bei der Verlaufskontrolle und beim Screening des Ovarialkarzinoms eine Rolle spielen (Zhang et al., 2001), sollte der mögliche Stellenwert dieser Marker im Hinblick auf prognostische Aspekte untersucht werden. In dieser Studie liegt der Schwerpunkt daher auf der Untersuchung des prognostischen Wertes der immunhistochemischen Expression von CA 15-3, CEA und CA 12-5 beim Ovarialkarzinom. Anzumerken ist, daß der hier vorliegende Stichprobenumfang in der vorliegenden Literatur nicht erreicht wird. In der Vergangenheit haben lediglich Friedlander et al. (1988) die prognostische Bedeutung der tumorzellulären Expression von CA 12-5 untersucht. Über die mögliche Bedeutung der anderen Marker gibt es bisher keine Informationen. Neben den prognostischen Aspekten wird die Beziehung der „Tumormarker“ zu den klassischen Prognosefaktoren des Ovarialkarzinoms (wie z.B. das Grading und das FIGO-Stadium) analysiert. Da diese für die Fragestellung von untergeordneter Bedeutung sind, werden die Ergebnisse zu den klassischen Prognosefaktoren nur kurz diskutiert. Im Prinzip werden hier die Ergebnisse aus der aktuellen Literatur bestätigt (Brinkhuis et al., 1995).

4.6 Die Prognosefaktoren in der Einzelbetrachtung

4.6.1 Klassische Prognosefaktoren

Zu den sogenannten klassischen Prognosefaktoren gehören:

1. Postoperativer Resttumor
2. FIGO-Stadium
3. Grading
4. Histologie
5. Aszites.

Dabei deuten ein fehlender postoperativer Resttumor, ein frühes Stadium, eine gute Tumordifferenzierung (G1), kein Aszites zum Zeitpunkt der Primäroperation sowie die histologische Differenzierung - insbesondere „muzinös“ – auf eine günstige Prognose hin.

Dagegen sprechen das Vorhandensein eines postoperativen Resttumors, ein spätes Stadium, eine schlechte Tumordifferenzierung (G3), Aszites zum Zeitpunkt der Primäroperation und die histologische Differenzierung „undifferenziert“ eher für eine schlechte Prognose.

4.6.1.1 Postoperativer Resttumor

Der postoperative Resttumor hat einen bedeutenden Einfluß auf die Überlebenszeit im gesamten G.O.K. In der Literatur ist er als unabhängiger prognostischer Faktor für Ovarialkarzinome im Stadium FIGO IV beschrieben (Naik et al., 2000) und ist unabhängig vom FIGO-Stadium (Eisenkop et al., 1998). Hieraus sollte die Forderung nach einer optimal zytoreduktiven Chirurgie gestellt werden; ggf. in speziellen operativen Zentren, wobei angestrebtes Ziel ein Tumorrest zumindest kleiner 2 cm sein sollte.

4.6.1.2 Tumorstadium nach FIGO

Wie in der Literatur beschrieben, besteht ein wichtiger Zusammenhang zwischen dem FIGO-Stadium und der Überlebenszeit (Gargano et al., 1992). Im G.O.K. fällt die mittlere Überlebenszeit von gut 9 Jahren im Stadium FIGO II auf knapp 4 Jahre

im Stadium FIGO III . Da man davon ausgeht, dass sich das Ovarialkarzinom über ein Frühstadium zu einem fortgeschrittenen Tumor entwickelt, wird hieraus die Forderung nach einem Screening abgeleitet. Dennoch ist es bisher nicht gelungen, Screeningmethoden zu entwickeln, die eine gute Detektion des Ovarialkarzinoms ermöglichen.

4.6.1.3 Aszites

Es zeigt sich ein wichtiger Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Aszites und der Überlebenszeit. In der Literatur ist Aszites als Prognosefaktor für die FIGO-Stadien III und IV beschrieben (Puls et al., 1996) und ist unabhängig vom FIGO-Stadium (Eisenkop et al., 1998).

4.6.1.4 Grading

Ein bedeutender Zusammenhang besteht zwischen dem Grading in Anlehnung an Baak et al., 1987 und der Überlebenszeit. In der Literatur wird das Tumorigradung z.T. als wichtigster tumorbiologischer Prognosefaktor beschrieben (Villa et al., 1998). Im G.O.K. rangiert es jedoch von seiner prognostischen Aussagekraft hinter den 3 oben genannten. Da bisher von der WHO noch keine verbindlichen Vorschrift für das Grading des Ovarialkarzinoms erlassen wurde, ergibt sich die Forderung nach der Erstellung einer solchen (Shimizu et al., 1998).

4.6.1.5 Histologie

Wie in dieser Arbeit dargestellt, kann zwischen dem histologischen Tumortyp und der Überlebenszeit ein signifikanter Zusammenhang nicht aufgezeigt werden. In Übereinstimmung mit der Literatur (Pfleiderer, 1995; Gargano et al., 1992) gibt es jedoch im Hinblick auf die Dauer des Überlebens eine positive Tendenz für Patientinnen mit muzinösen Tumoren und eine ungünstigere für Patientinnen mit serösen Tumoren; die kürzeste Überlebenszeit zeigen die Patientinnen mit undifferenzierten Tumoren. Weiterhin finden sich die meisten muzinösen Tumoren im Stadium FIGO I, die zudem oft das niedrigste Grading aufweisen; auch dies wird von anderen bestätigt (Malkasian et al., 1984).

4.6.1.6 Wachstumsmuster und Nekrose

Als mögliche zusätzliche Prognosefaktoren wurden in Anlehnung an die pathologische Grundklassifikation (Virchow) das Wachstumsmuster und der Grad der Tumornekrose analysiert. Das Wachstumsmuster erweist sich als potentieller Prognosefaktor, wobei eine Überschneidung von muzinösen Tumoren und dem zystischen Wachstumsmuster - als prognostisch günstig zu bewerten - besteht. Demgegenüber findet man eine Überschneidung von undifferenzierten Tumoren und dem soliden Wachstumsmuster - als prognostisch ungünstig zu bewerten. Jüngere Vorschläge zum Grading des Ovarialkarzinoms beziehen das Wachstumsmuster mit ein (Shimizu et al., 1998).

Im Hinblick auf die Nekroseneigung eines Tumorgewebes weisen Patientinnen mit postoperativem Resttumor eine ungünstigere Prognose in den Subkollektiven ohne als auch mit ausgeprägter Nekrose auf. Dies ist so in der Literatur für das Ovarialkarzinom noch nicht beschrieben. Eine mögliche Erklärung wäre, daß sich sowohl hinter einem perfekt versorgten Tumor als auch hinter einer ausgeprägten Tumornekrose ein sehr aggressives Tumorwachstum verbergen könnte.

4.6.2 Tumormarker

4.6.2.1 Vergleich der CA 12-5-Serumwerte mit der Expression des Markers im Tumorgewebe

Im Verlauf einer Tumorerkrankung korreliert der Anstieg oder Abfall der CA 12-5 Serumwerte oft sehr eng mit dem Progreß bzw. Regreß der Erkrankung (Shimizu et al. 1985). In einer Studie zur prognostischen Bedeutung fand man, daß bei Patientinnen im Stadium FIGO I der präoperativ gemessene CA 12-5-Wert die größte Aussagekraft im Hinblick auf die Überlebenswahrscheinlichkeit hat (Nagele et al. 1995).

Kaum untersucht bis jetzt (2 Studien bei Medline-Anfrage Stand 05/2001) ist jedoch der Zusammenhang zwischen den im Serum gemessenen CA 12-5-Werten und den im Tumorgewebe selbst nachgewiesenen CA 12-5. In der vorliegenden Arbeit konnte keine strikte Korrelation zwischen der Höhe der präoperativ gemessenen CA 12-5 Werte und der Stärke der Expression im Gewebe gefunden werden. Dagegen fanden sich jedoch für die Gruppe der Tumoren mit tumorzellulärer Expression wesentlich höhere Durchschnittswerte von CA 12-5 im Serum als für die Gruppe ohne tumorzelluläre Expression, was in der Literatur bestätigt wird (Adachi et al., 1994).

Ebenfalls bestätigt wird der Befund einer fehlenden Korrelation zwischen der Höhe der CA 12-5-Serumwerte und dem Tumorstadium nach FIGO (Shimizu et al., 1985).

Für die in der Literatur beschriebene Korrelation zwischen den CA 12-5-Serumwerten und den FIGO-Stadien für die jeweiligen Untergruppen „ohne“ und „mit tumorzellulärer Expression“ (Adachi et al., 1994) finden sich in der eigenen Arbeit aber keine Anhaltspunkte.

Dies gilt auch bei Beschränkung der Analyse nur auf die serösen Tumoren, bei denen die höchsten Serummarkerkonzentrationen gefunden werden. In der Literatur ist für diese Einschränkung jedoch bereits eine signifikante Korrelation mit dem FIGO-Stadium beschrieben worden (Oishi et al., 1986). Andererseits ist die mögliche Diskrepanz zwischen hoher tumorzellulärer Expression und niedrigen bis normwertigen Serumspiegeln bekannt, besonders bei Tumoren im Stadium FIGO I. Auch gutartige Ovarialtumoren, normales Endometrium, Fruchtwasser im zweiten Trimester der Schwangerschaft und Endometriosegewebe zeigen gelegentlich eine hohe zelluläre Expression von CA 12-5, obwohl in der Mehrzahl der Fälle die Serumwerten unter 35U/ml liegen (Jacobs & Bast, 1989).

Das bedeutet, daß sich der klinische Verlauf einer malignen Ovarialerkrankung besser durch die Abgabe des Tumormarkers in das Blut als durch seine Produktion im Tumorgewebe selbst widerspiegelt. Dieses Phänomen ist wiederum mit der Theorie zu erklären, daß eine weit fortgeschrittene Tumorerkrankung anscheinend in der Lage ist, eine Art von Zellbarriere dergestalt zu alterieren, daß eine Durchlässigkeit für das produzierte CA 12-5 die Folge ist (Jacobs & Bast, 1989).

4.6.2.2 Expression von CA 12-5 im Tumorgewebe

Wie bereits erwähnt, existieren nur sehr wenige Grundlagenstudien über die tumorzelluläre Expression von CA 12-5 beim Ovarialkarzinom. Selbst die größte Studie von Friedlander et al. aus dem Jahr 1988 beinhaltet nur 96 Fälle (G.O.K.: 221 Fälle).

Im G.O.K. werden ebenfalls die transitionalzelligen Tumoren berücksichtigt. Laut neueren Studien (Ordonez, 2000) unterscheiden sich die transitionalzelligen Tumoren des Ovars immunophänotypisch eindeutig von solchen der Harnblase. Sie sind als neu bekannter Tumortyp beim Ovarialkarzinom unbedingt zu berücksichtigen.

Während bei Friedlander et al. insgesamt nur bei 58% der Tumoren eine zelluläre Expression von CA 12-5 nachweisbar war, waren es in dieser Untersuchung 83,3% aller Tumoren, wobei Friedlander et al. auch einige benigne Tumoren in ihr Kollektiv eingebunden hatten.

In Übereinstimmung mit Friedlander et al. bestätigt sich ein Zusammenhang zwischen dem histologischen Tumortyp und der CA 12-5-Expression, wobei im G.O.K. keine Borderline-Malignome vorliegen, denen Friedlander et al. eine 100%ige Expression zuschreiben. Auch fanden diese Autoren keine Expression bei den muzinösen Tumoren, die im G.O.K. - zwar am schwächsten von allen histologischen Differenzierungsformen - in einem geringen Prozentsatz aber ebenfalls eine Expression von CA 12-5 zeigen. Die stärkste Expression von CA 12-5 betrifft die serösen Ovarialkarzinome. Ein Zusammenhang zwischen der zellulären Lokalisation und der CA 12-5-Expression konnte im G.O.K. nicht gefunden werden, wobei die Mehrzahl der Tumoren eine apikale Expression zeigte und nur ein geringer Teil eine zytoplasmatische Expression. Der zelluläre Expressionsort von CA 12-5 hat jedoch potentielle prognostische Bedeutung, da die mittlere Überlebenszeit der Patientinnen signifikant in der Reihenfolge membranös, zytoplasmatisch und apikal

exprimierender Tumoren ansteigt. Dieses Ergebnis ist in der Literatur noch nicht beschrieben.

Als Ursache kann - wie schon weiter oben angesprochen - eine Veränderung der Durchlässigkeit für bestimmte Substanzen denkbar sein. Andererseits weist eine membranöse, d. h. perizellulär auf die Gesamtoberfläche gerichtete Umverteilung des CA 12-5 darauf hin, daß hier das aggressivere Tumorwachstum auf mögliche anti-adhäsive Funktionen von CA 12-5 zurückzuführen ist. Diese könnten ein frühzeitiges Ablösen von Tumorzellen aus ihrer Verbandsstruktur begünstigen.

Auf jeden Fall konnte ein biologisch interessanter Prognosefaktor gefunden werden, der bei der überwiegenden Zahl der Fälle leicht und sicher anwendbar ist. Sicher vor allem auch deshalb, weil es hier um die Beschreibung einer Qualität und nicht, wie bei der Bestimmung von CA 12-5 im Serum, einer Quantität geht.

CA 12-5 und Wachstumsmuster waren signifikant korreliert, wobei eine starke Expression eher bei den papillären und solid-tubulären Tumoren zu finden war, während die zystischen Tumoren schwach exprimierten. Dieses Ergebnis überrascht insofern nicht, da die Mehrzahl der serösen und solid-tubulären Tumoren ein papilläres Wachstumsmuster und die Mehrzahl der muzinösen Tumoren ein zystisches Wachstumsmuster zeigten.

Bei der Korrelation der tumorzellulären CA 12-5-Expression mit der Menge des Aszites, dem Grad der Nekrose, der tumorzellulären Expression von CA 15-3, der tumorzellulären Expression von CEA, dem FIGO-Stadium und dem Grading bestehen eindeutige Zusammenhänge nur zur Expression der anderen Tumormarker CA 15-3 und CEA, wobei die Korrelation mit CEA eine inverse ist.

In Übereinstimmung mit Friedlander findet sich keine Abhängigkeit der Überlebenszeit von der tumorzellulären Expression von CA 12-5 im Gesamtkollektiv. Untersucht man hier jedoch nur das Kollektiv der Patientinnen mit postoperativem Resttumor ergeben sich signifikante Überlebensvorteile für die Patientinnen mit starker CA12-5-Expression. Dies kann damit begründet sein, daß die Expression von CA 12-5 einen Einfluß auf die Ansprechwahrscheinlichkeit einer postoperativen Chemotherapie hat.

4.6.2.3 Expression von CA 15-3 im Tumorgewebe

Eine Literatur-Recherche verläuft wenig erfolgreich bezüglich der tumorzellulären Expression von CA 15-3 beim Ovarialkarzinom. Bislang ist dieser Marker

hauptsächlich durch seinen Nachweis im Serum beim Mammakarzinom bekannt und wird hier eingesetzt zum Screening und als Verlaufsparemeter. Neuere Studien zeigen sowohl bei Patientinnen mit Mamma- als auch mit Ovarialkarzinom eine zelluläre Immunreaktion gegen MUC-1 - respektive CA 15-3 -, die künftig in Form einer induzierten Immuntherapie genutzt werden könnte (Taylor-Papadimitriou et al., 1999).

Im G.O.K. findet sich, daß 83,6% der Tumoren CA 15-3 zellulär exprimieren.

Wie oben gezeigt besteht eine positive Korrelation zwischen der Expression von CA 15-3 und CA 12-5 im Tumorgewebe. Interessanterweise ist dies jedoch nicht genauso beim Mammakarzinom; hier wird CA 12-5, unabhängig vom histologischen Typ, selten exprimiert (Chu et al., 1999). Im G.O.K. finden sich bezüglich der Korrelationen zu den einzelnen Faktoren für CA 15-3 ähnliche Ergebnisse wie für CA 12-5: Genau wie bei CA 12-5 besteht ein Zusammenhang zu der histologischen Differenzierungsform, wobei die serösen Tumoren am stärksten exprimieren und die muzinösen am schwächsten. Es findet sich keine Abhängigkeit zwischen der Expression von CA 15-3 und seiner zellulären Lokalisation, insbesondere auch nicht im Zusammenhang mit der Überlebenszeit. Ein signifikanter Zusammenhang besteht jedoch für die Korrelation von Wachstumsmuster mit tumorzellulärer CA 15-3-Expression im G.O.K., wobei der Marker bevorzugt von den papillären, den solid-tubulären und den soliden Tumoren exprimiert wird, am seltensten von den muzinösen Tumoren.

Bei der Korrelation mit anderen Faktoren ergeben sich im Gegensatz zur tumorzellulären Expression von CA 12-5 auch signifikante Korrelationen mit dem FIGO-Stadium und dem Grading. Die Korrelation zu CEA ist wie bei CA 12-5 eine inverse.

In der Literatur ist eine geringe zytoplasmatische Expression von MUC1 als Prognosefaktor für „längere Überlebenszeit“ beschrieben jedoch nur für die Untergruppe der Patientinnen im Stadium FIGO III (Dong et al., 1997). Im G.O.K. ergeben sich im Gesamtkollektiv keine eindeutigen Assoziationen zwischen der Expression von CA 15-3 und der Überlebenszeit; im Kollektiv der Patientinnen mit postoperativem Resttumor bestehen jedoch deutliche Überlebensvorteile für die Patientinnen mit tumorzellulärer CA 15-3-Expression. Hier scheint ein Widerspruch zu liegen, da die CA 15-3-Expression ja wie oben gezeigt auch mit dem Grading und dem FIGO-Stadium korreliert. Die Überlebensvorteile für Patientinnen mit

postoperativem Resttumor und CA 15-3-Expression könnten aber auch mit einem besseren Ansprechen dieser Tumoren auf eine postoperative Chemotherapie zu tun haben. Dieses Ergebnis stützend, sind in der Literatur Überlebensvorteile für Patientinnen mit Ovarialkarzinom bei hohen CA 15-3-Spiegeln im Serum beschrieben (Richards et al., 1998).

Insgesamt können bislang durch den Nachweis von tumorzellulär exprimiertem CA 15-3 bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom keine neuen Aussagen bezüglich der Prognose des Gesamtkollektivs gemacht werden. Aufgrund der hohen Anzahl der Tumoren, die CA 15-3 exprimieren, scheint es aber auf jeden Fall sinnvoll sich im Rahmen neuer Studien weiterhin mit einer möglichen Immuntherapie zu beschäftigen (s.o.).

4.6.2.4 Expression von CEA im Tumorgewebe

Insgesamt exprimieren nur 10% der Tumoren im G.O.K. CEA; dies sind nahezu ausschließlich muzinöse und endometrioiden Tumoren. Im Unterschied zu Kuwashima et al. (1994) konnte keine Expression von CEA bei den undifferenzierten Tumoren gefunden werden. Da CEA typischerweise bei den gastrointestinalen Karzinomen, und hier insbesondere beim Colonkarzinom, als Tumormarker eingesetzt wird, könnte ein weiterer möglicher Verwendungszweck von CEA auch sein Einsatz als Marker bei unklarer Tumordifferenzierung sein. Hohe CEA-Serumspiegel oder eine starke immunhistologische CEA-Reaktivität in Verbindung mit fehlender immunhistologischer CA12-5-Reaktivität, sprechen bei Tumoren mit zudem intestinaler Differenzierung klar gegen ein Ovarialkarzinom und für ein Colonkarzinom. Dieses Phänomen ist in der Literatur beschrieben durch Lagendijk et al. (1998), wobei dieser zur genaueren Differenzierung noch weitere Tumormarker heranzieht (für das Colonkarzinom CK20 und für das Ovarialkarzinom CK7).

Da die muzinösen Ovarialkarzinome, wie oben erwähnt, ebenfalls in hohem Prozentsatz CEA exprimieren, ist hier eine Unterscheidung zum Colonkarzinom nur aufgrund der Immunhistochemie nicht möglich; auch nicht durch zusätzliche Anwendung der Tumormarker CK7, CK20 und CA12-5 (Mulhaupt et al., 1999).

Unter den insgesamt 22 im G.O.K. CEA-exprimierenden Fällen finden sich die 3 einzigen Tumoren mit einer intestinalen Differenzierung. Nur 0,9% der Tumoren -

darunter keiner derer mit intestinaler Differenzierung - zeigen eine starke Expression von CEA. In der Zusammenschau mit anderen Faktoren besteht lediglich eine signifikante inverse Korrelation zwischen CEA und dem Tumorgrading.

Im Hinblick auf die Überlebenszeit ergibt sich eine positive Tendenz bei den Patientinnen, deren Tumoren CEA exprimieren. Zu dem Befund gibt es in der aktuellen Literatur keine vergleichbaren Daten.

Da jedoch, wie dargestellt, insgesamt nur sehr wenige Ovarialkarzinome CEA exprimieren, scheint dessen Nachweis insgesamt eher eine tumordiskriminierende als eine prognostische Aussagekraft zu haben.

Anhang

5 APAAP-Technik

Die Detektion der Primärantikörper erfolgte mit Hilfe der alkalische Phosphatase-anti-alkalische Phosphatase (APAAP)- Methode nach Cordell et al. (1984) mit einigen Modifikationen (Zusammensetzung der Puffer unter 6.2). Das Procedere umfaßte die im Folgenden dargestellten Schritte:

- Entparaffinisierung der Paraffinschnitte in der folgenden Reihenfolge: 10 min Xylol, 10 min Aceton, 10 min Aceton-Waschpuffer-Gemisch (Verhältnis 1:2= 1+1)
 - Re-Antigenisierung in der Mikrowelle (Behandlung der Objektträger 6x5 Minuten bei 600 Watt in Citratpuffer gefüllten Küvetten)
 - 5 Minuten Abkühlen in Waschpuffer
 - Auftragen von ca. 140µl Primärantikörper in der jeweils benötigten Endverdünnung- Einwirkzeit 30 min bei Zimmertemperatur
 - anschließend mindestens 4 mal Spülung in Waschpuffer
 - Auftragen des Brückenantikörpers (LINK) mittels Humanserum-RPMI-Gemisch (Verdünnung 1:25)- Einwirkzeit 30 min
 - anschließend mindestens 3 mal Spülung in Waschpuffer
 - Auftragen des Endantikörpers (APAAP-Komplex) mit RPMI auf eine Endkonzentration von 1:50 verdünnt- Einwirkzeit 30 min
 - anschließend 3 mal Spülung in Waschpuffer
 - erneutes Auftragen des Brückenantikörpers (Reaktionsverstärkung)- Einwirkzeit 10 min
 - anschließend 3 mal Spülung in Waschpuffer
 - erneutes Auftragen von APAAP-Komplex- Einwirkzeit 10 min
 - anschließend 10 mal Spülung in Waschpuffer
 - Entwicklung der Reaktion mit Hilfe der Entwicklerlösung auf langsamen Schüttler- Entwicklungszeit 20-30 Minuten
 - Gegenfärbung mit Hämalaun- 1Minute
 - anschließend 2 mal Spülung mit Leitungswasser
- Eindecken der fertig gefärbten Präparate mit 170-180°C heißem Glycergel (Fa. DAKO Hamburg)

5.1 Chemikalien und Lösungsansätze

- Citratpuffer: 9 ml Stammlösung A+ 41 ml Stammlösung B+ 450 ml Aqua dest.
Stammlösung A: 21,01g Zitronensäure (0,1M)+ 1000 ml Aqua dest
Stammlösung B: 29,41g Natriumcitrat (0,1M)+ 1000ml Aqua dest.
- Waschpuffer für 5 l: 4,5g Tris-Base, 34,25g Tris-HCL, 43,9g NaCl in 625 ml Aqua dest. auflösen, pH zwischen 7,4 und 7,6 einstellen und auf 5 l mit Aqua dest. auffüllen
- RPMI - Ansatz: 50 ml RPMI, 450 ml Aqua dest, 50 ml inaktiviertes Rinderserum, 0,5g Natriumazid, pH zwischen 7,4 und 7,6 einstellen

Entwicklungslösung:

Entwicklungspuffer: 87g NaCl, 15g Tris HCl, 49g Tris Base, 1750 ml Aqua dest.

Propandiol: 21g Propandiol, 1000 ml Aqua dest.

Neufuchsin: 5g Neufuchsin, 100 ml 2N HCl

Herstellung:

1. Entwicklungspuffer und Propandiol zusammengießen, pH auf 9,75 einstellen
2. Laevamisol (20 mg/Küvette) abwiegen und der o. g. Lösung hinzufügen
3. Lösung 1: Natriumnitrit (10 mg/Küvette) abwiegen und in 250 µl Aqua dest./Küvette auflösen
4. Lösung 2: Naphtol (25 mg/Küvette) abwiegen und in 300 µl Dimethylformamid auflösen
5. Neufuchsin (100 µl/Küvette) abmessen und der Lösung 1 hinzufügen
6. Lösungen 1 und 2 für 1-2 Minuten stehenlassen
7. Lösung 1 der Entwicklungspuffer-Propandiol-Lösung zugeben
8. Lösung 2 der Entwicklungspuffer-Propandiol-Lösung zugeben
9. pH-Wert der Gesamtlösung auf 8,80 einstellen
10. Gesamtlösung filtrieren

Hämalaun: 1g Hämatoxylin+ 0,2g NaJO₃+ 50g Kalialaun+ 1000ml Aqua dest.+ 50g Chloralhydrat+ 1g Zitronensäure

6 Literaturverzeichnis

Adachi S, Noda T, Kiyozuka Y, Ito K, Itani Y, Tsujimoto A, Sakakura S, Yoshida T, Umekage H, Nakayama M: The importance of CA125 immunohistochemical staining in patients with ovarian cancer. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 46: 896-902, 1994

Baak JPA, Chan KK, Stolk JG, Kenemans P: Prognostic factors in borderline and invasive ovarian tumors of the common epithelial type. *Path Res Pract* 182: 755-774, 1987

Baekelandt M, Holm R, Nesland JM, Trope CG, Kristensen GB: Expression of apoptosis-related proteins is an independent determinant of patient prognosis in advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 15; 18 (22): 3775-81, 2000

Bast RC, Freeney M, Lazarus H, Nadler LM, Colvin RB, Knapp RC: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J Clin Invest* 68: 1331-1337, 1981

Bast RC, Klug TL, Lohn ES, Niloff JM, Lazarus H, Berkowitz RS, Leavitt T, Griffiths CT, Parker L, Zurawsky VR, Knapp RC: A radioimmunoassay using monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 309: 883-887, 1983

Benchimol S, Fuks A, Jothy S, Beauchemin N, Shirota K, Stanners CP: Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, functions as an intercellular adhesion molecule. *Cell* 57: 327-334, 1989

Berchuck A, Olt GJ, Soisson AP, Kamel A, Soper JT, Boyer CM, Clarke-Pearson D, Leslie DS, Bast RC jr: Heterogeneity of antigen expression in advanced epithelial ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 162: 883-888, 1990

Bernaschek G, Obwegeser R: Sonographische Dignitätsbeurteilung von Ovarialtumoren und therapeutische Konsequenzen. *Frauenarzt* 34: 851-854, 1993

Breitenecker G, Neunteufel W, Bieglmayer C, Kolbl H, Schieder K: Comparison between tissue and serum content of CA125, CA19-9 and carcinoembryonic antigen in ovarian tumors. *Int J Gynecol Pathol* 8: 97-102, 1989

Bramwell ME, Bhavanandan VP, Wiseman G, Harris H: Structure and function of the CA antigen. *Br J Cancer* 48: 177-183, 1983

Brinkhuis M, Meijer GA, Baak JPA: An evaluation of prognostic factors in advanced ovarian cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 63: 115-124, 1995

Brinton LA, Hoover RN: Epidemiology of gynecologic cancers. In Hoskins WJ, Perez CA, Young RC: *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*, Lippincott-Raven, Philadelphia: pp3-29, 1997

van der Burg MEL, Lammes FB, Verweij J: CA125 in ovarian cancer. *Netherlands J Med* 40: 36-51, 1992

Casagrande JT, Pike MC, Russ PK, Louie EW, Roy S, Henderson BE: Incessant ovulation and ovarian cancer. *Lancet* 2 (8135): 170-73, 1979

Chu JS, Chang KJ: Mucin expression in mucinos carcinoma and other invasive carcinomas of the breast. *Cancer Lett* 19; 142 (1): 121-7, 1999

Cordell JL, Falini B, Erber WN, Ghosh AK, Abdulaziz Z, MacDonald D, Pulford KAF, Stein H, Mason DY: Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP complexes). *J Histochem Cytochem* 32: 219-229, 1984

Dalen A van, Favier J, Gastham WN: Erste Erfahrungen mit TPA als Tumormarker bei Ovarialkarzinom. *Tumordiagn Ther* 5: 20-23, 1984

Diehl JM, Kohr HU: *Deskriptive Statistik*. 10. Auflage. Eschborn (D. Klotz), 1993

Dietel M, Bodecker R, Arps H, Bahnsen J, Holzel F: Borderline-Tumoren des Ovars. Neue Aspekte zur morphologischen Prognosebestimmung. *Geburtsh Frauenheilk* 45: 213-219, 1985

Donaldson ES, Nagell JR von, Porsell S, Gay EC: Multiple biochemical markers in patients with gynaecologic malignancies. *Cancer* 45: 948-953, 1980

Dong Y, Walsh MD, Cummings MC, Wright RG, Khoo SK, Parsons PG, McGuckin MA: Expression of MUC1 and MUC2 in epithelial ovarian tumors. *J Pathol*; 183 (3): 311-7, 1997

Duffy MJ, Shering S, Sherry F, McDermott E, O'Higgins N: CA15-3: a prognostic marker in breast cancer. *Int J Biol Markers* 15(4): 330-3, 2000

Eisenkop SM, Friedman RL, Wang HJ: Complete cytoreductive surgery is feasible and maximizes survival in patients with advanced epithelial ovarian cancer: a prognostic study. *Gynecol Oncol*; 69 (2): 103-8, 1998

Ellsworth LR, Allen HH, Nisker JA: Ovarian function after radical hysterectomy for stage Ib carcinoma of the cervix. *Am J Obstet Gynecol* 145: 185, 1983

Fallows S, Price J, Atkinson RJ, Johnston PG, Hickey I, Russel SE: p53 mutation does not affect prognosis in ovarian epithelial malignancies. *J Pathol*; 194 (1): 68-75, 2001

Fathalla MF: Incessant ovulation-factor in ovarian neoplasia. *Lancet* 2 (716): 163, 1971

Fletcher RH: Carcinoembryonic antigen. *Ann Intern Med* 104: 66-73, 1986

Friedlander M, Leary J, Russel P: An evaluation of CA125, CA1 and peanut lectin immunoreactivity in epithelial ovarian neoplasms: Correlation with histopathological features, prognostic variables and patient outcome. *Pathology* 20: 38-44, 1988

Fuji SJ, Konishi Suzuki J, Okamura H: Analysis of serum lactic dehydrogenase level and its isoenzymes in ovarian dysgerinioma. *Gynecol Oncol* 22: 65-72, 1985

Gargano G, Catino A, Correale M, Lorusso V, Abbate I, Izzi G, Cramarossa A, Picciariello M, Paradiso A, de Leonardis A, de Lena M: Prognostic factors in epithelial ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 13 (Suppl. 1): 45-55, 1992

Gericke G, Draankowsky D: Die Bedeutung von Tumormarkern für die klinische Onkologie. *Med Klin* 74: 701-709, 1979

Gion M: Carcinoembryonic antigen, ferritin, and tissue polypeptide antigen in serum and tissue: Relationship with the receptor content in breast carcinoma. *Cancer* 57: 917-922, 1986

Gold P, Freedman SO: Demonstration of tumor specific antigens in human colonic carcinoma by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 121: 439-462, 1965

Goldstein St R, Timor-Tritsch IE: *Ultrasound in Gynecology*. Churchill Livingstone, 1995

Gullino PM: Natural history of breast cancer. Progression from hyperplasia to neoplasia as predicted by angiogenesis. *Cancer* 39: 2697-2703, 1977

Haga Y, Sakamoto K, Egami H, Yoshimura R, Mori K, Akagi M: Clinical significance of serum CA125 values in patients with cancer of the digestive system. *Am J Med Sci* 292: 30-34, 1986

Halter SA, Faber LD, Pormenter M, Dupont WD: Carcinoembryonic antigen expression and patient survival in carcinoma of the breast. *Oncology* 41: 297-302, 1984

Hayes DF, Sekine H, Ohno T, Abe M, Keefe K, Kufe DW: Use of a murine monoclonal antibody for detection of circulating plasme DF 3 antigen levels in breast cancer patients. J Clin Invest 75: 1671-1678, 1985

Henrikson R, Strang P, Wilander E, Bäckström T, Tribukait B, Öberg K: p53 expression in epithelial ovarian neoplasms: Relationship to clinical and pathological parameters, Ki-67 expression and flow cytometrie. Gynecol Oncol 53: 301-306, 1994

Hünemann D: Vergleichende Untersuchung von 5 Tumormarkern in der ambulanten Tumornachsorge bei Mamma-und Prostatakarzinom. NUC-Compact B: 197-203, 1982

Jacobs I, Bast RC: The CA125 tumor associated antigen: A review of the literature. Hum Reprod 4(1): 1-12, 1989

Kenemans P: CA125 and OA3 as target antigens for immunodiagnosis and immunotherapy in ovarian cancer. Eur J Gynecol Reprod Biol 36: 221-238, 1990

Kim H, Scorilas A, Katsaros D, Yousef GM, Massobrio M, Fracchioli S, Piccinno R, Gordini G, Diamandis EP: Human kallikrein gene 5 (KLK5) expression is an indicator of poor prognosis in ovarian cancer. Br J Cancer 2; 84 (5): 643-50, 2001

Kleist SV: Möglichkeiten und Grenzen des Gebrauchs von Tumormarkern. Lab Med 17: 404-406, 1984a

Kleist SV: News and views in tumor markers. Nuklearmedizin 23: 1-3, 1984b

Koch OM, Uhlenbruck G: Plasmaproteine und Akute-Phase-Reaktion als Tumormarker bei Malignompatienten. Laboratoriumsblätter 30: 29-35, 1983

Kufe D, Inghirami G, Abe M, Hayes D, Justi-Wheeler H, Schlom J: Differential reactivity of a novel monoclonal antibody (DF3) with human malignant versus benign breast tumors. Hybridoma 3: 223-232, 1984

Kuwashima Y, Uehara T, Kishi K, Shiromizu K, Matsuzawa M, Takayama S: Immunohistochemical characterization of undifferentiated carcinomas of the ovary. *J Cancer Res Clin Oncol* 120(11): 672-7, 1994

Legendijk JH, Mullink H, Van Diest PJ, Meijer GA, Meijer CJ: Tracing the origin of adenocarcinomas with unknown primary using immunohistochemistry: Differential diagnosis between colonic and ovarian carcinomas as primary sites. *Hum Pathol* 29(5): 491-7, 1998

Lavecchia C, Negri E, Parazzini F, Franceschi S: Fertility drugs and breast and ovarian cancer (Letter). *Lancet* 346: 1628, 1995

Leusch H-G, Hefta SA, Drzeniek Z, Hummel K, Markos-Pusztai Z, Wagener C: Escherichia coli of human origin binds to carcinoembryonic antigen (CEA) and non-specific crossreacting antigen (NCA). *FEBS Letters* 261: 405-409, 1990

Malkasian GD Jr, Melton LJ 3d, O'Brien PC, Greene MH: Prognostic significance of histologic classification and grading of epithelial malignancies of the ovary. *Am J Obstet Gynecol* 149(3): 274-84, 1984

Meier W: Sinnvoller Einsatz der Tumormarker beim Ovarialkarzinom. *Der Gynäkologe* 30: 133-140, 1997

Michel G, De Iaco P, Castaigne D, El-Hassan MJ, Lobreglio R, Lhomme C, Rey A, Duvillard P: Extensive cytoreductive surgery in advanced ovarian carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 18: 9-15, 1997

Münstedt K, Krisch M, Sachsse S, Vahrson H: Serum CA 125 levels and survival in advanced ovarian cancer. *Arch Gynecol Obstet*; 259 (3): 117-23, 1997

Münstedt K, Steen J, Knauf AG, Buch T, von Georgi R, Franke FE: Steroid hormone receptors and long term survival in invasive ovarian cancer. *Cancer* 15; 89 (8): 1783-91, 2000

Münstedt K, Vahrson H: Efficacy of combined radio- and chemotherapeutic treatment of ovarian cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 16 (3): 174-180, 1995

Multhaupt HA, Arenas-Elliott CP, Warhol MJ: Comparison of glycoprotein expression between ovarian and colon adenocarcinomas. *Arch Pathol Lab Med*; 123 (10): 909-16, 1999

Nagele F, Petru E, Medl M, Kainz C, Graf AH, Sevalda P: Preoperative CA125: an independent prognostic factor in patients with stage I epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 86(2): 259-64, 1995

Naik R, Nordin A, Cross PA, Hemming D, de Barros Lopes A, Monaghan JM: Optimal cytoreductive surgery is an independent prognostic indicator in stage IV epithelial ovarian cancer with hepatic metastases. *Gynecol Oncol* 78 (2): 171-175, 2000

Oishi T, Maruo T, Iwasaki M, Mochizuki M: Relationship between serum levels and immunohistological tissue levels of CA125 and CEA in epithelial ovarian cancers: Its implications for tumor cell type specificity. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 38(9): 1595-604, 1986

Ozols RF, Rubin SC, Thomas G, Robboy S: Epithelial ovarian cancer. In: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC [Hrsg.]: *Principles and Practice of Gynecologic Oncology*, Philadelphia (Lippincott-Raven): p 754 ff, 1997

Ordonez, NG: Transitional cell carcinomas of the ovary and bladder are immunophenotypically different. *Histopathology* 36(5): 433-438, 2000

Pfleiderer A: Ovarian cancer. In: Hermanek P, Gospodarowicz MK, Henson DE, Hutter RVP, Sobin LH [Hrsg.]. *Prognostic Factors in Cancer*. Berlin, Heidelberg, New York (Springer), 1995

v. Prittwitz J: Serologische Tumormarker Assays in der Diagnostik, Prognose und Rezidiverkennung des Mammakarzinoms-Ein Vergleich von CA15-3, CEA mit dem Berilux® BR. Inauguraldissertation. Gießen, 2000

Puls LE, Duniho T, Hunter JE, Kryscio R, Blackhurst D, Gallion H: The prognostic implication of ascites in advanced-stage ovarian cancer. *Gynecol Oncol*; 61 (1): 109-12, 1996

Remmele W, Stegner HE: Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe. *Pathologe* 8: 138-140, 1987

Richards ER, Devine PL, Quin RJ, Fontenot JD, Ward BG, McGuckin MA: Antibodies reactive with the protein core of MUC1 mucin are present in ovarian cancer patients and healthy women. *Cancer Immunol Immunother*; 46 (5): 245-52, 1998

Riede, Schäfer: *Allgemeine und spezielle Pathologie*. Stuttgart, New York (Thieme Verlag), 1999

Russel DH: Increased polyamine concentrations in the urine of human cancer patients. *Nature* 256: 495, 1977

Russel P, Farnsworth A: *Surgical pathology of the ovaries*. Second edition. New York, Edingburgh, London, Madrid, Melbourne, San Francisco, Tokyo (Churchill Livingston), 1997

Said JW: Keratin proteins and carcinoembryonic antigen in lung carcinoma: An immunoperoxidase study of fifty-four cases, with ultrastructural correlations. *Hum Pathol* 14: 70-76, 1983

Schlegel G, Liethgans M, Eklund G, Björklund B: Correlation between activity in breast cancer and CEA, TPA and eighteen common laboratory procedures and the importance by the combination use of CEA and TPA. *Tumordiagnostik* 2: 6-11, 1981

Schröck R, Keller M, Hahlweg BC: Die unheilbar Kranke in der Onkologie. *Gynecol Obstet* 257: 431-433, 1995

Schröck R, Stepien J, Schwiersch M: Belastungssituation und Rehabilitation von Patientinnen mit Ovarialkarzinom. In: Mehrpohl HG et al. (Hrsg.): Das Ovarialkarzinom. Berlin, New York, Springer Verlag, Bd. II (Therapie): 217-227, 1993

Schwiersch M, Schröck R (Hrsg.): Onkologische Rehabilitation und Lebensqualität. Sonderheft: Praxis der klinischen Verhaltensmedizin und Rehabilitation: 28, 1998

Sekine H, Ohno T, Kufe DW: Purification and characterization of a high molecular weight glycoprotein detectable in human milk and breast carcinomas. J Immunol 135: 1-6, 1985

Sengupta PS, McGown AT, Bajaj VV, Blackhall F, Swindell R, Bromley M, Shanks JH, Ward T, Buckley CH, Reynolds K, Slade RJ, Jayson GC: p53 and related proteins in ovarian cancer. Eur J Cancer; 36 (18): 2317-28, 2000

Shimizu Y, Akagaki E, Hirota K, Kono M, Miura S, Okudaira Y: Analysis of CA125 assay system and its diagnostic significance in gynecologic tumors. Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi 37(12): 2813-20, 1985

Shimizu Y, Kamoi S, Amada S, Hasumi K, Akiyama F, Silverberg SG: Toward the development of a universal grading system for ovarian epithelial carcinoma. I. Prognostic significance of histopathologic features—problems involved in the architectural grading system. Gynecol Oncol; 70 (1): 2-12, 1998

Skirnisdottir I, Sorbe B, Seidal T: The growth factor receptors Her-2/neu and EGFR, their relationship, and their effects on the prognosis in early stage (FIGO I-II) epithelial ovarian carcinoma. Int J Gynecol Cancer; 11 (2): 119-129, 2001

Snijdewint FG, von Mensdorff-Pouilly S, Karuntu-Wanamarta AH, Verstraeten AA, van Zanten-Przybysz I, Hummel P, Nijman HW, Kenemans P, Hilgers J: Cellular and humoral immune responses to MUC1 mucin and tandem-repeat peptides in ovarian cancer patients and controls. Cancer Immunol Immunother 48(1): 47-55, 1999

Sun NCJ: Immunohistochemical localisation of carcinoembryonic antigen (CEA), CEA-S, and nonspecific cross reacting antigen (NCA) in carcinoma of the lung. *Cancer* 52: 1632-1641, 1983

Taylor-Papadimitriou J, Burchell J, Miles DW, Dalziel M: MUC1 and cancer. *Biochim Biophys Acta* 8; 1455 (2-3): 301-13, 1999

Taylor-Papadimitriou J, Epenetos AA: Exploiting altered glycosylation patterns in cancer: progress and challenges in diagnosis and therapy. *Trends Biotechnol* 12(6): 227-33, 1994

Tondini C, Hayes DF, Gelman R, Henderson IC, Kufe DW: Comparison of CA 15-3 and carcinoembryonic antigen in monitoring the clinical course of patients with metastatic breast cancer. *Cancer Res* 48: 4107-4112, 1988

„Maligne Ovarialtumoren“. Hrsg.: Tumorzentrum München, 1998

Valverde JJ, Martin M, Garcia-Asenjo JA, Casado A, Vidart JA, Diaz-Rubio E: Prognostic value of DNA quantification in early epithelial ovarian carcinoma. *Obstet Gynecol* 97 (3): 409-16, 2001

Villa A, Parazzini F, Acerboni S, Guarnerio P, Bolis G: Survival and prognostic factors of early ovarian cancer. *Br J Cancer* 77(1): 123-4, 1998

Weiss NS, Harlow BL: Why does hysterectomy without bilateral oophorectomy influence the subsequent incidence of ovarian cancer? *Am J Epidemiol* 124: 856, 1986

Welander CE: What do CA125 and other antigens tell us about ovarian cancer biology? *Acta Obstet Gynecol Scand*: 85-93, 1992

Woolas RP, Oram DH, Prys-Davies A, Leake J, Brown, CL, Jacobs IJ: CA125 expression at clinical diagnosis not detected through antedecent serum CA125 screening. *Int J Gynecol Cancer* 6: 98-101, 1996

Zhang Z, Xu F, Yu Y, Berchuck A, Havrilesky L, de Bruijn H, van der Zee A, Woolas R, Jacobs I, Bast Jr. R: Use of multiple markers to detect Stage I Epithelial ovarian cancers: neural network analysis improves performance. Proceedings of ASCO Vol. 20: 219 a, 2001

7 Zusammenfassung

Das Ovarialkarzinom ist als dritthäufigstes Genitalmalignom der Frau die häufigste Todesursache infolge gynäkologischer Erkrankungen, wobei es in den letzten 20 Jahren keine wesentliche Änderung der Neuerkrankungsrate gegeben hat. Aus diesem Grund ist es sinnvoll, Untersuchungen nach Faktoren anzustellen, die den Krankheitsverlauf vorhersehbarer machen, um so z.B. zwischen Patientinnen unterscheiden zu können, für die eine sehr belastende und die Lebensqualität einschränkende (Chemo-) Therapie noch sinnvoll erscheint, und solchen, für die eine palliative Therapie bei weitestmöglichem Erhalt der Lebensqualität im Vordergrund steht.

Grundlage dieser Arbeit sind die Krankenakten und die an der Frauenklinik und am Institut für Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen archivierten Gewebeproben von 221 Patientinnen, die zwischen 1982 und 1996 an der Universitätsfrauenklinik Gießen wegen eines Ovarialkarzinoms behandelt wurden und für die ein sorgfältig erhobenes klinisches Follow-up vorliegt. Bei der Analyse bekannter als auch neuer Prognosefaktoren wurde insbesondere die Immunhistochemie eingesetzt; ein Verfahren, das einfach durchführbar, reproduzierbar und somit für eine breite Anwendung in der Praxis geeignet ist. Mit dieser Methode wurde die tumorzelluläre Expression der Tumorantigene CA 12-5, CEA und CA 15-3 in den Tumorgeweben aller Patientinnen untersucht. Außerdem wurde die tumorzelluläre Expression von CA 12-5 mit dem Nachweis des korrespondierenden Tumormarkers im Serum in 38 von den 221 Fällen verglichen. Für das Kollektiv mit tumorzellulärer CA 12-5-Expression fanden sich wesentlich höhere Serum-CA 12-5-Durchschnittswerte als für das Kollektiv ohne tumorzelluläre Expression des Markers. Dies deutet darauf hin, daß geplante Tumormarkerverlaufskontrollen bei Patientinnen zunächst von ihrem Nachweis im Gewebe begleitet werden sollten, um nicht erfolgversprechende Untersuchungen zu vermeiden.

Für alle 3 untersuchten Tumormarker zeigte sich im Gesamtkollektiv mit Hilfe der Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse keine Abhängigkeit der Überlebenszeit vom Immunreaktiven Score der jeweiligen Marker. Für CA 12-5 und CA 15-3 zeigten sich im Kollektiv der Patientinnen mit postoperativem Resttumor jedoch deutliche

Überlebensvorteile für die Patientinnen mit starker tumorzellulärer Expression. Dies läßt ein besseres Ansprechen CA 12-5- und CA 15-3-exprimierender Tumoren auf eine postoperative Chemotherapie vermuten.

Als Prognosekriterium für CA 12-5-positive Tumoren spielt offenbar auch die Lokalisation der zellulären Expression eine Rolle. Bedeutende Überlebensvorteile bestanden hier für „apikale“, d. h. im Bereich einer Zelle luminal-polar ausgerichtete, Expression im Vergleich zu rein zytoplasmatischen und gesamtmembranösen Antigenlokalisationen. Insbesondere letztere war mit aggressivem Tumorwachstum assoziiert, was auf eine mögliche begünstigende Bedeutung von CA 12-5 für die Tumorzellseparation und -dissemination hinweist.

Auffallendstes Merkmal von CEA war seine fast ausschließliche Expression in muzinösen Ovarialkarzinomen. Dieser Marker kann bei der Subtypisierung von Ovarialtumoren Hilfe leisten, insbesondere aber auch bei der Abgrenzung zu metastasierten Colonkarzinomen, die CEA in der Regel stark exprimieren.

Aus der Reihe der bekannten Prognosefaktoren konnten die Masse des postoperativen Resttumors, das Tumorgrading, das Vorhandensein von Aszites und das Tumorstadium nach FIGO bestätigt werden, wobei der Masse des postoperativen Tumorrestes hier sicherlich eine Sonderstellung zukommt, da er als einziger Parameter beeinflussbar ist. Hieraus ergibt sich die Forderung nach einer optimalen chirurgischen Ersttherapie, die eine allgemeine Qualitätssicherung sowie die Konzentration großer onkologischer Eingriffe auf speziell ausgerichtete operative Zentren beinhaltet.

Als erstmals beim Ovarialkarzinom beschriebener Prognosefaktor ist noch der Grad der Tumornekrose erwähnenswert. Ähnlich wie bei den untersuchten Tumormarkern ergaben sich signifikante Assoziationen zur Überlebenszeit in dem Kollektiv der Patientinnen mit postoperativem Resttumor. Überlebensnachteile zeigten sich sowohl bei Tumoren mit ausgeprägter Nekrose als auch für solche ohne jegliche Nekroseneigung.

Zusammenfassend erscheint es wenig vielversprechend, mit einem einzigen Marker eine Prognose über den Krankheitsverlauf zu geben. Möglicherweise sind die untersuchten Tumormarker aber sinnvolle ergänzende Parameter für eine bessere Abschätzung des zu erwartenden Verlaufs der Tumorerkrankung.

Insbesondere eine Kombination verschiedener Faktoren mit prognostischem Wert läßt für die Zukunft hoffen, Patientinnen mit Ovarialkarzinom einer möglichst

individuellen, d. h. sowohl Prognose-orientierten als auch Risiko-adaptierten Therapie, zuführen zu können.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Knauf
Vornamen:	Anne Gerlinde
Geburtsdatum/-ort:	13.07.1971/Schwalmstadt-Ziegenhain
Anschrift:	Riegelpfad 84a 35392 Gießen
Familienstand:	ledig

Schulbildung

1978-1982	Grundschule in Schwalmstadt-Treysa
1982-1991	Schwalmgymnasium in Schwalmstadt-Treysa

Hochschulbildung

1991-1997	Justus-Liebig-Universität Gießen Studiengang Humanmedizin
1993	Physikum
1994	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1997	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1998	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

1997-1998	Klinikum Wetzlar-Braunfels
-----------	----------------------------

AIP

1998-1999	Gynäkologisch-geburtshilfliche Abteilung Klinikum Wetzlar-Braunfels
-----------	------------------------------------------------------------------------

Assistenzärztin

1999-2000

Gynäkologisch-geburtshilfliche Abteilung
Klinikum Wetzlar-Braunfels

Seit Okt. 2000

Gynäkologisch-geburtshilfliche Abteilung
DRK-Krankenhaus Biedenkopf

Promotion

1994

Beginn der vorliegenden Arbeit

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Karsten Münstedt, der mir während der Entstehung dieser Arbeit stets mit konstruktiver Kritik und wertvollen Anregungen zur Seite stand.

Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Künzel und Herrn em. Professor Dr. med. Helmut Vahrson danke ich für die Möglichkeit der Nutzung des Datenmaterials aus den Patientenakten.

Herrn Professor Dr. med. Andreas Schulz, Leiter des Instituts für Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen, möchte ich für die Möglichkeit der Nutzung der Forschungseinrichtungen seines Institutes danken.

Herrn Dr. med. Folker E. Franke, Oberarzt am Institut für Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen, danke ich für seine Unterstützung bei der Sichtung und Auswertung des histologischen Materials und für die Vermittlung verschiedener, für die Durchführung der immunhistochemischen Färbungen notwendiger, Techniken.

Jochen Steen und Thomas Buch danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Ebenfalls zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben mein Bruder Carsten Knauf und mein Lebensgefährte Patrick Haberland; insbesondere durch ihre Hilfe in den Bereichen Computer und Krisenmanagement (was manchmal deckungsgleich war). In diesem Zusammenhang möchte ich noch einmal meiner ganzen Familie, insbesondere auch meiner Schwester Birgit Wiegand-Knauf und ihrem Mann Volker, für ihre liebevolle Unterstützung und Geduld danken.