

Aus der Klinik für Gynäkologie am Campus Virchow-Klinikum  
der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Rolle von Humanem Epididymis Protein 4 (HE4) bei Borderline-  
Tumoren des Ovars (BOT) und beim rezidiertem epithelialen  
Ovarialkarzinom (EOC)

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Mani Nassir  
aus Berlin

Datum der Promotion: 25. Juni 2017

## Inhaltsverzeichnis

---

Abstrakt Deutsch.....	2
Abstrakt Englisch.....	3
Einführung .....	4
Methodik .....	6
Ergebnisse .....	10
Diskussion.....	16
Literaturverzeichnis .....	20
Eidesstattliche Versicherung.....	22
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen.....	23
Druckexemplare der ausgewählten Publikationen .....	25
Lebenslauf .....	48
Publikationsliste .....	54
Danksagung.....	57

## Abstrakt Deutsch

---

**Einleitung:** Humanes Epididymis Protein 4 (HE4) ist ein sekretorisches Glykoprotein, was in serösen epithelialen Ovarialkarzinomen (EOC) überexprimiert wird. HE4 hat im Vergleich zum etablierten Cancer Antigen 125 (CA125) eine höhere Sensitivität und Spezifität bezüglich der Erkennung eines EOC und bezüglich der Unterscheidung benigner und maligner ovarieller Raumforderungen (RF) eine höhere Spezifität. Ferner gibt es Hinweise, dass low-grade-EOC aus serösen Borderline-Tumoren des Ovars (BOT) entstehen. Diese Erkenntnisse führten dazu, die Korrelation der HE4-Gewebeexpression mit klinisch-pathologischen Parametern bei BOT ohne invasive Implantate (non-inv BOT) sowie die Rolle von HE4 in der präoperativen Unterscheidung benigner versus maligner RF und zur Vorhersage von BOT mit invasiven Implantaten (inv BOT) zu untersuchen. Zudem untersuchten wir den Stellenwert von HE4 in der ersten Rezidivsituation bei EOC-Patientinnen. **Methodik:** Es wurden klinisch-pathologische Daten, Gewebe- und Blutproben innerhalb des Projektes „Tumor Bank Ovarian Cancer“ gesammelt. Die HE4-Gewebeexpression wurde anhand von gruppierten Immunoreaktivitätsscore (IRS) mit klinisch-pathologischen Parametern korreliert. Anhand von Receiver-Operating Characteristics (ROC)-Kurvenanalysen wurde die Vorhersagekraft von im Serum bestimmten HE4, CA125 und dem Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) bezüglich der Unterscheidungsfähigkeit von non-inv BOT oder benignen RF zu inv BOT ermittelt. Im dritten Teil wurden Assoziationen zwischen HE4-Konzentrationen und klinisch-pathologischen Parametern untersucht und anhand von Kaplan-Meier-Kurven Überlebenszeitraten sowie die jeweiligen 95%-Konfidenzintervalle geschätzt. **Ergebnisse:** Bei den 25 untersuchten BOT-Patientinnen ergaben sich zwischen gruppierten IRS und histologischem Subtyp, Alter, CA125-Konzentration und FIGO-Stadium keine signifikanten Korrelationen. In der zweiten Studie hatten von 167 Patientinnen 15 inv BOT, 104 benigne RF und 48 non-inv BOT. CA125 war HE4 und ROMA bezüglich der Unterscheidungsfähigkeit von inv BOT zu benignen RF und non-inv BOT überlegen. Im dritten Teil wurden 73 Patientinnen mit erstem EOC-Rezidiv eingeschlossen. Bei einem HE4-Cut-Off-Wert von 250 pmol/L konnte mit einer Sensitivität von 52% und einer Spezifität von 93,8% ( $p=0,001$ ) eine totale makroskopische Tumorfreiheit für die erste Rezidivoperation hervorgesagt werden. Die HE4-Konzentration war ein unabhängiger prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben (OS) ( $p<0,001$ ) und prädiktiv für das chirurgische Outcome ( $p=0,036$ ). **Schlussfolgerung:** Die Rolle von HE4 bei BOT bleibt weiterhin unklar. Allerdings scheinen sowohl HE4 als auch CA125 keine verlässlichen Biomarker für die Vorhersage von inv BOT zu sein. Aufgrund niedriger Fallzahlen sind zukünftig prospektive multizentrische Studien notwendig. Bezüglich der ersten Rezidivsituation beim EOC konnte

erstmalig gezeigt werden, dass HE4 ein unabhängiger prognostischer bzw. prädiktiver Marker für das OS und das chirurgische Outcome ist.

## **Abstrakt Englisch**

---

**Introduction:** Human Epididymis Protein 4 (HE4) is a secretory glycoprotein which is over-expressed in serous epithelial ovarian cancer (EOC). HE4 offers a higher sensitivity and specificity in the prediction of EOC and a higher specificity in the differentiation between benign and malignant ovarian masses compared to the established Cancer Antigen 125 (CA125). Furthermore, it is suggested that low-grade EOC derive from serous borderline tumors of the ovary (BOT). These findings prompted us to investigate the correlation of HE4 tissue expression and clinical-pathological parameters of BOT without invasive implants (non-inv BOT), to analyze the role of preoperative HE4 in discriminating benign versus malignant masses and in predicting the presence of BOT with invasive implants (inv BOT). Furthermore, we investigated the role of HE4 in EOC patients with first relapse. **Methods:** Clinical-pathological data, tissue and blood samples were collected within the project „Tumor Bank Ovarian Cancer“. HE4 tissue expression was correlated with clinical-pathological parameters using grouped immunoreactivity scores (IRS). Receiver-Operating Characteristics (ROC) curve analysis was performed to evaluate the predictive accuracy of HE4, CA125 and the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) for discriminating patients with non-inv BOT or benign masses from inv BOT. In the third study, associations between HE4 blood levels and clinical-pathological parameters were investigated. Survival and 95% confidence intervals rates were estimated according to Kaplan-Meier curves. **Results:** Among the 25 BOT patients no significant correlations between grouped IRS and histological subtype, age, CA125 levels and FIGO stage were found. In the second study, out of 167 patients 104 had benign masses, 48 had non-inv BOT and 15 had inv BOT. CA125 was superior to HE4 and ROMA in discriminating inv BOT from patients with benign masses and non-inv BOT. In the third study, 73 patients with first relapse were included. At a HE4 cut-off value of 250 picomol/L, a sensitivity of 52% and a specificity of 93.8% ( $p=0.001$ ) were reached in predicting total macroscopic tumor clearance. HE4 concentration was an independent prognostic and predictive factor for overall survival (OS) ( $p<0.001$ ) and surgical outcome ( $p=0.036$ ), respectively. **Conclusion:** The role of HE4 in BOT remains unclear. Both HE4 and CA125 are not reliable biomarkers for the prediction of inv BOT. Due to the low number of cases prospective multicentric studies are needed. Regarding patients with a first EOC relapse, we could show that HE4 is an independent prognostic and predictive marker for OS and surgical outcome, respectively.

## Einführung

---

Borderline-Tumoren des Ovars (BOT) machen 8-10% aller ovariellen Neoplasien aus (1). Sie stellen eine eigenständige Entität mit Zellproliferationen und Kernatypien, aber ohne destruktive Stromainvasion, dar (1, 2). BOT erfordern die Behandlung durch Experten und bedürfen einer langen Nachbeobachtungszeit (Follow-up) (2). Sie betreffen vor allem jüngere Patientinnen, werden gewöhnlich im FIGO-Stadium I\* (3) diagnostiziert und sind im Allgemeinen mit einer exzellenten Prognose assoziiert (4). BOT können aber Mikroinvasionen mit Befall von Lymphknoten oder extra-ovarielle Implantate aufweisen, die dann als invasive (inv) BOT bezeichnet werden und nach der neuen WHO-Klassifikation als Low-grade seröse Ovarialkarzinome (LGSC) angesehen werden (5). Das Vorhandensein invasiver Implantate gilt bisher als einziger negativer prognostischer Faktor, der die Überlebensraten von BOT-Patientinnen auf 30-50% reduzieren kann (1). Die Standardtherapie besteht aus der bilateralen Oophorektomie und einem umfassenden chirurgischem Staging mit Peritonealbiopsien, infrakolischer Omentektomie, peritonealer Lavage und Entfernung makroskopischer peritonealer Implantate (1). Trotz dieser radikalen Operationsansätze weisen 10-30% aller BOT-Patientinnen späte Rezidive auf, von denen dann etwa 30% mit einem epithelialen Ovarialkarzinom (EOC) diagnostiziert werden (2), welches sich dann mehrheitlich als LGSC erweist (2, 5).

Das EOC stellt in Europa das fünfthäufigste Malignom der Frauen dar (6). In Deutschland erkranken jährlich rund 8000 Frauen – meistens zwischen dem 55. und 65. Lebensjahr – an einem EOC (6). Aufgrund fehlender oder nur unspezifischer Frühsymptome und bisher mangelnder Screeningmethoden werden ungefähr zwei Drittel aller EOC-Patientinnen erst in fortgeschrittenen FIGO-Stadien (III und IV) diagnostiziert (6).

Sowohl EOC als BOT werden ihrer Histologie nach in absteigender Häufigkeit eingeteilt in seröse, muzinöse und andere weniger häufige Subtypen wie endometrioid, klarzellige und transitionalzellige (4). Die serösen EOC werden weiter unterteilt in high-grade und low-grade Karzinome (7, 8). Diese Unterteilung ist von besonderer Bedeutung, da es Hinweise darauf gibt, dass low-grade-Karzinome in etwa 60% der Fälle aus serösen BOT entstehen (8).

Trotz aller Bemühungen stellt die präoperative Unterscheidung zwischen BOT und EOC nach wie vor eine Herausforderung dar. Bisher ist das Cancer Antigen 125 (CA125) der am häufigsten eingesetzte Biomarker bezüglich der präoperativen Einschätzung und des klinischen Managements ovarieller Raumforderungen (RF) (9). Das Problem liegt aber in seiner niedrigen Spezifität, insbesondere in der Gruppe der prämenopausalen Patientinnen (9), was die Suche nach ergänzenden Biomarkern maßgeblich antreibt. Das Humane Epididymis Protein 4 (HE4) ist ein sekretorisches

Glykoprotein, welches initial in Epithelzellen des Nebenhodens entdeckt wurde (10). Es findet sich physiologischerweise im Gewebe des männlichen und weiblichen reproduktiven und respiratorischen Traktes (10). HE4 ist in serösen und muzinösen EOC überexprimiert und kann leicht im Blut bestimmt werden (10). Im Vergleich zu CA125 hat HE4 eine höhere Sensitivität und Spezifität bezüglich der Erkennung eines EOC und hat insbesondere in der Gruppe der prämenopausalen Patientinnen bezüglich der Unterscheidung benigner und maligner ovarieller RF eine höhere Spezifität als CA125 (11). Der Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) wurde von Moore et al. (12) entwickelt und stellt ein diagnostisches Instrument zur Einschätzung verdächtiger ovarieller RF dar: in diesem Risikoscore werden die Konzentrationen von CA125 und HE4 mit dem Hormonstatus (prä- versus postmenopausal) der jeweiligen Patientin kombiniert (12). Das Ziel liegt dabei in der Stratifizierung in Hoch- und Niedrig-Risiko-Gruppen bezüglich des Vorliegens einer malignen ovariellen RF (12).

Die bestehenden Schwierigkeiten in der präoperativen Unterscheidung von benignen versus malignen RF, die noch unzureichend geklärte Rolle von HE4 zur Vorhersage von invasiven Implantaten und der noch unklare Stellenwert von HE4 in der ersten Rezidivsituation beim EOC, haben uns dazu bewogen, die prädiktive und prognostische Rolle des Biomarkers HE4 bei Patientinnen mit BOT sowie bei Patientinnen mit erstem Rezidiv eines EOC zu untersuchen.

Im ersten Teil der Arbeit werteten wir zunächst die Expression von HE4 im Gewebe von nicht-invasiven (non-inv) BOT aus. Zudem untersuchten wir die Korrelation der HE4-Gewebeexpression mit den einzelnen histologischen Subtypen und den prognostisch relevanten klinisch-pathologischen Parametern. Hintergrund dieser Untersuchungen ist die Annahme, dass seröse BOT eine Rolle als Präkursor-Läsionen für low-grade seröse EOC spielen (8). Diese erste grundlegende Arbeit war Ausgangspunkt für eine weitere Studie, in der wir den Stellenwert der HE4- und CA125-Konzentrationen alleine sowie im Rahmen des ROMA-Scores (12) zur präoperativen Erfassung eines BOT und dem Vorhandensein invasiver Implantate untersuchten.

Wir wissen, dass eine optimale zytoreduktive Chirurgie („Debulking“) mittels medianer Laparotomie mit dem Ziel der makroskopischen Tumorfreiheit sowie das Ansprechen auf die adjuvante platinhaltige Chemotherapie – in der Regel sechs Zyklen der Kombinationschemotherapie Carboplatin/Paclitaxel – entscheidend zu einem verbesserten Gesamtüberleben beim primären EOC beitragen (6). Patientinnen, die innerhalb von sechs Monaten nach Ende der platinhaltigen Chemotherapie rezidivieren werden als platin-resistent bezeichnet (6). Dagegen werden Patientinnen, die kein Rezidiv oder dieses erst sechs Monate nach Ende einer platinhaltigen Chemotherapie entwickeln, als platin-sensitiv bezeichnet (6); diese Unterscheidung ist für das klinische Management von Patientinnen mit EOC von maßgeblicher Bedeutung. Obgleich die radikalen operativen Tech-

niken immer weiter verbessert wurden und ein allgemeiner Konsens bezüglich der maximalen makroskopischen Tumorfreiheit als prognostisch günstiger Parameter besteht, gibt es weiterhin viele Patientinnen, die von den radikalen Operationsansätzen nicht profitieren, als platinresistent einzustufen sind und rasch ein Rezidiv entwickeln. Bislang gibt es weder prädiktive klinisch-pathologische Parameter noch Biomarker für das chirurgische Outcome. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es daher, die prädiktive Rolle von HE4 für das chirurgische Outcome und das Ansprechen auf eine platinhaltige Chemotherapie bei Patientinnen mit erstem Rezidiv eines EOC zu analysieren. Zudem untersuchten wir in dieser Gruppe von Patientinnen die prognostische Rolle von HE4 für die zwei relevanten Endpunkte Gesamt- (OS) und progressionsfreies Überleben (PFS).

\* Seit Januar 2014 existiert eine neue FIGO-Klassifikation. In den hier vorgestellten Arbeiten findet die vorherige Klassifikation Verwendung, da diese zum Zeitpunkt der Erstellung der ausgewählten Publikationen dem aktuellen Stand entsprach.

## **Methodik**

---

Unsere Studien basieren auf Untersuchungen von Gewebe- und Blutproben sowie auf der retrospektiven Auswertung klinisch-pathologischer Daten, die im Rahmen des multizentrischen Projektes Tumorbank Ovarian Cancer (TOC) der Klinik für Gynäkologie am Campus Virchow-Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Jalid Sehouli und Frau Priv. Doz. Dr. Elena Ioana Braicu asserviert und dokumentiert wurden. Alle Patientinnen haben präoperativ schriftlich in die Entnahme von Tumorgewebe, Blut- und Aszitesproben für wissenschaftliche Zwecke eingewilligt. Alle im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studien sind zuvor durch die zuständige Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin genehmigt worden (EK207/2003).

Alle Blutentnahmen erfolgten präoperativ. Serum aller Blutproben wurde standardisiert nach Zentrifugation und Aliquotierung auf Kryoröhrchen bei  $-80^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren und bis zur weiteren Bearbeitung asserviert. Intraoperativ gewonnene Aszites- und Tumorgewebeproben wurden ebenfalls nach standardisierten Protokollen asserviert und bearbeitet.

Alle CA125 (in: U/ml = Units pro Milliliter)- und HE4 (in: Picomol pro Liter = pmol/L, abgekürzt: pM)-Konzentrationen im Blut wurden mittels Enzymimmunoassays (EIA) im Rahmen der klinischen Routine bestimmt.

Für die erste Fragestellung wurden 25 Patientinnen mit nicht-invasiven (non-inv) BOT identifiziert, deren Tumorgewebe am Institut für Pathologie am Campus Virchow-Klinikum der Charité –

Universitätsmedizin Berlin untersucht und immunhistochemisch auf eine HE4-Expression analysiert wurde.

In der Studie zum Stellenwert der HE4- und CA125-Konzentrationen alleine sowie im Rahmen des ROMA-Scores (12) zur präoperativen Erfassung eines BOT und dem Vorhandensein invasiver Implantate wurden insgesamt 167 Patientinnen ausgewählt.

Hinsichtlich der Frage nach der prädiktiven Rolle von HE4 für das chirurgische Outcome und dem Ansprechen auf eine platinhaltige Chemotherapie wurden 73 Patientinnen mit erstem Rezidiv eines EOC in die Studie eingeschlossen.

### **Immunhistochemie**

Für den ersten Teil der Arbeit wurde die HE4-Gewebeexpression von 25 Patientinnen mit non-inv BOT anhand von Tissue Microarrays (TMA) immunhistochemisch untersucht. Hierfür wurden zunächst Schnitte repräsentativer Tumorareale mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt. Mit einem Gewebe-Mikroarrayer (Beecher Instruments, Woodland, CA, USA) wurden jeweils zwei Gewebeproben mit einem Durchmesser von 1,5 mm aus verschiedenen Arealen innerhalb der jeweiligen Gewebeprobe ausgestanzt und in jeweils zwei neue Paraffinblöcke eingebettet. Von den TMA-Blöcken wurden 1-3 µm dünne Schnitte hergestellt. Die ausgewählten Gewebeschnitte wurden dann deparaffinisiert und für zehn Minuten in eine Citratpufferlösung eingebracht. Um endogene Peroxidasen zu blockieren wurden die Gewebeschnitte fünf Minuten in eine Hydrogenperoxidlösung getaucht. Es erfolgte die einstündige Inkubation mit dem monoklonalen murinen Antikörper 12A2, Phosphatpufferlösung (PBS) und 1%-iger boviner Serumalbuminlösung (BSA) bei Raumtemperatur. Es folgte die immunhistochemische Darstellung mit dem Dako EnVision+ System – Horseradish Peroxidase (HRP)-Kit. Bevor die Gegenfärbung der Schnitte mit Mayer's Hämatoxylin und die erneute Rehydrierung erfolgte, wurden die Schnitte für 10 Minuten in Diaminobenzidinlösung (DAB) inkubiert. Wasser oder Phosphatpufferlösung-Tween (PBST) wurden für die Waschungen zwischen den einzelnen Inkubationen eingesetzt.

### **Evaluierung der HE4-Expression**

Alle TMA wurden von erfahrenen Gynäko-Pathologen und in Zusammenarbeit mit der Fujirebio Diagnostics AB in Schweden beurteilt. Der Prozentsatz an angefärbten Tumorzellen wurde in einem Score-System wie folgt eingeteilt: 0% = 0, 1-10% = 1, 11-50% = 2, 51-80% = 3, 81-100% = 4). In einem weiteren Schritt wurden diese Scores mit den Scores für die Farbintensität (negativ = 0, schwach = 1, moderat = 2, stark = 3) multipliziert, was in semi-quantitativen Immunoreaktivitätsscores (IRS) von 0 bis 12 resultierte.

Zur weiteren Analyse wurden der IRS wie folgt gruppiert: 0 (IRS 0), 1 (IRS 1-3), 2 (IRS 4-6), 3 (IRS 7-9) und 4 (IRS 10-12). Diese Daten wurden mit den folgenden klinisch-pathologischen Parametern bei Erstdiagnose korreliert: Alter, CA125-Konzentrationen im Blut, histologische Subtypen [serös, muzinös, seromuzinös (endozervikal-ähnlich), klarzellig] und FIGO-Stadium (4).

### **Evaluierung des intraoperativen Tumorbefallmusters**

Im dritten Teil dieser Arbeit wurde auch das intraoperative Tumorbefallmuster durch ein systematisches Interview mit den behandelnden Operateuren anhand eines standardisierten Fragebogens unmittelbar nach jedem Eingriff erfasst. Hierzu wurde das sogenannte *Intraoperative Mapping of Ovarian Cancer (IMO)* eingesetzt (13). Das IMO dient der Beschreibung des Tumorbefallmusters, der maximalen Tumorlast, des postoperativen Tumorrestes (0,  $\leq 0,5$ ,  $\leq 1$ ,  $\leq 2$  oder  $> 2$  cm), der Charakteristika der Peritonealkarzinose und der präoperativen Aszitesmenge (kein Aszites,  $\leq 500$  oder  $> 500$  ml) (13). In Form einer Buchstaben-Zahlen-Kombination geht das IMO gemeinsam mit sämtlichen klinisch-pathologischen Parametern in die Datenbank der Tumorbank Ovarian Cancer (TOC) ein.

### **Nachsorge**

Im Rahmen der Nachsorge werden nach Therapieende alle Patientinnen in dreimonatlichen Abständen bzw. im Fall einer neu aufgetretenen Symptomatik in der Nachsorge-Sprechstunde der Klinik für Gynäkologie am Campus Virchow-Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin gesehen. Neben einer detaillierten Anamnese, klinischen Untersuchung, transvaginalem und transabdominalem Ultraschallschall wird auch die Serumkonzentration von CA125 bestimmt; falls die genannten Untersuchungen pathologische Befunde ergeben, schließt sich eine bildgebende Untersuchung mittels Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) an, so dass sich die Diagnose eines Rezidivs letztendlich durch klinische und bildgebende Untersuchungen und nicht durch eine alleinige Erhöhung der Serumkonzentration von CA125 ergibt.

Alle erhobenen Daten wurden kontinuierlich in die Datenbank unserer Tumorbank Ovarian Cancer (TOC) eingegeben. Für die drei Studien und den daraus resultierenden Publikationen im Rahmen dieser Arbeit wurden zuvor alle Daten der Patientinnen erneut überprüft und aktualisiert.

### **Definition der Überlebenszeiten**

Das PFS war definiert als Zeitdauer zwischen dem letzten Zyklus der Chemotherapie und dem Auftreten eines Rezidivs. Das OS war definiert als Zeitdauer zwischen Erstdiagnose eines EOC und dem Todeszeitpunkt oder dem Ende der Nachbeobachtungszeit.

## Statistische Analyse

Die statistischen Analysen wurden jeweils mit der Software IBM SPSS Statistics PASW 19.0, 18.0 und 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt. Ergebnisse werden als Häufigkeiten und Anteile für kategorielle Variablen bzw. als Median und Spannweite (in Klammern) für kontinuierliche Variablen angegeben. In allen drei Studien waren die Tests zweiseitig mit einem Signifikanzniveau von  $p < 0,05$ . Im ersten Teil wurden ausschließlich deskriptive Analysen durchgeführt: für die Korrelation der gruppierten IRS mit den klinisch-pathologischen Parametern wurde der Korrelationskoeffizient Kendall-tau b angewendet; die Unterschiede zwischen den einzelnen histologischen Subtypen der BOT in den gruppierten IRS wurden mit dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson analysiert. Im zweiten Teil unserer Arbeit wurden insgesamt 167 Patientinnen mit gutartigen gynäkologischen Erkrankungen, mit non-inv BOT sowie inv BOT eingeschlossen. Zur Stratifizierung prä- und postmenopausaler Patientinnen in eine Niedrig- bzw. Hochrisikogruppe bezogen auf das mögliche Vorliegen einer malignen ovarialen RF wurde der ROMA-Score nach Moore et al. (12) eingesetzt. Innerhalb der 167 eingeschlossenen Patientinnen konnten wir 14 inv BOT identifizieren, die wir – entsprechend histologischem Subtyp und Alter bei Erstdiagnose – mit weiteren 14 non-inv BOT einem Matching unterzogen umso Konfundierungseffekte zu minimieren und eine bessere Vergleichbarkeit der Gruppen zu gewährleisten. Zudem wurden alle inv BOT mit je 4 Patientinnen mit benignen gynäkologischen Raumforderungen und entsprechend dem Alter bei Erstdiagnose gematched. Kontinuierliche Variablen wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test verglichen. Die  $p$ -Werte für paarweise Vergleiche wurden ohne Adjustierung für multiples Testen angegeben. Wir erstellten Receiver-Operating Characteristic (ROC)-Kurven und berechneten die Flächen unterhalb der Kurve (area under the curve, abgekürzt: AUC) um die Vorhersagekraft der HE4- und CA125-Konzentrationen bezüglich der Unterscheidungsfähigkeit von Patientinnen mit BOT oder benignen RF versus inv BOT zu beurteilen. Für die prognostischen Faktoren wurden adjustierte Hazard Ratios (HR) und 95 %-Konfidenzintervalle (KI) berechnet.

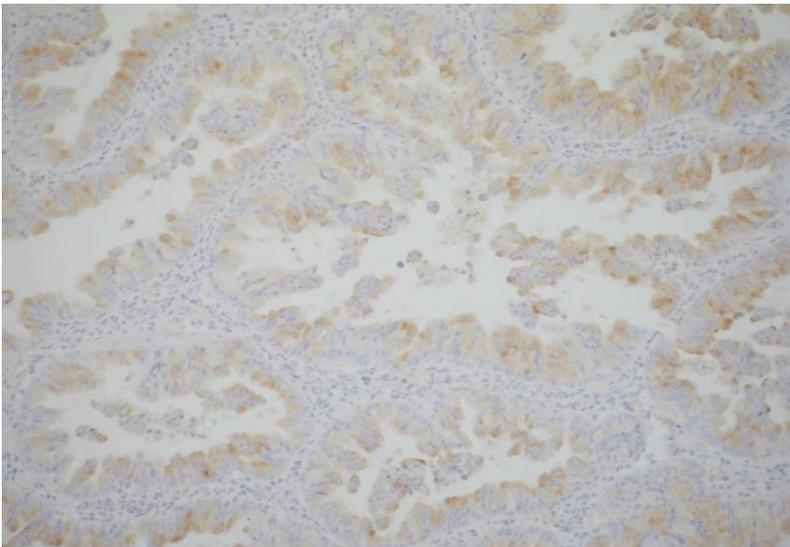
Für den dritten Teil unserer Arbeit haben wir insgesamt 73 Patientinnen mit erstem Rezidiv eines EOC untersucht. Assoziationen bzw. Korrelationen zwischen HE4-Konzentrationen und klinisch-pathologischen Parametern wurden mittels Chi-Quadrat-Test, exaktem Fisher-Test, Kendall's tau-b und Mann-Whitney U-Test analysiert. Anhand von Kaplan-Meier-Kurven wurden die Raten für das PFS und OS und die jeweiligen 95%-KI geschätzt. Die Überlebenszeitanalyse für Gruppenvergleiche führten wir anhand des Log-Rank-Tests durch. Die Bedeutung von HE4 als unabhängiger Vorhersagewert für das Überleben wurde mit dem multivariaten proportionalen Hazards Modell

nach Cox getestet, nachdem für mögliche Konfundierungseffekte adjustiert wurde. Für die prognostischen Faktoren wurden adjustierte HR und 95%-KI berechnet.

## Ergebnisse

---

In unserer ersten Arbeit war das mediane Alter der Patientinnen bei Erstdiagnose 47 Jahre (22-73 Jahre). Dreizehn (52%) Patientinnen hatten seröse und 10 (40%) muzinöse BOT, wohingegen nur eine (4%) Patientin einen seromuzinösen (endozervikal-ähnlichen) sowie eine (4%) weitere Patientin einen klarzelligen BOT aufwies. Dreiundzwanzig Patientinnen (77%) wiesen ein FIGO-Stadium I auf; in zwei (8%) Fällen war das FIGO-Stadium nicht bekannt. Bei Nachweis von HE4-Immunoreaktivität war diese ausschließlich auf die Tumorzellen beschränkt und weder in inflammatorischen noch in Stromazellen nachweisbar. Die HE4-Immunoreaktivität war im Zytoplasma und insbesondere im apikalen Bereich der Zellen lokalisiert (s. Abbildung 1).



**Abbildung 1: Ein seröser BOT mit moderater zytoplasmatischer Expression von HE4 in der Mehrzahl der Tumorzellen (20-fache Vergrößerung)**

Zwischen dem Alter bei Erstdiagnose und den gruppierten IRS gab es keine signifikante Assoziation ( $p=0,639$ ). Es ergab sich keine signifikante Korrelation ( $p=0,701$ ) zwischen den gruppierten IRS und den histologischen Subtypen. Die Häufigkeiten der seromuzinösen (endozervikal-ähnlichen) und klarzelligen Subtypen waren mit jeweils nur einem Fall zu klein um verwertbare Aussagen über eine mögliche Korrelation zu treffen.

Wir untersuchten zudem die Korrelation zwischen den gruppierten IRS und dem FIGO-Stadium, welches bei 23 Patientinnen bekannt war: bei 14 (60,87%) Patientinnen zeigten sich gruppierte IRS 1 und 2, wohingegen nur zwei Patientinnen (8,7%) einen gruppierten IRS 3 aufwiesen. Der Korrelationskoeffizient  $\tau\text{-}b=-0,25$  ( $p=0,19$ ) deutet eine schwache, aber nicht signifikante lineare Korrelation zwischen niedrigen FIGO-Stadien (I und II) und höheren gruppierten IRS (2 und 3) an. In elf (47,8%) von 19 Fällen mit einem FIGO-Stadium I zeigten sich höhere gruppierte IRS (2 und 3), wohingegen kein Fall mit höherem FIGO-Stadium (III) mit einem höheren gruppierten IRS (2 und 3) assoziiert war. Die Korrelation zwischen gruppierten IRS (0 bis 3) und der Konzentration von

CA125 war nur schwach und nicht signifikant (in beiden Fällen  $\tau\text{-}b=+ 0,347$ ;  $p=0,14$ ). Die Korrelation zwischen Gewebe-HE4-Positivität nach immunhistochemischer Färbung und den gruppierten HE4-IRS war erwartungsgemäß signifikant ( $\tau\text{-}b=0,967$ ;  $p<0,001$ ).

In der zweiten Studie dieser Arbeit hatten von 167 Patientinnen 104 benigne RF; achtundvierzig Patientinnen wiesen non-inv BOT und 15 Patientinnen inv BOT auf. In Tabelle 1 sind die Patientinnencharakteristika zusammengefasst.

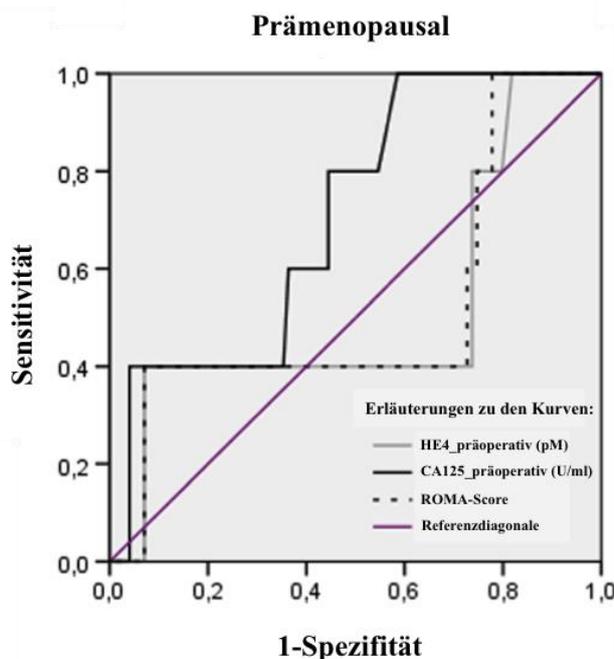
**Tabelle 1. Charakteristika der Patientinnen**

<b>Parameter</b>	<b>N</b>	<b>Median</b>	<b>Range</b>
<b>Alter (Jahre)</b>			
Gesamtes Kollektiv	167	47	16-87
Benigne RF	104	48	19-86
Non-inv BOT	48	44	16-83
Inv BOT	15	55	25-87
<b>Präoperatives HE4 (pmol/L)</b>			
Benigne RF	104	50	20-1410
Non-inv BOT	48	52	29-2135
Inv BOT	15	74	35-461
<b>Präoperatives CA125 (U/ml)</b>			
Benigne RF	104	21	5-334
Non-inv BOT	48	25	3-725
Inv BOT	15	63	12-259
<b>Histologischer Typ</b>	<b>N (non-inv BOT)</b>	<b>N (inv BOT)</b>	<b>N (gesamt)</b>
Serös	29	10	39
Muzinös	18	4	22
Endometrioid	0	1	1
Gemischt	1	0	1
<b>Benigne RF</b>	<b>N</b>	<b>Anteil (%)</b>	
Nicht näher spezifiziert	48	49,92	
Fibrothekome	2	2,08	
Leiomyome	55	57,2	

Bei allen Patientinnen wurde zudem der Menopausenstatus beurteilt: 104 Patientinnen waren prä- und 61 Patientinnen postmenopausal. Zwei Patientinnen wurden aufgrund eines unklaren Menopausenstatus ausgeschlossen. Die medianen präoperativen Serumkonzentrationen von HE4 bei den prämenopausalen Patientinnen waren in den drei Gruppen 49 pM (20-1410 pM) bei den benignen RF, 37 pM (35-94,6 pM) bei inv BOT und 45,1 pM (29-2135 pM) bei non-inv BOT. Die medianen präoperativen Serumkonzentrationen von CA125 waren 21 U/ml (7-251 U/ml) bei den benignen

RF, 32 U/ml (19-232 U/ml) bei den inv BOT und 24,5 U/ml (3-725 U/ml) bei den non-inv BOT. In der Gruppe der prämenopausalen Patientinnen konnten wir keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Konzentrationen von HE4 ( $p=0,984$ ) und CA125 ( $p=0,141$ ) zwischen den drei Gruppen feststellen. Die AUC für HE4, CA125 und ROMA waren 0,515 (95 %-KI 0,212-0,818), 0,710 (95 %-KI 0,512-0,908) und 0,521 (95 %-KI 0,223-0,820). Abbildung 2 zeigt, dass bei den prämenopausalen Patientinnen CA125 alleine eine höhere diagnostische Unterscheidungsfähigkeit von inv BOT zu non-inv BOT und benignen RF hatte als HE4 und als der ROMA-Score.

Bei den postmenopausalen Patientinnen gab es zwischen den drei Gruppen signifikante Unterschiede ( $p=0,007$ ) bezüglich der medianen präoperativen Konzentrationen von HE4: 50 pM (27-241 pM) bei den benignen RF, 76,55 pM (40-461 pM) bei den inv BOT und 68 pM (41-334 pM) bei den non-inv BOT. Die Konzentrationen von HE4 bei den benignen RF unterschieden sich signifikant von denen, die bei inv BOT ( $p=0,007$ ) und non-inv BOT ( $p=0,025$ ) gemessen wurden.

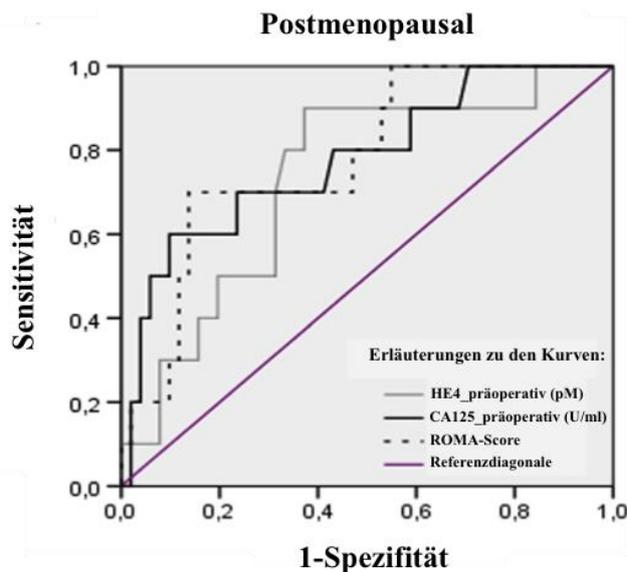


**Abbildung 2: ROC-Kurven von präoperativen Konzentrationen für HE4, CA125 und dem ROMA-Score bei prämenopausalen Patientinnen zur Diagnose von inv BOT gegenüber non-inv BOT und benignen RF**

Zwischen inv BOT und non-inv BOT zeigten sich dagegen keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,418$ ). Für die medianen präoperativen CA125-Konzentrationen bei den postmenopausalen Patientinnen gilt ebenfalls, dass die Werte in den drei Gruppen Unterschiede aufwiesen, das statistische Signifikanzniveau wurde aber nicht erreicht ( $p=0,159$ ). Die AUC für CA125, HE4 und ROMA waren 0,778 ( $p=0,006$ , 95 %-KI 0,615-0,942), 0,732 ( $p=0,021$ , 95 %-KI 0,570-0,894) und 0,782 ( $p=0,017$ , 95 %-KI 0,637-0,927).

Abbildung 3 veranschaulicht, dass CA125 alleine eine etwas höhere diagnostische Unterscheidungsfähigkeit als HE4 besitzt, postmenopausale Patientinnen mit inv BOT von denjenigen mit non-inv BOT und benignen RF zu unterscheiden; CA125 und ROMA konnten annähernd gleichermaßen zwischen den Gruppen unterscheiden. Das mediane Alter bei Erstdiagnose war bei den prä- und postmenopausalen Patientinnen aller drei Gruppen signifikant

unterschiedlich ( $p=0,022$ ): 48 Jahre (19-86 Jahre) bei den benignen RF, 55 Jahre (25-87 Jahre) bei den inv BOT und 44 Jahre (16-83 Jahre) bei non-inv BOT. Da die Expression von Biomarkern altersentsprechenden Schwankungen unterliegt und aufgrund der niedrigen Anzahl von Patientinnen mit inv BOT entschieden wir uns, die inv BOT entsprechend Alter bei Erstdiagnose und histologischem Subtyp zu matchen (insgesamt 14 von 15 Fällen, da in einem Fall kein entsprechendes Matching-Paar gefunden werden konnte). Diese 14 inv BOT wurden mit je



**Abbildung 3: ROC-Kurven von präoperativen Konzentrationen für HE4, CA125 und dem ROMA-Score bei postmenopausalen Patientinnen zur Diagnose von inv BOT gegenüber non-inv BOT und benignen RF**

weils einem non-inv BOT und 4 benignen RF gematched. Alle Analysen wurden dann wie zuvor bei den drei einzelnen Gruppen durchgeführt (siehe oben). Der Matching-Prozess ergab statistisch signifikante Ergebnisse für die HE4-Konzentrationen für inv BOT ( $p=0,009$ ) und non-inv BOT ( $p=0,020$ ) im Vergleich zu den benignen RF. Es zeigte sich allerdings kein statistisch signifikanter Unterschied ( $p=0,822$ ) zwischen inv BOT und non-inv BOT. Die Konzentrationen von CA125 der non-inv BOT und der benignen RF

zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede ( $p=0,087$ ). Die Konzentrationen von CA125 der inv BOT unterschieden sich dagegen statistisch signifikant ( $p=0,001$ ) im Vergleich zur Gruppe mit benignen RF. Ähnlich wie bei den medianen HE4-Konzentrationen auch ergaben sich für die CA125-Konzentrationen zwischen inv BOT und non-inv BOT keine statistisch signifikanten Unterschiede ( $p=0,201$ ). Die Analysen der ROC-Kurven haben ergeben, dass CA125 im Vergleich zu HE4 und ROMA auch nach Matching, Patientinnen mit inv BOT besser von solchen mit benignen RF und non-inv BOT unterscheiden kann. Die AUC für CA125, HE4 und ROMA waren 0,788 ( $p=0,045$ , 95 %-KI 0,598-0,978), 0,660 ( $p=0,266$ , 95 %-KI 0,387-0,933) und 0,744 ( $p=0,090$ , 95 %-KI 0,537-0,951). Für die dritte Studie wurden 73 Patientinnen, die sich aufgrund eines Tumorrezidivs oder aufgrund eines chronischen Subileus/Ileus einer sekundären zytoreduktiven Operation unterzogen haben, ausgewählt. Das mediane Alter bei Erstdiagnose betrug 53 Jahre (21-77 Jahre). Die Mehrheit der Patientinnen (93,1 %) wies einen serösen Subtyp auf. Bei 49 Patientinnen (66,7 %) konnte ein optimales Tumordebülking im Sinne einer totalen makroskopischen Tumorfreiheit erreicht werden. Dreiundsechzig (86,3 %) der 73 Patientinnen

waren nach Erstlinientherapie als platin-sensitiv eingestuft worden.

Die medianen präoperativen HE4- und CA125-Konzentrationen waren 105,3 pM (36,5-900 pM) und 149 U/ml (10-32398 U/ml). Erhöhte HE4-Konzentrationen waren signifikant mit größeren Aszitesmengen ( $p < 0,001$ ), mit der Tumorreduktion ( $p = 0,001$ ) und dem Tumorrest nach der sekundären zytoreduktiven Operation ( $p < 0,001$ ) assoziiert. Patientinnen, die zum Zeitpunkt der Operation eine Peritonealkarzinose aufwiesen, wiesen signifikant höhere Werte für HE4 (44,91 vs. 26,45 pM,  $p = 0,002$ ) und CA125 (41,32 vs. 25,55 U/ml,  $p = 0,005$ ) auf als diejenigen ohne Peritonealbefall. Zwischen den Konzentrationen für CA125 und HE4 zeigte sich eine statistisch signifikante Korrelation (Spearman's rho=0,364,  $p = 0,002$ ).

Abbildung 4 zeigt, dass sich bei Patientinnen mit Befall des mittleren Abdomens (IMO-Level 2) erhöhte CA125-Werte im Vergleich zu den Patientinnen, die keinen Befall dieser Region aufwiesen (37,9 vs. 23,92 U/dl,  $p = 0,030$ ), ergaben. Zudem hatten Patientinnen mit höheren HE4-Konzentrationen häufiger einen Befall im oberen Abdomen im Vergleich zu denjenigen mit niedrigeren HE4-Konzentrationen (48,33 vs. 24,13 pM,  $p < 0,001$ ).

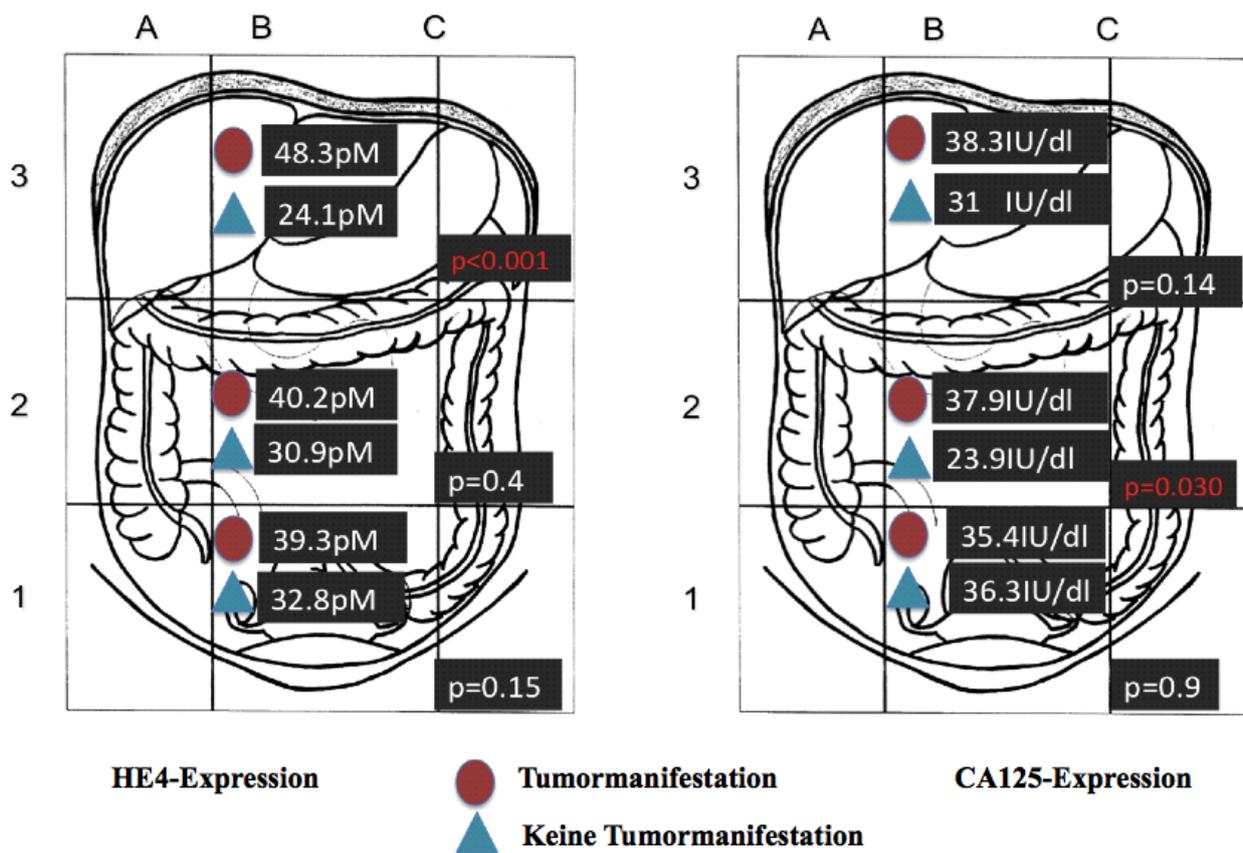


Abbildung 4: HE4- und CA125-Konzentrationen bezogen auf das Tumorbefallmuster im Rahmen des Intraoperative Mapping of Ovarian Cancer (IMO) (13)

Die univariate Analyse hat ergeben, dass die HE4-Konzentration signifikant mit der Masse an

Tumorrest korreliert: für HE4 betrug die AUC 0,731 ( $p = 0,001$ , 95 % KI 0,601–0,861). Für CA125 konnte diesbezüglich das statistische Signifikanzniveau nicht erreicht werden ( $p = 0,075$ , AUC 0,632, 95 % KI 0,484–0,779). Tabelle 2 gibt einen Überblick über die entsprechenden Sensitivitäten und Spezifitäten bezüglich der verschiedenen ermittelten Cut-Off-Werte für HE4 und CA125 alleine bzw. in Kombination.

**Tabelle 2. Sensitivität und Spezifität von HE4, CA125 und der Kombination beider Biomarker für den Tumorrest**

<b>Biomarker</b>	<b>Cut-Off-Wert</b>	<b>Sensitivität (%)</b>	<b>Spezifität (%)</b>
<b>HE4</b>	72 pM	88,0	47,9
	250 pM	52,0	93,8
<b>CA125</b>	≤600 IU/L	43,5	91,5
<b>HE4 &gt; 250 pM oder CA125 &gt; 600 IU/L</b>	1 Risiko	67,9	88,2
<b>HE4 &gt; 250 pM und CA125 &gt; 600 IU/L</b>	2 Risiken	28,6	98,0

Nach Adjustierung der HE4- und CA125-Konzentrationen, blieb die HE4-Konzentration signifikant bezogen auf die Vorhersage für das beste zytoreduktive Outcome ( $p = 0,001$ , OR 12,615, 95 % KI 1,413–136,554 für einen Cut-Off-Wert für HE4 von 250 pM).

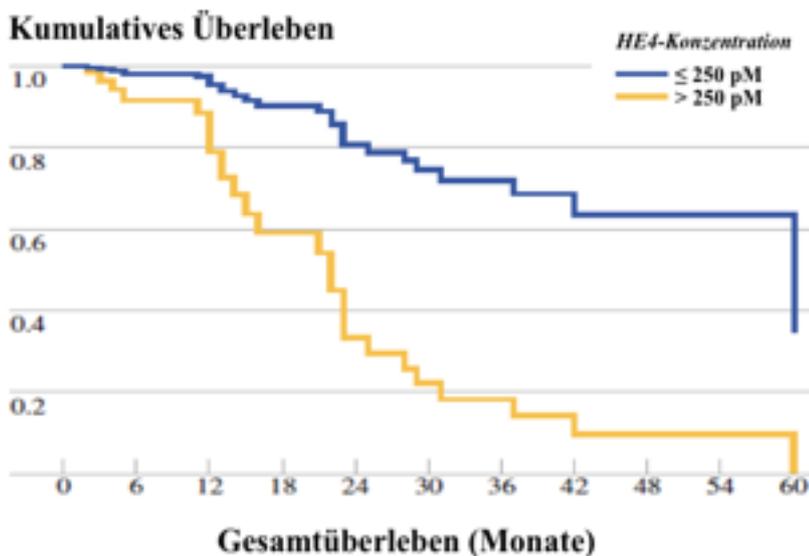
In der multivariaten Analyse erwiesen sich lediglich HE4 ( $p = 0,036$ , OR 10,18, 95 % KI 1,16–88,69) sowie Aszitesmenge ( $p = 0,029$ , OR 7,2, 95 % KI 1,22–42,19) als unabhängige prädiktive Biomarker für den postoperativen Tumorrest. In die multivariate Analyse gingen neben HE4 und CA125 auch die klassischen prognostisch relevanten klinisch-pathologischen Parameter mit ein (Alter bei Erstdiagnose, FIGO-Stadium, histologischer Subtyp, Grading, die Aszitesmenge sowie das Ansprechen auf platinhaltige Chemotherapie).

Zwischen der HE4-Konzentration und dem Ansprechen auf platinhaltige Chemotherapie konnte keine signifikante Assoziation gefunden werden.

Die mediane Nachbeobachtungszeit betrug 18 Monate (0-57 Monate). Die HE4-Konzentration korrelierte signifikant mit dem OS ( $p = 0,010$ ). Es wurde ein HE4-Cut-Off-Wert von 250 pM verwendet. Im nächsten Schritt wurde ein multivariates Modell mit folgenden Variablen entwickelt: Alter bei Erstdiagnose, histologischer Subtyp, Aszitesmenge, Tumorrest, HE4- und CA125-Konzentrationen sowie das Ansprechen auf platinhaltige Chemotherapie. Das Ansprechen auf platinhaltige Chemotherapie und die HE4-Konzentration waren die einzigen unabhängigen prognostischen Faktoren für das OS ( $p < 0,001$ , HR 18,77, 95 % KI 4,68–75,25 und  $p = 0,044$ , HR 3,33,

95 % KI 1,03–10,7).

Abbildung 5 zeigt, dass sich HE4 als signifikanter unabhängiger prognostischer Faktor erwies als die Analyse nur in der Gruppe der platin-sensitiven Patientinnen mit erstem Rezidiv durchgeführt



**Abbildung 5: Gesamtüberleben nach dem ersten Rezidiv für Patientinnen mit hoher gegenüber Patientinnen mit niedriger HE4-Konzentration**

wurde ( $p = 0.001$ , HR 21,65, 95 % KI 3,68–127,16).

In der gesamten Kohorte und in der Gruppe der platin-sensitiven Patientinnen wurden keine Assoziationen zwischen der HE4-Konzentration und dem PFS festgestellt ( $p = 0,153$  und  $p = 0,146$ ). Lediglich das Ansprechen auf platinhaltige Chemotherapie erreichte in dieser Frage in der multivariaten Analyse weiterhin das Signifikanzniveau ( $p = 0,011$ , HR 5,01, 95 % KI 1,44–17,41).

## Diskussion

Wir untersuchten zunächst, ob es eine erhöhte HE4-Gewebeexpression bei non-inv BOT gibt und konnten eine schwache Expression von HE4 in unserer Kohorte feststellen. Es zeigte sich allerdings, dass in rund einem Drittel der Fälle keinerlei HE4-Expression nachweisbar war. Wir konnten keine signifikante Korrelation zwischen der HE4-Gewebeexpression und dem Alter bei Erstdiagnose feststellen. Es zeigten sich zudem kaum Unterschiede zwischen serösen und muzinösen BOT bezüglich der HE4-Expression, wohingegen insbesondere bei Patientinnen mit serösen EOC erhöhte HE4-Konzentrationen beschrieben worden sind (10). In unserer Kohorte konnten wir eine schwache lineare Korrelation zwischen einem niedrigeren FIGO-Stadium und einer höheren HE4-Gewebeexpression feststellen. Diese Korrelation war allerdings nicht statistisch signifikant und muss aufgrund der niedrigen Anzahl an Fällen mit Vorsicht interpretiert werden. Zudem ist eine direkte Übertragung dieser Beobachtung auf Patientinnen mit EOC nicht ohne Weiteres möglich: Escudero et al. konnten zeigen, dass sowohl HE4- als auch CA125-Konzentrationen mit dem histologischen Subtyp und dem FIGO-Stadium assoziiert waren, wobei sich in den FIGO-Stadien I und II niedrigere Konzentrationen messen ließen als in den FIGO-Stadien III und IV (14). Im Gegensatz

dazu, haben Köbel et al. die Expression von 21 verschiedenen Biomarkern, einschließlich HE4, in den einzelnen histologischen Subtypen von EOC-Patientinnen untersucht und keine statistisch signifikanten Expressionsunterschiede in den verschiedenen FIGO-Stadien gefunden (15).

Unsere Studie hat gezeigt, dass bereits bestehende Erkenntnisse aus der EOC-Forschung nicht per se auf BOT übertragbar sind. BOT müssen als eine eigenständige Krankheitsentität angesehen werden, die nicht der Pathologie des häufigsten Subtyps der EOC, dem High-grade serösen Ovarialkarzinom (HGSOC), entsprechen; diese Annahme wird unter anderem dadurch gestützt, dass BRAF- und KRAS-Mutationen sowohl bei inv BOT als auch bei LGOC gefunden werden und sich ihr Genexpressionsprofil ähnelt (5) und dass inv BOT und LGOC auf eine platin-basierte Chemotherapie erfahrungsgemäß schlechter ansprechen als HGSOC. Die wesentliche Schwachstelle unserer Studie lag in der niedrigen Anzahl an Fällen, was wiederum der niedrigen Inzidenz von BOT geschuldet ist. Dennoch handelt es sich um eine der ersten Studien, in der ein möglicher Zusammenhang zwischen der HE4-Gewebeexpression bei BOT und den gängigen relevanten klinisch-pathologischen Faktoren untersucht wurde. Insbesondere vor dem Hintergrund, dass BOT eine Rolle als Präkanzerosen für low-grade EOC spielen könnten (8), wurden dann in unserer zweiten Studie auch die inv BOT miteinbezogen. Die zweite Studie hat gezeigt, dass CA125 und der ROMA-Score HE4 bezüglich der Unterscheidung zwischen BOT und benignen RF überlegen sind. Weder CA125 noch HE4 konnten Hinweise auf das Vorhandensein von inv BOT geben. Bei dieser Studie handelt es sich um die erste Arbeit, die die Rolle von HE4 und CA125 für die Vorhersage von non-inv BOT und inv BOT untersucht hat. Wie auch in unserer vorausgegangenen Arbeit zur HE4-Gewebeexpression bei non-inv BOT ist auch in dieser Studie die niedrige Anzahl an Fällen, insbesondere der inv BOT, ein limitierender Faktor gewesen. Das Vorliegen von inv BOT ist selten; so wiesen in einer multizentrischen Studie von Du Bois et al. nur 26 (2,7%) der insgesamt 950 BOT-Patientinnen invasive Implantate auf (2). In unserer Studie wiesen 15 Patientinnen zum Diagnosezeitpunkt inv BOT auf. Die Studie von Du Bois et al. hat ergeben, dass in Tumorstadien > FIGO I das Vorhandensein von Implantaten mit einem erhöhten Risiko für Rezidivgeschehen und mit maligner Transformation assoziiert waren (2). Ferner konnten Du Bois et al. in 46,2% von 1937 untersuchten BOT-Fällen keine erhöhten CA125-Konzentrationen feststellen (2). In unserer Studie waren die Konzentrationen von HE4 und CA125 zwischen benignen Raumforderungen, BOT und inv BOT nur bei den postmenopausalen Patientinnen signifikant unterschiedlich. Dennoch vermochten weder CA125, HE4 noch ROMA zwischen den beiden Gruppen von BOT (non-inv BOT vs. inv BOT) zu unterscheiden. Unter anderem hat eine Studie von Urban et al. gezeigt, dass die HE4-Konzentration langsam mit dem Alter ansteigt und vor allem bei Frauen  $\geq 55$  Jahren mit einem Anstieg von 27,1% pro Dekade verbunden ist (16). Dieser Erkenntnisse waren auch aus-

schlaggebend dafür, dass wir eine Analyse mit Matching nach Alter und histologischem Subtyp durchführten, in der sich allerdings unsere Ergebnisse aus der vorangegangenen nicht-gematchten Analyse bestätigten. Unsere Studie hat gezeigt, dass HE4 und ROMA bezüglich der Vorhersage von inv BOT dem Biomarker CA125 nicht überlegen sind. Der Mangel an Sensitivität und Spezifität der Biomarker HE4 und CA125 für die Vorhersage von BOT im Allgemeinen, unterstreicht darüber hinaus noch einmal, dass es sich bei den BOT um eine spezifische Entität handelt, deren Pathogenese noch nicht vollständig geklärt ist. Die niedrige Anzahl von non-inv BOT, aber insbesondere auch der inv BOT, die lange Nachbeobachtungszeit und die noch unzureichende Forschung machen es notwendig dass internationale, multizentrische Studien im Bezug auf diese Entität angestrebt werden. Diese Studien müssen unter Einbeziehung von insbesondere Universitätskliniken stattfinden, da diese signifikant höhere Raten an BOT-Operationen aufweisen als kleinere Krankenhäuser (1). Zudem muss auch die Suche nach alternativen Bio- oder anderen Surrogatmarkern angestrebt werden und die Rolle der Sonographie in diesem Zusammenhang noch gründlicher untersucht werden.

Im dritten Teil dieser Arbeit haben wir die prädiktive Rolle von HE4 für das chirurgische Outcome bei Patientinnen untersucht, die sich im Rahmen ihres ersten Rezidivs einer zweiten Debulking-Operation unterzogen haben. Es konnte gezeigt werden, dass HE4 einen unabhängigen prädiktiven Biomarker für die maximale makroskopische Tumorfreiheit darstellt. Die Sensitivitäten von HE4 und CA125 sind ähnlich bezüglich der Unterscheidungsfähigkeit zwischen malignen und benignen pelvinen RF, wobei HE4 eine höhere Spezifität aufweist (12). Wenn HE4 also vor allem von EOC-Zellen exprimiert wird, dann sollte sich die Entfernung des Tumors in postoperativ niedrigeren HE4-Konzentrationen widerspiegeln. Daraus ergibt sich die Annahme, dass HE4 ein prädiktiver Biomarker für das chirurgische Outcome von EOC-Patientinnen ist. Nach unserem Kenntnisstand stellt unsere Arbeit den bisher ersten Versuch dar, die Assoziation zwischen HE4 und chirurgischem Outcome von EOC-Patientinnen mit erstem Rezidiv zu untersuchen. Cut-Off-Werte mit Konzentrationen für CA125  $< 600$  U/ml und für HE4  $< 250$  pM dienten der Vorhersage einer maximalen Reduktion der Resttumormasse, also einem optimalen Tumordebulking, am Besten. Mit dem kombinierten Einsatz beider Biomarker konnte eine höhere Sensitivität und Spezifität erreicht werden. In der multivariaten Analyse waren HE4 und die Aszitesmenge unabhängige prädiktive Faktoren für das chirurgische Outcome. Patientinnen mit Tumorrezidiv im mittleren Abdomen wiesen höhere CA125-Konzentrationen auf als Patientinnen, die kein Rezidiv in dieser Körperregion hatten. Patientinnen mit Tumorrezidiv im oberen Abdomen wiesen dagegen höhere HE4-Konzentrationen auf als diejenigen, bei denen keine Tumormanifestation in dieser Körperregion zu finden war. Dieses Ergebnis ist besonders interessant, da neue Daten darauf schließen lassen, dass

unterschiedliche Metastasen von EOC verschiedene Biomarker exprimieren könnten (17). Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass CA125 und HE4 eine Rolle in der Vorhersage des Rezidivmusters spielen könnten, wobei weitere große prospektive Studien – kombiniert mit validen klinischen Daten – folgen müssen um dieser Frage detaillierter nachzugehen. Das von großem Interesse, da die Rolle der operativen Therapie in der Rezidivsituation – im Gegensatz zur Primärsituation – bisher noch unklar ist. In der retrospektiven DESKTOP OVAR-Studie der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) konnte gezeigt werden, dass in der ersten Rezidivsituation eine operative Therapie mit kompletter Tumoresektion einen Überlebensvorteil bringt (18). Allerdings ist die operative Therapie in der Rezidivsituation oftmals in einem palliativen Rahmen angesiedelt, in dem durchaus eine erhöhte Morbidität und Mortalität berücksichtigt werden müssen. Daher ist es wichtig, in zukünftigen Studien herauszufinden, welche Patientinnen in der Rezidivsituation von einer operativen Therapie profitieren könnten und welche Patientinnen dieser therapeutischen Option nicht zugeführt werden sollten. Ein weiteres Ergebnis dieser Arbeit war, dass präoperative HE4-Konzentrationen von prognostischer Signifikanz für das OS bei EOC-Patientinnen mit erstem Rezidiv sind. Kong et al. untersuchten 80 Patientinnen mit primärem EOC und stellten fest, dass erhöhte HE4-Konzentrationen signifikant mit einem schlechteren PFS korrelierten (Log-Rank-Test:  $p=0,0179$ ) (19). Steffensen et al. haben gezeigt, dass in einer Kohorte von 139 primären EOC-Patientinnen hohe HE4-Konzentrationen einen unabhängigen prognostischen Faktor für das PFS und OS darstellen (20). In unserer Studie waren HE4-Konzentration und Ansprechen auf platinhaltige Chemotherapie die einzigen unabhängigen prognostischen Faktoren für das OS. Für das PFS war dagegen in der multivariaten Analyse nur das Ansprechen auf platinhaltige Chemotherapie statistisch signifikant.

Der retrospektive Charakter, die relativ geringe Anzahl an Patientinnen und das Fehlen einer externen Validierungskohorte können als limitierende Faktoren dieser Studie angesehen werden. Da es sich allerdings um eine Single-Center-Studie an einem der weltweit wenigen Referenzzentren für EOC handelte, können wir – unter anderem durch Vermeidung von Center-Effekten – von einer hohen internen Validität der Studienergebnisse ausgehen.

Abschließend lässt sich konstatieren, dass weder CA125 noch HE4 oder die Kombination beider Biomarker die alleinige Grundlage für die Entscheidung sein können, ob eine sekundäre zytoreduktive Operation angestrebt werden sollte oder nicht. Klinische Parameter wie Aszitesmenge und Performancestatus könnten in Kombination mit CA125 und HE4 für die Etablierung eines validen Algorithmus zur Auswahl der geeignetsten Kandidatinnen für eine zytoreduktive Operation im zweiten Rezidiv in Betracht gezogen werden.

## Literaturverzeichnis

---

1. Coumbos A, Sehouli J, Chekerov R, Schaedel D, Oskay-Oezcelik G, Lichtenegger W, Kuehn W, North-Eastern German Society of Gynecological Oncology (NOGGO). Clinical management of borderline tumours of the ovary: results of a multicentre survey of 323 clinics in Germany, *Br J Cancer* 2009;11:1731-1738.
2. du Bois A, Ewald-Riegler N, de Gregorio N, Reuss A, Mahner S, Fotopoulou C, Kommoss F, Schmalfeldt B, Hilpert F, du Bois A1, Ewald-Riegler N, de Gregorio N, Reuss A, Mahner S, Fotopoulou C, Kommoss F, Schmalfeldt B, Hilpert F, Fehm T, Burges A, Meier W, Hillemanns P, Hanker L, Hasenburg A, Strauss HG, Hellriegel M, Wimberger P, Keyver-Paik MD, Baumann K, Canzler U, Wollschlaeger K, Forner D, Pfisterer J, Schröder W, Münstedt K, Richter B, Kommoss S, Hauptmann S; Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) Study Group. Borderline tumours of the ovary: A cohort study of the Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) Study Group. *Eur J Cancer* 2013;8:1905-1914.
3. Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO), Geneva, Switzerland, 1954.
4. Serov SF, Scully RE and Sobin LH: Histologic typing of ovarian tumours. In: World Health Organization, International Histological Classification and Staging of Tumours. First edition, Geneva, Switzerland, WHO Press, 1973.
5. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS and Young RH. WHO Classification of Tumours of female reproductive Organs. In: Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS et al., eds. WHO Classification of Tumours. Fourth edition, Lyon, France, WHO Press, 2014
6. Sehouli J. Ovarialkarzinom. *Gynakol Geburtsmed Gynakol Endokrinol* 2011;7:84-95.
7. Bast Jr RC, Hennessy B, Mills GB. The biology of ovarian cancer: new opportunities for translation. *Nat Rev Cancer* 2009;9:415-428.
8. Romero I, Bast RC Jr. Minireview: human ovarian cancer: biology, current management, and paths to personalizing therapy. *Endocrinology* 2012;4:1593-1602.
9. Hertlein L, Stieber P, Kirschenhofer A, Krockner K, Nagel D, Lenhard M, Burges A. Human epididymis protein 4 (HE4) in benign and malignant diseases. *Clin Chem Lab Med* 2012;12:2181-2188.
10. Drapkin R, von Horsten HH, Lin Y, Mok SC, Crum CP, Welch WR, Hecht JL. Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res* 2005;6:2162-2169.
11. Holcomb K, Vucetic Z, Miller MC, Knapp RC. Human epididymis protein 4 offers a superior specificity in the differentiation of benign and malignant adnexal masses in premenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 2011;4:358.e1-6.
12. Moore RG, McMeekin DS, Brown AK, DiSilvestro P, Miller MC, Allard WJ, Gajewski W, Kurman R, Bast RC Jr, Skates SJ. A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and

- CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 2009;1:40-46.
13. Sehouli J, Senyuva F, Fotopoulou C, Neumann U, Denkert C, Werner L, Gülten OO. Intra-abdominal tumor dissemination pattern and surgical outcome in 214 patients with primary ovarian cancer. *J Surg Oncol*. 2009;99:424-427.
  14. Escudero JM, Auge JM, Filella X, Torne A, Pahisa J, Molina R. Comparison of serum human epididymis protein 4 with cancer antigen 125 as a tumor marker in patients with malignant and nonmalignant diseases. *Clin Chem* 2011;11:1534-1544.
  15. Köbel M, Kalloger SE, Boyd N, McKinney S, Mehl E, Palmer C, Leung S, Bowen NJ, Ionescu DN, Rajput A, Prentice LM, Miller D, Santos J, Swenerton K, Gilks CB, Huntsman D. Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: implications for biomarker studies. *PloS Med* 2008;12:e232.
  16. Urban N, Thorpe J, Karlan BY, McIntosh MW, Palomares MR, Daly MB, Paley P, Drescher CW. Interpretation of single and serial measures of HE4 and CA125 in asymptomatic women at high risk for ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;11:2087–2094.
  17. Lili LN, Matyunina LV, Walker LD, Wells SL, Benigno BB, McDonald JF. Molecular profiling supports the role of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in ovarian cancer metastasis. *J Ovarian Res*. 2013;1:49.
  18. Harter P, du Bois A, Hahmann M, Hasenburg A, Burges A, Loibl S, Gropp M, Huober J, Fink D, Schröder W, Muenstedt K, Schmalfeldt B, Emons G, Pfisterer J, Wollschlaeger K, Meerpohl HG, Breitbach GP, Tanner B, Sehouli J; Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Committee; AGO Ovarian Cancer Study Group. Surgery in recurrent ovarian cancer: the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie (AGO) DESKTOP OVAR trial. *Ann Surg Oncol*. 2006;12:1702-10.
  19. Kong SY, Han MH, Yoo HJ, Hwang JH, Lim MC, Seo SS, Yoo CW, Kim JH, Park SY, Kang S. Serum HE4 level is an independent prognostic factor in epithelial ovarian cancer. *Ann Surg Oncol*. 2012;5:1707-1712.
  20. Steffensen KD, Waldstrøm M, Brandslund I, Jakobsen A. Prognostic impact of prechemotherapy serum levels of HER2, CA125, and HE4 in ovarian cancer patients. *Int J Gynecol Cancer*. 2011;6:1040-1047.

## **Eidesstattliche Versicherung**

---

„Ich, Mani Nassir, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „ Die Rolle von Humanem Epididymis Protein 4 (HE4) bei Borderline-Tumoren des Ovars (BOT) und beim rezidiertem epithelialen Ovarialkarzinom (EOC)“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

---

Unterschrift

## **Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen**

---

Mani Nassir hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

### **Publikation 1:**

Braicu EI, Van Gorp T, Nassir M, Richter R, Chekerov R, Gasimli K, Timmermann D, Vergote I, Sehouli J. Preoperative HE4 and ROMA values do not improve the CA125 diagnostic value for borderline tumors of the ovary (BOT) – a study of the TOC Consortium. *J Ovarian Res* 2014; 7:49.

Impact Factor: 2,428

Beitrag im Einzelnen:

Erstellung des Patientenkollektivs, Akquirieren und Vervollständigen der Daten inklusive der Follow-Up- (Nachsorge)-Angaben, Erstellung des Studiendesigns, Statistik, Literaturrecherche inklusive Erstellen der Quellenangaben, Erstellen des Manuskriptes, Integration der Beiträge der Koautoren in den Textfluss des Manuskriptes, Überarbeitung des Manuskriptes nach Begutachtung im Rahmen des Peer-Review-Verfahrens.

### **Publikation 2:**

Braicu EI, Chekerov R, Richter R, Pop C, Nassir M, Lofgren H, Stamatian, F, Muallem MZ, Hall, C, Fotopoulou C, Sehouli J, Pietzner K. HE4 expression in plasma correlates with surgical outcome and overall survival in patients with first ovarian cancer relapse. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 955-962.

Impact Factor: 3,930

Beitrag im Einzelnen:

Erstellung des Patientenkollektivs, Akquirieren und Vervollständigen der Daten inklusive der Follow-Up- (Nachsorge)-Angaben, Erstellung des Studiendesigns, Statistik, Literaturrecherche inklusive Erstellen der Quellenangaben, Erstellen des Ergebnis- und Diskussionsteils des

Manuskriptes, Integration der Beiträge der Koautoren in den Textfluss des Manuskriptes, Überarbeitung des Manuskriptes nach Begutachtung im Rahmen des Peer-Review-Verfahrens.

**Publikation 3:**

Nassir M, Darb-Esfahani S, Richter R, Chekerov R, Hall C, Muallem MZ, Denkert C, Stamatian F, Fotopoulou C, Sehouli J, Braicu EI. HE4 tissue expression in borderline ovarian tumors: a pilot study by the tumorbank ovarian cancer network. *Anticancer Res* 2013; 33: 1673-1677.

Impact Factor: 1,826

Beitrag im Einzelnen:

Erstellung des Patientenkollektivs, Akquirieren und Vervollständigen der Daten inklusive der Follow-Up- (Nachsorge)-Angaben, Erstellung des Studiendesigns, Statistik, Literaturrecherche inklusive Erstellen der Quellenangaben, Erstellen des Manuskriptes, Integration der Beiträge der Koautoren in den Textfluss des Manuskriptes, Einreichen des Manuskriptes beim Journal, Überarbeitung des Manuskriptes nach Begutachtung im Rahmen des Peer-Review-Verfahrens.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

---

## Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

---

### Publikation 1

Braicu EI, Van Gorp T, Nassir M, Richter R, Chekerov R, Gasimli K, Timmermann D, Vergote I, Sehouli J. Preoperative HE4 and ROMA values do not improve the CA125 diagnostic value for borderline tumors of the ovary (BOT) – a study of the TOC Consortium. *J Ovarian Res* 2014; 7:49.

<http://dx.doi.org/10.1186/1757-2215-7-49>

Impact Factor: 2,428

## **Publikation 2**

Braicu EI, Chekerov R, Richter R, Pop C, Nassir M, Loefgren H, Stamatian, F, Muallem MZ, Hall, C, Fotopoulou C, Sehouli J, Pietzner K. HE4 expression in plasma correlates with surgical outcome and overall survival in patients with first ovarian cancer relapse. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 955-962.

<http://dx.doi.org/10.1245/s10434-013-3347-1>

Impact Factor: 3,930

### **Publikation 3**

Nassir M, Darb-Esfahani S, Richter R, Chekerov R, Hall C, Muallem MZ, Denkert C, Stamatian F, Fotopoulou C, Sehouli J, Braicu EI. HE4 tissue expression in borderline ovarian tumors: a pilot study by the tumorbank ovarian cancer network. *Anticancer Res* 2013; 33: 1673-1677.

<http://ar.iiarjournals.org/content/33/4/1673.long>

Impact Factor: 1,826

## **Lebenslauf**

---

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## Publikationsliste

---

### Originalarbeiten

1. Nassir M, Darb-Esfahani S, Richter R, Chekerov R, Hall C, Muallem MZ, Denkert C, Stamatian F, Fotopoulou C, Sehouli J, Braicu EI. HE4 tissue expression in borderline ovarian tumors: a pilot study by the tumorbank ovarian cancer network. *Anticancer Res* 2013; 33: 1673-1677.
2. Braicu EI, Chekerov R, Richter R, Pop C, Nassir M, Lofgren H, Stamatian, F, Muallem MZ, Hall, C, Fotopoulou C, Sehouli J, Pietzner K. HE4 expression in plasma correlates with surgical outcome and overall survival in patients with first ovarian cancer relapse. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 955-962.
3. Braicu EI, Gasimli K, Richter R, Nassir M, Kümmel S, Blohmer JU, Yalcinkaya I, Chekerov R, Ignat I, Ionescu A, Mentze M, Fotopoulou C, Pop C, Lichtenegger W, Sehouli J, Tumor Bank Ovarian Cancer (TOC); German North Eastern Society of Gynecological Oncology (NOGGO). Role of serum VEGFA, TIMP2, MMP2 and MMP9 in monitoring response to adjuvant radiochemotherapy in patients with primary cervical cancer – results of a companion protocol of the randomized NOGGO-AGO phase III clinical trial. *Anticancer Res* 2014; 34: 385-391.
4. Muallem MZ, Braicu EI, Nassir M, Richter R, Sehouli J, Arsenic A. ERCC1 expression as a predictor of resistance to platinum-based chemotherapy in primary ovarian cancer. *Anticancer Res* 2014; 34: 393-399.
5. Braicu EI, Van Gorp T, Nassir M, Richter R, Chekerov R, Gasimli K, Timmermann D, Vergote I, Sehouli J. Preoperative HE4 and ROMA values do not improve the CA125 diagnostic value for borderline tumors of the ovary (BOT) – a study of the TOC Consortium. *J Ovarian Res* 2014; 7:49.
6. Seeber A, Braicu I, Untergasser G, Nassir M, Fong D, Botta L, Gastl G, Fiegl H, Zeimet A, Sehouli J, Spizzo G. Detection of soluble EpCAM (sEpCAM) in malignant ascites predicts poor overall survival in patients treated with

catumaxomab. *Oncotarget*. 2015; 6: 25017-25023.

7. Nassir M, Guan J, Luketina H, Siepmann T, Rohr I, Richter R, Castillo-Tong DC, Zeillinger R, Vergote I, Van Nieuwenhuysen E, Concin N, Marth C, Hall C, Mahner S, Woelber L, Sehouli J, Braicu EI. The role of HE4 for prediction of recurrence in epithelial ovarian cancer patients-results from the OVCAD study. *Tumour Biol* 2016; 37: 3009-3016.
8. Gasimli K, Braicu EI, Nassir M, Richter R, Babayeva A, Chekerov R, Darb-Esfahani S, Sehouli J, Muallem MZ. Lymph Node Involvement Pattern and Survival Differences of FIGO IIIC and FIGO IIIA1 Ovarian Cancer Patients After Primary Complete Tumor Debulking Surgery: A 10-Year Retrospective Analysis of the Tumor Bank Ovarian Cancer Network. *Ann Surg Oncol* 2016; 23: 1279-1286.
9. Rohr I, Zeillinger R, Heinrich M, Concin N, Vergote I, Nassir M, Mahner S, Van Nieuwenhuysen E, Trillsch F, Cacsire-Tong D, Chekerov R, Sehouli J, Braicu EI. Role of IGF-I in Primary Ovarian Cancer - A Study of the OVCAD European Consortium. *Anticancer Res* 2016; 36: 1015-1022.

### **Fallberichte und Übersichtsartikel**

1. Nassir M, Roth A, Gasimli K, Braicu EI, Fotopoulou C, Mawrin C, Badakhshi H, Warnke JP, Sehouli J. Is endometrial cancer really a neurophobic tumor? A case report and review of the literature. *Anticancer Res* 2014; 34: 249-257.
2. Volz MS, Nassir M (geteilte Erstautorenschaft), Treese C, von Winterfeld M, Plöckinger U, Epple HJ, Siegmund B. Inflammatory bowel disease (IBD)-like disease in a case of a 33-year old man with glycogenosis 1b. *BMC Gastroenterol* 2015; 15: 45.
3. Schneider T, Anagnostopoulos I, Nassir M, Schwartz S. Enigmatic meningitis in a patient with T cell lymphoma. *Ann Hematol* 2016; 95: 147-148.
4. Kruis T, Kredel L, Nassir M, Godbersen M, Schneider T. Benign recurring aseptic

meningitis: What requires our attention? Internist (Berl) 2016; 57: 188-193.

5. Braicu EI, Nassir M, Sehouli J. Tumormarker in der Nachsorge des Ovarialkarzinoms. Diagnostik im Dialog, Ausgabe 42, 11/2013, herausgegeben von Roche Diagnostics Deutschland GmbH

### **Kongressbeiträge und Abstracts**

1. Nassir M, Darb-Esfahani S, Richter R, Chekerov R, Hall C, Muallem MZ, Denkert C, Stamatian F, Fotopoulou C, Sehouli J, Braicu EI. HE4 tissue expression in borderline ovarian tumors: a pilot study by the tumorbank ovarian cancer network. Poster-Präsentation auf der 7. Internationalen Charité-Mayo-Konferenz Berlin, 2013.
2. Braicu EI, Van Gorp T, Richter R, Chekerov R, Timmermann D, Nassir M, Sehouli J, Vergote I. Surgical outcome score (SOS)-a new algorithm based on HE4 and CA125-predict surgical outcome in primary epithelial ovarian cancer (EOC) patient (pts). Poster-Präsentation (ID 5549), American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, Chicago, USA, 2013.
3. Nassir M, Braicu EI, Richter R, Chekerov R, Van Gorp T, Timmermann D, Vergote I, Sehouli J. An analysis of preoperatively HE4 and CA125 in matched samples of patients (pts) with benign disease and borderline ovarian tumors (BOT) with and without invasive implants (InvImp). J Clin Oncol 31, 2013 (suppl; abstr e22102).
4. Gasimli K, Braicu EI, Nassir M, Richter R, Babayeva A, Chekerov R, Darb-Esfahani S, Sehouli J, Muallem MZ. Lymph node involvement pattern and survival differences of FIGO IIIC[1] and FIGO IIIA1[2] ovarian cancer patients after primary complete tumor debulking surgery – a ten years retrospective analysis of the Tumor Bank Ovarian Cancer Network (TOC). Poster-Präsentation (ID 0008), 32. Deutscher Krebskongress, Berlin, 2016.

## Danksagung

---

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Jalid Sehouli meinen Dank aussprechen für die Überlassung des Promotionsthemas sowie für die Möglichkeit, in seiner Arbeitsgruppe mitwirken zu können. Herr Prof. Dr. med. Jalid Sehouli ist nicht nur mein Doktorvater, ich sehe in ihm auch einen leidenschaftlichen Arzt und Forscher. Sein klinisches und wissenschaftliches Engagement, seine Öffentlichkeitsarbeit und seine ungebrochene Energie im Kampf gegen bösartige gynäkologische Tumoren, insbesondere das Ovarialkarzinom, haben mich und viele andere junge Kolleginnen und Kollegen stets motiviert. Für seinen Zuspruch, seinen zwischenmenschlichen und fachlichen Beistand sowie für sein Vertrauen möchte ich mich herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau PD Dr. med. Elena Ioana Braicu, die die vorliegende Arbeit und eine Reihe anderer Projekte, an denen ich teilhaben durfte, mit Hingabe und positivem Nachdruck betreut hat. Ioana hat mir den Einstieg in die Materie schrittweise nähergebracht und mit mir und vielen anderen jungen Kolleginnen und Kollegen in zahlreichen Gesprächen neue Lösungswege und Ansätze aufgezeigt und sich dabei stets auch von ihrem Gegenüber inspirieren lassen.

Mein Dank gilt auch den beiden herausragenden Pathologen Frau PD Dr. med. Sylvia Darb-Esfahani und Herrn Prof. Dr. med. Carsten Denkert, die mit unserer Arbeitsgruppe eng kooperieren und stets neue Denkanstöße geben. An der ersten Studie, die im Rahmen dieser Promotionsarbeit entstanden und publiziert worden ist, war Sylvia als ausgewiesene Gynäko-Pathologin durch ihre immunhistochemische Arbeit und ihre laborexperimentelle Expertise maßgeblich beteiligt.

Herrn Rolf Richter möchte ich für seinen statistischen Beistand und seine große Geduld danken. Seine langjährige Erfahrung und Kooperation macht ihm zu einem festen und wichtigen Bestandteil der gesamten Arbeitsgruppe.

Für die große Geduld und ebenfalls langjährige Erfahrung von Frau Monika Mentze, MTA in der Tumorbank Ovarian Cancer (TOC), möchte ich mich an dieser Stelle auch ganz herzlich bedanken. Dieser Dank gilt auch dem gesamten Team des TOC, welches einen großen Beitrag zum reibungslosen Ablauf der Probenasservierung und der fachgerechten Datendokumentation geleistet hat.

Ferner gilt mein großer Dank allen an den einzelnen aus dieser Promotionsarbeit entstandenen Publikationen beteiligten Koautoren. Sie alle haben durch ihre Expertise maßgeblich an der guten Arbeit der einzelnen Teilprojekte mitgewirkt. Auch wenn es beim wissenschaftlichen Arbeiten nicht immer einfach erscheint, die Vorschläge und Ideen aller Beteiligten zu berücksichtigen, so ist es doch im Rahmen der Erstellung aller drei Studien gelungen, die Kommentare aller Beteiligten zu harmonisieren, wofür ich mich nochmals herzlich bedanken möchte.

Herzlich danken möchte ich meinen Eltern Brigitte und Ali, meiner Verlobten Daria sowie meinem besten Freund Bijan für den Zuspruch und die Geduld, die sie mir stets ausgesprochen und entgegengebracht haben.

Mein Dank gilt nicht zuletzt allen Patientinnen, die durch ihre Einwilligung zu den Studien im Rahmen der TOC-Projekte die Voraussetzung für diese und alle anderen Arbeiten geliefert haben und dies weiterhin tun. Ihr Schicksal verpflichtet uns, unsere Forschung nach bestem Wissen und Gewissen weiter voranzutreiben.