

Aus der Klinik für Gynäkologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Expression der Zellzyklusregulatorgene Cyclin A, Cyclin B1,
p16 und cdk2 beim Ovarialkarzinom

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Kristin Bernhardt

aus Berlin

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. A. Reles
2. Priv.-Doz. Dr. med. D. Lüftner
3. Prof. Dr. med. W. Friedmann

Datum der Promotion: 5. Juni 2011

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG.....	1
1. EPIDEMIOLOGIE	1
2. ÄTIOLOGIE.....	2
2.1. Karzinogenese durch Mutation von Tumorsuppressorgenen und Aktivierung von Proto-Onkogenen	2
2.2. Familiäre Ovarialkarzinome.....	4
3. HISTOLOGIE.....	5
4. SYMPTOME UND FRÜHERKENNUNG	6
5. PROGNOSEFAKTOREN	7
5.1. Klinische Prognosefaktoren	7
5.2. Tumorbiologische und tumorgenetische Prognosefaktoren	10
6. THERAPIE	12
6.1. Operative Therapie	12
6.2. Chemotherapie.....	12
6.2.1. Adjuvante und kurative Chemotherapie.....	13
6.2.2. Chemotherapie im Stadium III bei Tumorrest ≤ 1 cm und im Stadium IV mit kleiner Tumormasse.....	14
6.3. Molekularbiologische Therapieansätze.....	14
6.3.1. Gentherapie	14
6.3.2. Immuntherapie	15
7. ZELLZYKLUS.....	16
8. CYCLIN A.....	16
9. CYCLIN B1.....	17
10. p16.....	18
11. cdk2.....	18
12. ZIELSETZUNG DER ARBEIT	18
II. MATERIAL UND METHODEN	20
1. TUMORGEWEBE	20
2. KLINISCHE DATEN UND STATISTIK.....	20
3. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG	21
3.1. Immunhistochemische Methode.....	21
3.2. Protokoll für Cyclin A- Färbung an Paraffinmaterial	21
3.3. Auswertung von Cyclin A an Paraffinmaterial	23

3.4.	Protokoll für Cyclin B ₁ - Färbung an Paraffinmaterial	23
3.5.	Auswertung von Cyclin B ₁ an Paraffinmaterial.....	24
3.6.	Protokoll für p16- Färbung an Paraffinmaterial	24
3.7.	Auswertung von p16 an Paraffinmaterial.....	25
3.8.	Protokoll für cdk2- Färbung an Paraffinmaterial	26
3.9.	Auswertung von cdk2 an Paraffinmaterial	27
4.	VERWENDETE REAGENZIEN UND LÖSUNGEN.....	27
4.1.	Tris-Puffer (TBE).....	27
4.2.	Citrat-Puffer.....	27
4.3.	Na-Acetat-Puffer	27
III.	ERGEBNISSE.....	28
1.	KLINISCHE UND HISTOLOGISCHE DATEN.....	28
1.1.	Histologie	28
1.2.	Grading.....	30
1.3.	pathologische Tumorstadien.....	33
1.4.	FIGO.....	36
1.5.	Lymphknotenstatus	39
1.6.	Fernmetastasen	42
1.7.	Tumorrest	45
1.8.	Alter zum OP-Zeitpunkt.....	48
1.9.	Rezidiv.....	51
1.10.	Krankheitsverlauf	52
2.	IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON CYCLIN A BEIM OVARIALKARZINOM.....	53
2.1.	Korrelation von Cyclin A Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren	56
2.2.	Überlebensstatistik	57
2.2.1.	Überlebensstatistik klassifiziert nach Histologie	58
2.2.2.	Überlebensstatistik klassifiziert nach Grading.....	59
2.2.3.	Überlebensstatistik klassifiziert nach pT.....	61
2.2.4.	Überlebensstatistik klassifiziert nach FIGO.....	63
2.2.5.	Überlebensstatistik klassifiziert nach Lymphknotenstatus	65
2.2.6.	Überlebensstatistik klassifiziert nach Fernmetastasen	66
2.2.7.	Überlebensstatistik klassifiziert nach Tumorrest	68

3. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON CYCLIN B1 BEIM OVARIALKARZINOM.....	69
3.1. Korrelation von Cyclin B ₁ Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren	71
3.2. Überlebensstatistik	73
3.2.1. Überlebensstatistik klassifiziert nach Histologie	73
3.2.2. Überlebensstatistik klassifiziert nach Grading	74
3.2.3. Überlebensstatistik klassifiziert nach pT.....	76
3.2.4. Überlebensstatistik klassifiziert nach FIGO.....	78
3.2.5. Überlebensstatistik klassifiziert nach Lymphknotenstatus	79
3.2.6. Überlebensstatistik klassifiziert nach Fernmetastasen	81
3.2.7. Überlebensstatistik klassifiziert nach Tumorrest	82
4. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON p16 BEIM OVARIALKARZINOM...	84
4.1. Korrelation von p16 Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren.....	86
4.2. Überlebensstatistik	88
4.2.1. Überlebensstatistik klassifiziert nach Histologie	88
4.2.2. Überlebensstatistik klassifiziert nach Grading	89
4.2.3. Überlebensstatistik klassifiziert nach pT.....	91
4.2.4. Überlebensstatistik klassifiziert nach FIGO.....	93
4.2.5. Überlebensstatistik klassifiziert nach Lymphknotenstatus	95
4.2.6. Überlebensstatistik klassifiziert nach Fernmetastasen	96
4.2.7. Überlebensstatistik klassifiziert nach Tumorrest	98
5. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON cdk2 BEIM OVARIALKARZINOM.	99
5.1. Korrelation von cdk2 Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren.....	101
5.2. Überlebensstatistik	103
5.2.1. Überlebensstatistik klassifiziert nach Histologie	103
5.2.2. Überlebensstatistik klassifiziert nach Grading	105
5.2.3. Überlebensstatistik klassifiziert nach pT.....	107
5.2.4. Überlebensstatistik klassifiziert nach FIGO.....	109
5.2.5. Überlebensstatistik klassifiziert nach Lymphknotenstatus	111
5.2.6. Überlebensstatistik klassifiziert nach Fernmetastasen	112
5.2.7. Überlebensstatistik klassifiziert nach Tumorrest	114

IV. DISKUSSION	116
1. KLINISCHE UND HISTOLOGISCHE DATEN.....	116
1.1. Histologie	116
1.2. Grading.....	116
1.3. FIGO.....	116
1.4. pTN.....	116
1.5. Lymphknotenstatus	117
1.6. Fernmetastasen	117
1.7. Tumorstadium	117
1.8. Alter zum OP-Zeitpunkt.....	117
2. BEDEUTUNG DES ONKOGENS CYCLIN A.....	117
2.1. Korrelation von Cyclin A Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren	118
2.2. Prognostische Bedeutung	119
3. BEDEUTUNG DES ONKOGENS CYCLIN B1	120
3.1. Korrelation von Cyclin B ₁ Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren	121
3.2. Prognostische Bedeutung	122
4. BEDEUTUNG DES TUMORSUPPRESSORGENS P16.....	123
4.1. Korrelation von p16 Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren.....	123
4.2. Prognostische Bedeutung	124
5. BEDEUTUNG DES ONKOGENS CYCLIN CDK2	126
5.1. Korrelation von cdk2 Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren.....	126
5.2. Prognostische Bedeutung	127
V. ZUSAMMENFASSUNG	129
LITERATURVERZEICHNIS	132
TABELLEN UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS	140
DANKSAGUNG.....	145

I. EINLEITUNG

1. EPIDEMIOLOGIE

Weltweit ist das Ovarialkarzinom der sechsthäufigste maligne Tumor der Frau. Die jährliche Inzidenzrate zeigt altersstandardisiert geografische Unterschiede. Skandinavien hat mit 15 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner pro Jahr die höchste Inzidenzrate. In Nordamerika und Westeuropa liegt sie bei 10 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner, in Entwicklungsländern und Japan dagegen nur bei 3/100.000 (Pisani et al. 1993). Für Deutschland ergeben sich daraus etwa 9000 Neuerkrankungen pro Jahr.

In westlichen Industrieländern ist das Ovarialkarzinom die führende Todesursache bei den Genitalmalignomen (Aunoble et al. 2000).

Ovarialkarzinome treten in 95% der Erkrankungsfälle sporadisch auf. Dabei liegt das Risiko, im Laufe des Lebens an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, bei 1,6%. 5% der Ovarialkarzinome entstehen auf dem Boden einer erblichen Vorbelastung. In diesen Fällen erhöht sich das Lebenszeitrisiko auf über 5%, wenn bei einer Verwandten 1. Grades ein Ovarialkarzinom aufgetreten ist. Noch stärker gefährdet sind Frauen mit mehreren Ovarialkarzinomfällen in der Familienanamnese. Ist bei einer Frau eine Genmutation des BRCA1/2-Gens nachgewiesen (s.u.), kann das Lebenszeitrisiko 25 bis 50% betragen (Nguyen et al. 1994).

Das Erkrankungsrisiko für ein Ovarialkarzinom steigt mit zunehmendem Alter an. Frauen unter 40 Jahren erkranken nur selten. Knapp die Hälfte der Patientinnen ist über 60 Jahre alt (Pfisterer and du Bois 2002).

Da die meisten Fälle erst im fortgeschrittenem Tumorstadium diagnostiziert werden ist die Langzeitprognose schlecht. Die 5-Jahres-Überlebensrate betrug im Jahre 1993 noch weniger als 40% (Pisani et al. 1993). Innerhalb der letzten 30 Jahre hat sich das Langzeitüberleben von Patientinnen mit Ovarialkarzinom aber kontinuierlich verbessert. Mittlerweile wird weltweit eine 5-Jahres-Überlebensrate von 46,4% erreicht (Heintz et al. 2003).

2. ÄTIOLOGIE

Die Genese des Ovarialkarzinoms ist multifaktorieller Art. Genetische, hormonale und Umweltfaktoren sind von Bedeutung.

2.1. Karzinogenese durch Mutation von Tumorsuppressorgenen und Aktivierung von Proto-Onkogenen

Auf molekularer Ebene ist die Ätiologie des Ovarialkarzinoms weitgehend ungeklärt. Alle Zelltypen eines Ovars (epitheliale Zellen, Stromazellen und Keimzellen) sind in der Lage maligne zu entarten. Allerdings entstehen fast 90 % aller malignen Ovarialtumoren aus dem Oberflächenepithel des Organs (Pfisterer and du Bois 2002).

Daraus wurde die Hypothese abgeleitet, dass die Entstehung eines Ovarialkarzinoms mit der wiederholten Ruptur des Oberflächenepithels bei der Ovulation und den damit verbundenen, letztendlich fehlerhaften Reparaturmechanismen der Mikrotraumen zusammenhängt (Fathalla 1971). Diese Hypothese der „incessant ovulation“ wird durch epidemiologische Daten gestützt, wonach Multiparae ein geringeres Risiko haben ein Ovarialkarzinom zu entwickeln als Nulliparae. Eine frühe Menarche bzw. eine späte Menopause erhöht das Risiko ein Ovarialkarzinom zu bekommen, wohingegen Stillen und die Anwendung oraler Kontrazeptiva zu den protektiven Faktoren gehören.

Mittlerweile wurden auch experimentelle Ergebnisse vorgelegt, die für die Ovulationshypothese sprechen (Godwin et al. 1992; Testa et al. 1994). Dabei wurden Oberflächenepithelzellen aus den Ovarien von 10 ausgewachsenen weiblichen Ratten isoliert. Von diesen wurden in vitro Subkulturen angelegt. Die Zellen durchliefen dabei mehr als 20 Teilungen. Anschließend wurden sie auf den Verlust der Kontaktinhibition, die Fähigkeit zu unabhängigem Wachstum, die Fähigkeit tumorös zu wachsen und zytogenetische Abnormitäten getestet. Vor allem in den Zellen aus späten Zellteilungsgenerationen wurde alle vier getesteten Charakteristika beobachtet. Dieses Merkmal der passageabhängigen spontanen Transformation in ovariellen Oberflächenepithelien der Ratten unterstützt die oben beschriebene Hypothese.

Generell ist die Karzinogenese auf zellulärer Ebene mit einer Alteration von Genen verbunden, die für die Regulation von Wachstum und Differenzierung zuständig sind. Diese Gene sind in der Evolution meist gut erhalten. Es wird zwischen Onkogenen und

Tumorsuppressorgenen unterschieden, die molekularbiologisch beim Menschen nachgewiesen wurden (Gallion et al. 1995). Verschiedene Alterationen dieser Gene können Schritte in der Karzinogenese sein.

Am Beispiel des Kolonkarzinoms ist die Kette von genetischen Alterationen, die schließlich zur Krebszelle führen am besten untersucht. Durch die gute Zugänglichkeit des Gewebes für Probeentnahmen, konnte die Sequenzabfolge von genetischen Alterationen bestimmt werden. Diese Abfolge von Mutationen von Tumorsuppressorgenen und Onkogenen kann sicher nicht einfach auf alle anderen Tumoren übertragen werden, stellt aber ein gutes Modell für die Karzinogenese durch genetische Alterationen dar.

Tumorsuppressorgene kodieren für Proteine, die das Zellwachstum hemmen. Sie regulieren den Zellzyklus über verschiedenen Mechanismen. Bei reparablen DNA-Schäden halten sie den Teilungszyklus in der G₁-Phase an, bis die notwendigen DNA-Korrekturen stattgefunden haben (Weinberg 1991; Kuerbitz et al. 1992; Marx 1993). Sind die DNA-Schäden irreparabel, induzieren die Tumorsuppressorgene die Apoptose (Lowe et al. 1993; Williams and Smith 1993).

Bei Inaktivierung der Tumorsuppressorgene durch Mutation oder Deletion geht die wachstumshemmende Funktion verloren, und es kann zu einer ungehemmten Zellproliferation kommen (Harris and Hollstein 1993; Levine et al. 1994).

Rb (Retinoblastom), p53, WT 1 (Wilms Tumor), NF1 und NF2 (Neurofibromatosis Typ 1 und 2)), APC (Adenomatous Polyposis Coli) und DCC (Deleted in Colon Cancer) sind die bekanntesten und am meisten erforschten Tumorsuppressorgene (Hinds and Weinberg 1994).

Proto-Onkogene kodieren für Proteine, die in der Wachstumsstimulierung eine wichtige Rolle spielen. Sie können durch verschiedene Mechanismen zu Onkogenen aktiviert werden. Es wird unterschieden zwischen verändertem Genprodukt durch Mutation, Deletion, Translokation und gesteigerter Genexpression durch Amplifikation (Bishop 1991). In unterschiedlichen Tumoren sind verschiedene Onkogene aktiviert (Gallion et al. 1995). Onkogene wurden erstmals in Retroviren entdeckt. Später wurden auch in Vertebraten Gene identifiziert, die an der Wachstumsregulierung beteiligt und homolog zu den viralen Onkogenen aufgebaut sind. Ein wichtiger Mechanismus der Onkogenaktivierung ist die Genamplifikation. In normalen Zellen wird jeder Abschnitt eines Genoms nur ein einziges

Mal während der S-Phase eines Zellzyklus repliziert. Bei Tumorzellen kann eine abnormale Vervielfältigung von bestimmten DNA-Domänen in RNA zu einer verstärkten Expression dieser Region und damit des Proteins führen (Berchuck et al. 1992). Sicher handelt es sich bei der Tumorentstehung aber um einen multifaktoriellen Prozess. Neben der Genamplifikation, die zur Überexpression führt, können in Tumoren Punktmutationen, Deletionen und Genfusion durch Chromosomentranslokation nachgewiesen werden.

In vitro ist die Expression von zwei oder mehr Onkogenen zur malignen Transformation notwendig (Hunter 1991). Tumorsuppressorgene haben eine Gegenspielerfunktion zu den Onkogenen und unterdrücken deren proliferative Wirkung. In der Karzinogenese beim Menschen ist die Kooperation von mehreren mutagenen Genen erforderlich. Es werden vermutlich 5-6 Schritte benötigt (Bishop 1991; Hunter 1991) Dies erklärt sich durch die Tatsache, dass auch in der normalen Zelle multiple Mechanismen und Wege zur Wachstumsregulierung vorhanden sind, und die kooperierenden Onkogene unterschiedliche Signalwege betreffen.

2.2. Familiäre Ovarialkarzinome

Bei Erkrankung von mindestens zwei Verwandten 1. Grades an einem Ovarialkarzinom, einer Verwandten 1. Grades mit Ovarialkarzinom vor dem 40. Lebensjahr oder einer Verwandten 1. Grades mit Ovarial- und Mammakarzinom spricht man von einem hereditärem Ovarialkarzinom. Nach ihrem Phänotyp lassen sich hereditäre Ovarialkarzinome zwei definierten Syndromen zuordnen:

1. Das Brust-Ovarialkarzinom Syndrom (hereditary breast-ovarian cancer, HBOC) ist für 85-90% aller erblich bedingten Krebserkrankungen verantwortlich (Pfisterer and du Bois 2002). In den meisten Fällen des HBOC liegen inaktivierende Mutationen des BRCA1-Gens auf Chromosom 17q21 vor. Frauen mit einer Mutation dieses Gens haben ein kumulatives Risiko von 65% bis zum 70. Lebensjahr an einem Mammakarzinom, und ein 40%iges Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken (Antoniou et al. 2003). Das BRCA2-Gen liegt auf Chromosom 13q12 und verursacht ein hohes Mammakarzinom- (45%) und ein geringes Ovarialkarzinomrisiko (11%) (Ford and Easton 1995; Antoniou et al. 2003). Im Kontrast dazu liegt das Risiko der Normalbevölkerung an einem Ovarialkarzinom zu erkranken bei 1-2%. Die Inaktivierung der Tumorsuppressorgene BRCA1 und BRCA2 durch Mutation bewirkt

einen Ausfall wichtiger DNA-Reparaturmechanismen und eine maligne Transformation der Zellen kann auftreten.

2. Das hereditäre nichtpolypöse Kolorektalkarzinom-Syndrom (HNPCC) bewirkt das Auftreten eines familiären, autosomal dominant vererbten Kolonkarzinoms. Dieses zeichnet sich durch ein frühes Erkrankungsalter, eine gute Prognose und eine Lokalisation typischerweise proximal der linken Kolonflexur aus. Es wird auch als Lynch I Syndrom bezeichnet (Lynch et al. 1993). Das Lynch II Syndrom zeigt gleichzeitig ein erhöhtes Risiko für verschiedene andere Tumore, z.B. des Endometriums, der Ovarien und des Magens. Ovarialkarzinome treten bei 5-10% der HNPCC-Patientinnen auf. Die Genalteration bei liegen bei dieser Erkrankung im Bereich eines der folgenden Gene: hMSH2, hMLH1, hPMS1 oder hPMS2 (Craanen et al. 1996).

Über die klinischen Merkmale hereditärer Ovarialkarzinome ist folgendes bekannt (Pfisterer and du Bois 2002):

- Das mediane Erkrankungsalter ist niedriger als bei sporadisch auftretenden Ovarialkarzinomen, insbesondere bei Vorliegen einer BRCA1-Mutation.
- Hinsichtlich Histologie und Grading bestehen keine Unterschiede zu den sporadischen Formen.

Ob hereditäre Ovarialkarzinome eine ungünstigere Prognose besitzen als sporadische Ovarialkarzinome lässt sich derzeit noch nicht beurteilen.

3. HISTOLOGIE

Nach der WHO-Klassifikation werden die malignen Ovarialtumoren histologisch in folgende Gruppen unterteilt:

Epitheliale Tumoren (90%)

serös

muzinös

endometrioid

klarzellig

Brenner

gemischt epithelial

undifferenziert epithelial

unklassifiziert epithelial

Keimstrangtumoren (6%)

Granulosa- und Thekazelltumor

Androblastome, Sertoli-Leydigzelltumor

Gynandroblastome

Lipidzelltumoren

Hypernephrom, Luteom

Keimzelltumoren (3%)

Dysgerminom

Dottersacktumor

Embryonales Karzinom

Chorionkarzinom

Polyembryom

Teratom (unreif, reif und monodermal)

Gonadoblastome

Tumoren der Keimzellen und Zellen der Keimleiste

Tumoren des nicht sexuell differenzierten Stromas (bindegewebige Tumoren)

Unklassifizierbare Tumoren

Metastasen

4. SYMPTOME UND FRÜHERKENNUNG

Typische, aber wenig spezifische Symptome, die der Diagnose „Ovarialkarzinom“ vorangehen sind häufig Meteorismus, Völlegefühl, Spannungsgefühl im Abdomen, Müdigkeit und Abgeschlagenheit, selten Stuhl- und Miktionsbeschwerden (Olson et al. 2001). Diese treten zumeist mit zunehmender Tendenz aus völligem Wohlbefinden heraus auf.

In jüngster Zeit werden neue und viel versprechende diagnostische Biomarker zur Früherkennung von Karzinomen diskutiert. Die Autoren Petricoin et al. berichten in einer Publikation, dass in Serumproben (50 Ovarialkarzinompatientinnen und 50 Kontrollseren) eine charakteristische Verteilung von Schlüsselproteinen und Peptiden identifiziert worden ist, mit deren Hilfe die Unterscheidung von Frauen mit einem Ovarialkarzinom und Frauen mit benignen Ovarialtumoren und anderen gynäkologischen Erkrankungen des Beckens mit großer Sicherheit möglich ist (Petricoin et al. 2002).

5. PROGNOSEFAKTOREN

Die Prognose von Patientinnen mit Ovarialkarzinom wird in erster Linie durch klinische Indikatoren, wie Stadium der Erkrankung, Histologie des Primärtumors und den postoperativ verbliebenen Tumorrest bestimmt (Berek et al. 1999).

Tumorbiologische Prognosefaktoren, die die malignen Eigenschaften der Tumorzelle wie Proliferation, Invasion, Metastasierung und Ansprechen auf eine Chemotherapie beeinflussen, liefern wichtige Zusatzinformationen über den Verlauf der Erkrankung (Schmalfeldt et al. 2001).

5.1. Klinische Prognosefaktoren

Der Ovarialtumor breitet sich zunächst intraperitoneal (Douglas, Excavatio vesicouterina, großes Netz, rechte Zwerchfellkuppel) und über die Lymphwege (pelvine und paraaortale Lymphknoten) aus.

Schon früh kann es zu einer massiven Aszitesbildung und Pleurakarzinose kommen. Beim Fortschreiten der Erkrankung erfolgt ein invasives Wachstum im kleinen Becken (Blase, Vagina, Rektum) und Abdomen, später eine Fernmetastasierung (Leber, Lunge, Knochen, Milz, Niere, Haut und Gehirn).

Bei Erstdiagnose wird die Ausbreitung der Krankheit festgestellt und einem Stadium der FIGO- (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique) bzw. TNM-Klassifikation zugeordnet. Sie ist entscheidend für die Prognose der Patientin.

TNM	FIGO	
T 1	I	Tumor auf die Ovarien beschränkt
T 1a	I a	Tumor auf ein Ovar beschränkt, kein Aszites
T 1a1	I a(I)	Kapsel intakt, kein Tumor auf der Oberfläche
T 1a2	I a(II)	Kapsel rupturiert oder Tumor auf der Oberfläche
T 1b	I b	beide Ovarien befallen, kein Aszites
T 1b1	I b(I)	Kapsel intakt, kein Tumor auf der Oberfläche
T 1b2	I b(II)	eine oder beide Kapseln rupturiert oder Tumor auf einer oder beiden Oberflächen
T 1c	I c	Tumor auf ein oder beide Ovarien beschränkt, Aszites oder Peritoneallavage mit malignen Zellen
T 2	II	Tumor eines oder beider Ovarien, Ausdehnung auf das kleine Becken beschränkt
T 2a	II a	Befall von Uterus oder Tuben, kein Aszites
T 2b	II b	Befall von anderen Organen im kleinen Becken, kein Aszites
T 2c	II c	Befall von Organen des kleinen Beckens, Aszites oder Peritoneallavage mit malignen Zellen
T 3	III	Tumor eines oder beider Ovarien, intraperitoneale Metastasen außerhalb des kleinen Beckens (oder Lymphknotenmetastasen bei FIGO III) Befall vom Omentum majus oder Dünndarm
T 3a	III a	Ausschließlich Mikrometastasen außerhalb des kleinen Beckens
T 3b	III b	Metastasen bis 2 cm
T 3c	III c	Metastasen > 2 cm oder retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
M1	IV	Fernmetastasen außerhalb der Bauchhöhle (Pleuraerguss mit positiver Zytologie, Einbruch in

	Blase oder Darm, Metastasen in Lunge, Leber, Skelett, Gehirn oder anderen Organen)
N 0	kein Anhalt für Befall regionärer Lymphknoten
N 1	Befall regionärer (= iliakaler oder paraaortaler) Lymphknoten

Tab. 1: Klassifikation nach TNM und FIGO

Die 5-Jahresüberlebensrate für das invasive Ovarialkarzinom liegt abhängig von den FIGO-Stadien bei 76% (FIGO I), 42% (FIGO II), 21% (FIGO III) und 6% (FIGO IV) (Brun et al. 2000).

Dabei hat sich beim fortgeschrittenen Tumorstadium FIGO III der postoperativ verbliebene Tumorrest als der stärkste, unabhängige prognostische Parameter erwiesen. Patientinnen, die tumorfrei operiert werden können, leben signifikant länger, als Patientinnen, bei denen ein Tumorrest verbleibt. Die Prognose ist umso ungünstiger, je größer der belassene Tumorrest ist (Makar et al. 1995; Kuhn et al. 1999; Brun et al. 2000; Bristow et al. 2002).

Bezüglich des histologischen Subtyps weisen serös-papilläre Karzinome eine signifikant ungünstigere Prognose auf als die klarzelligen, muzinösen und endometroiden Karzinome (Kosary 1994; Makar et al. 1995; Brun et al. 2000).

Weiterhin ist ein höheres Erkrankungsalter (>60 Jahre) sowie ein positiver retroperitonealer Lymphknotenstatus mit einer geringeren Überlebenswahrscheinlichkeit korreliert (Makar et al. 1995; Brun et al. 2000).

Das histologische Grading ist ein weiterer wichtiger Prognosefaktor. Dabei wird der histologische Differenzierungsgrad eines Tumors in GI bis GIII eingeteilt. Ein GI-Tumor ist gut, ein GII-Tumor ist mäßig und ein GIII-Tumor ist schlecht differenziert. Ein schlechter Differenzierungsgrad bedeutet eine schlechte Prognose (Kosary 1994; Makar et al. 1995). Die 5-Jahresüberlebensrate beträgt bei gut differenzierten Tumoren 80%, bei mäßig differenzierten Tumoren 50% und bei schlecht differenzierten Tumoren 23% (Kosary 1994). Einige Untersuchungen schreiben dem Grading eine Bedeutung nur in den frühen Tumorstadien FIGO I und II zu, nicht aber bei fortgeschrittener Erkrankung, andere Untersucher sehen diesen Unterschied nicht (Dembo et al. 1990).

Die Halbwertszeit des Tumormarkers CA 125 lässt sowohl postoperativ, als Ausdruck des Ansprechens auf die Chemotherapie, als auch bei primärer Chemotherapie Rückschlüsse auf den weiteren Verlauf der Erkrankung zu (Meier 1997).

5.2. Tumorbiologische und tumorgenetische Prognosefaktoren

Zu den tumorbiologischen Prognosefaktoren zählen Zellproliferation und Apoptose auf der einen Seite sowie invasive und metastatische Kapazität auf der anderen Seite.

Eine hohe Proliferationsrate von Tumoren gilt als prognostisch ungünstig. Diese lässt sich durch den immunhistochemischen Nachweis von Proliferationsmarkern bestimmen. Eine Überexpression des Proliferating Cell Nuclear Antigens (PCNA) sowie des Ki 67 Antigens und die abnormale Expression von Wachstumsfaktoren ist mit einer schlechten Prognose assoziiert (Schönborn 1996).

Die Mehrzahl der Ovarialkarzinome weisen multiple genetische Alterationen auf. Dies zeigt sich häufig in einer DNA-Aneuploidie (Chromosomensätze, die sich durch ein zusätzliches oder ein fehlendes Chromosom auszeichnen). Diese besitzt nach einigen Studien, vor allem in den frühen Stadien, prognostische Relevanz (Braly and Klevecz 1993; Marx et al. 1997). In einer Studie von 1994 wurde die Aneuploidie als unabhängiger prognostischer Faktor beobachtet (Gajewski et al. 1994). Andere Studien konnten diese Assoziation nicht bestätigen (Reles et al. 1998). Aneuploide Ovarialkarzinome sind signifikant mit einem schlechten Differenzierungsgrad (GIII) und hohem Lebensalter assoziiert (Reles et al. 1998).

Molekularbiologische Untersuchungen der letzten Jahre haben deutlich gemacht, dass sich die einzelnen histologischen Typen der Ovarialkarzinome auf molekularer Ebene unterscheiden. Der Funktionsverlust des Tumorsuppressorgens p53 ist vor allem für die aggressiven Tumortypen (seröse Karzinome, fortgeschrittene, endometroide Karzinome) typisch und von prognostischer Relevanz (Aunoble et al. 2000; Geisler et al. 2000). Reles et al. fanden in 56% der untersuchten Ovarial-Karzinome eine Mutation des p53-Gens. In diesen Fällen war die Zeit bis zur Progression der Erkrankung und die Gesamtüberlebenszeit verkürzt (Reles et al. 2001).

In etwa 20% der Ovarialkarzinome wird eine Amplifikation der Her-2/ neu-Onkogens oder die Überexpression des Her-2/ neu-Proteins beschrieben. Bisher ist aber nicht eindeutig geklärt, ob der Amplifikation oder Überexpression des Her-2/neu beim Ovarialkarzinom eine prognostische Relevanz zugeschrieben werden kann (Fajac et al. 1995; Meden and Kuhn 1997).

Als Parameter der Invasivität und Metastasierungsneigung sind Tumorproteasen zu nennen. Diese werden von malignem Ovarialgewebe im Vergleich zum benignen Ovarialgewebe vermehrt gebildet. So stellen der Plasminogenaktivator vom Urokinasetyp (uPA) sowie sein spezifischer Inhibitor PAI-1 unabhängige Prognosefaktoren dar. Sie besitzen auch in der Gruppe der tumorfrei operierten Patientinnen prognostische Relevanz (Kuhn et al. 1999). Für MMP-9, eine Metallproteinase wurde ebenfalls eine prognostische Relevanz beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom diskutiert (Schmalfeldt et al. 2001).

Epitheliale Ovarialkarzinome (Dembo et al. 1990)	
Klinische Prognosefaktoren	Tumorbiologische und Tumorgenetische Prognosefaktoren
Stadium/ Tumorausbreitung	DNA-Ploidie
Differenzierungsgrad	S-Phasen-Fraktion
Histologischer Subtyp	Ki 67
Alter/ Allgemeinzustand	P53
	Bcl2
	Tumorzellen im Knochenmark

Tab. 2: Einteilung epithelialer Ovarialkarzinome nach Dembo 1990

Eine klinische Bewertung dieser und anderer Parameter fällt aber nach wie vor schwer, da der unabhängige Einfluss der sehr unterschiedlichen Faktoren auf relevante Endpunkte (z.B. krankheitsfreier Verlauf, Gesamtüberlebenszeit) auch mit Hilfe von Multivarianzanalysen nur schwer dargestellt werden kann. Für die postoperative Beratungssituation und die Festlegung adjuvanter Therapiemaßnahmen, erscheint eine Einteilung in zwei Risikogruppen sinnvoll (Meerpohl 2006):

- Low-risk-Situation: G1, kein Aszites, keine Verwachsungen mit der Umgebung, patho-histologisch abgesicherter Nachweis einer tumorfreien Kapseloberfläche des Primärtumors (FIGO I) \Rightarrow auf eine adjuvante Nachbehandlung kann verzichtet werden (5-Jahres-Überleben $> 90\%$)
- High-risk-Situation: G2/G3, FIGO Ic- IIa, hellzelliger histologischer Subtyp \Rightarrow alle Patientinnen mit mindestens einem der genannten Parameter haben ein Rezidivrisiko von 25- 35% und ein Risiko für den Tod innerhalb von 5 Jahren von etwa 20%. Eine adjuvante Chemotherapie ist derzeit für alle High-risk-Patientinnen empfohlen

6. THERAPIE

6.1. Operative Therapie

Neben der exakten Erfassung der Tumorausbreitung ist die maximale Tumorresektion Behandlungsziel der Primäroperation. Das Standardoperationsverfahren besteht aus der Längsschnitt-Laparotomie mit Entfernung der folgenden Strukturen (Meerpohl 2006):

- Peritonealzytologie
- Beide Adnexe und Uterus
- Beckenperitoneum
- Omentum majus
- Pelvine und paraaortale Lymphknoten
- Appendektomie bei muzinösem oder unklarem histologischem Subtyp

Bei fortgeschrittenen Stadien ist vor allem eine maximale Tumorreduktion von Bedeutung. Im FIGO-Stadium IIIc sind häufig Darmresektionen notwendig, um eine makroskopische Tumorfreiheit oder eine weitgehende Tumorreduktion (Tumorrest < 1 cm) zu erzielen (Kuhn et al. 1993).

6.2. Chemotherapie

Die Ansprechrate und Effektivität der Chemotherapie bei malignen Ovarialtumoren sind im Wesentlichen von zwei Faktoren abhängig:

1. Tumorgröße (Durchmesser des größten Tumorrests postoperativ)
2. Art der ersten Chemotherapie und Zeitintervall zwischen erster und zweiter Chemotherapie

Die Effektivität der Chemotherapie nimmt mit der Reduktion der Tumorgröße nicht linear sondern exponentiell zu. Daher ist die primäre, möglichst radikale Operation mit dem Ziel der Tumorentfernung die wesentliche Voraussetzung für die größte Wirksamkeit der Chemotherapie (Lutz et al. 2001; Bristow et al. 2002).

Neben den oben genannten Faktoren zeigen auch molekularbiologische Alterationen einen Einfluss auf die Chemotherapieansprechrate. Reles et al. zeigten in einer Studie, dass Patientinnen mit einer Mutation des p53-Gens gut auf eine Therapie mit Taxol ansprechen, während Patientinnen bei denen der p53-Wildtyp vorlag besser mit platinhaltigen Chemotherapeutika zu therapieren waren (Reles et al. 2001).

6.2.1. Adjuvante und kurative Chemotherapie

Die adjuvante Chemotherapie dient der nach operativen Entfernung allen sichtbaren Tumorgewebes der Beseitigung von Mikrometastasen. Von kurativer Chemotherapie wird nach „optimalem“ Tumor-Debulking (Tumorrest ≤ 1 cm) gesprochen.

Aus den Ergebnissen einer gemeinsamen Auswertung der beiden randomisierten Phase-III-Studien ACTION (Adjuvant Clinical Trial in Ovarian Neoplasia) und ICON-1 (International Collaborative Ovarian Neoplasm studies) (Vergote et al. 2001) lassen sich folgende vorläufige Empfehlungen ableiten:

- Patientinnen mit einem hochdifferenziertem (G1) Ovarialkarzinom Stadium FIGO Ia/Ib benötigen wegen ihres geringen Rezidivrisikos (5-Jahres-Überlebensrate $>90\%$) keine adjuvante Chemotherapie.
- Alle anderen Patientinnen (Stadium FIGO Ia/Ib Grad 2/3, Ic, II, III ohne oder mit Tumorrest ≤ 1 cm) sollten eine adjuvante Chemotherapie erhalten.
- Standard bei der adjuvanten Chemotherapie sind derzeit 6 Zyklen Carboplatin (AUC 5)/ Paclitaxel (175 mg/m^2) alle 21 Tage.

Die Bedeutung von Paclitaxel in der Primärtherapie wurde erstmals 1996 gezeigt und später in anderen Studien bestätigt (McGuire et al. 1996; Piccart et al. 2000). Cisplatin/Paclitaxel erzielte eine höhere Remissionsrate als Cisplatin/Cyclophosphamid. Sowohl das progressionsfreie Überleben als auch das Gesamtüberleben war signifikant höher. Damit war diese Kombinationstherapie zum neuen Standard geworden. Aufgrund seiner Nephro- und Neurotoxizität wurde Cisplatin als Kombinationspartner von Paclitaxel gegen Carboplatin ausgetauscht (McGuire et al. 1996; du Bois et al. 1999), was keinen Verlust der Wirksamkeit zur Folge hatte.

6.2.2. Chemotherapie im Stadium III bei Tumorrest ≤ 1 cm und im Stadium IV mit kleiner Tumorlast

In dieser Krankheitssituation hat sich die Kombination Carboplatin/Paclitaxel ebenfalls zum Standard etabliert. Paclitaxel wurde insbesondere in den USA häufig als 24-h-Infusion angewandt. Die äquivalente 3-h-Infusion zeichnet sich jedoch nicht nur durch bessere Praktikabilität sondern auch durch geringere Toxizität aus und hat sich daher in Deutschland durchgesetzt (Lutz et al. 2001).

6.3. Molekularbiologische Therapieansätze

Mit zunehmendem Verständnis molekularbiologischer Grundlagen beim Ovarialkarzinom werden in letzter Zeit tumorbiologische Therapieoptionen untersucht (Borges et al. 2007).

6.3.1. Gentherapie

Gentherapeutische Behandlungsansätze haben nach wie vor experimentellen Charakter. Methodische Basis ist der zielgerichtete Transport von Erbinformationsträgern in somatische Zellen. Dadurch soll entweder ein Gendefekt in der Zielzelle korrigiert oder diese abgetötet werden. Man spricht von Neo- bzw. Suizid-Genen. Als Vektoren dienen vor allem Retroviren. Probleme ergeben sich vor allem aus geringer Zellspezifität und dem Umstand, dass nur etwa 10% der Zielzellen durch Retroviren erreicht werden.

Die gentherapeutischen Konzepte im onkologischen Bereich basieren auf dem Versuch, in die Steuerung der für die Karzinogenese verantwortlichen Gene einzugreifen. Einer der derzeit beschrittenen Wege ist das Einfügen des Wildtyp-Tumorsuppressorgens p53, von dem bei

mehr als 50% aller soliden Tumoren Missens-Mutationen vorkommen. Dies geht mit einer verminderten Zytostatikawirkung einher. Dementsprechend konnte gezeigt werden, dass durch einen p53-Wildtyp-Transfer in Kombination mit einer Carboplatin/Paclitaxeltherapie additive und synergistische Effekte zu erzielen sind (Santoso et al. 1995). Dies bildete die Rationale für die erste Gen-Chemotherapie-Studie beim rezidivierten Ovarialkarzinom. Im Rahmen dieses Phase-I-Projektes wurde zunächst die intraperitoneale Installation von p53-beschickten Adenoviren untersucht. Nach mehrmaliger Applikation wurde bei fast allen Patientinnen eine Gen-Reexpression in den Tumorzellen nachgewiesen. In 535 der Fälle ergab sich ein signifikanter CA 125 Abfall. Nebenwirkungen waren vor allem Fieber, Abdominalschmerzen, Übelkeit und Erbrechen. In Kombination mit verschiedenen Zytostatika war der CA 125 Abfall noch ausgeprägter. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde die kombinierte p53-Gen-Chemotherapie mit Carboplatin/Paclitaxel mit der alleinigen Chemotherapie im Rahmen einer multizentrischen Phase-III-Studie verglichen. Diese Studie wurde jedoch im Mai 2001 aufgrund fehlenden Nachweises eines positiven Therapieeffektes abgebrochen (Bischoff et al. 2001).

6.3.2. Immuntherapie

Fortschritte wurden in den letzten Jahren vor allem bei der Entwicklung von Immunmodulatoren und monoklonalen Antikörpern erzielt. Das derzeit größte Interesse richtet sich dabei auf Bevacizumab, einem monoklonalen Immunglobulin-G1-Antikörper gegen den Gefäßwachstumsfaktor VEGF, der die Neoangiogenese im Tumor unterbinden kann. Ovarialkarzinomzellen weisen in etwa 30% eine vermehrte VEGF-Expression im Primärtumor und in 80% der peritonealen Metastasen auf (Burges et al. 2007). Auf dem ASCO-Kongress 2006 wurden Ergebnisse einer Studie, in die ausschließlich Patientinnen mit platinrefraktärem Rezidiv eingeschlossen wurden, vorgestellt (Cannistra et al. 2006). Die Rate der partiellen Remission lag bei 16 %, eine Stabilisierung der Erkrankung wurde bei 25 % mit der Monotherapie (15 mg/kg KG/21 d) erreicht. Die Rate an Nebenwirkungen war in dieser Studie mit extensiv vorbehandelten Patientinnen mit 7 % Todesfällen bei 44 behandelten Patientinnen und 11 % gastrointestinalen Perforationen hoch. Aus diesem Grund musste die Studie abgebrochen werden (Cannistra et al. 2006). Aufgrund der guten Ansprechraten in der Rezidivsituation ist eine internationale, randomisierte Studie geplant, die die Effektivität von Bevacizumab in Kombination mit der Standardchemotherapie Paclitaxel + Carboplatin in der Primärtherapie des Ovarialkarzinoms prüfen soll (AGO Ovar-11) (Burges et al. 2007).

7. ZELLYKLUS

Der menschliche Zellzyklus wird von der Familie der cyclin-abhängigen Kinasen (cdks) kontrolliert, deren Aktivität durch positive Effektoren (Cycline), durch Phosphorylierung und Dephosphorylierung sowie durch Hemmung durch Proteine der INK4- und Kip-Familie reguliert werden.

Cycline binden dabei an korrespondierende cyclin-abhängigen Kinasen (cdks) und initiieren eine komplexe Kaskade, die Folge und Zeitpunkt der jeweiligen Phase des Zellzyklus reguliert (Elledge 1996).

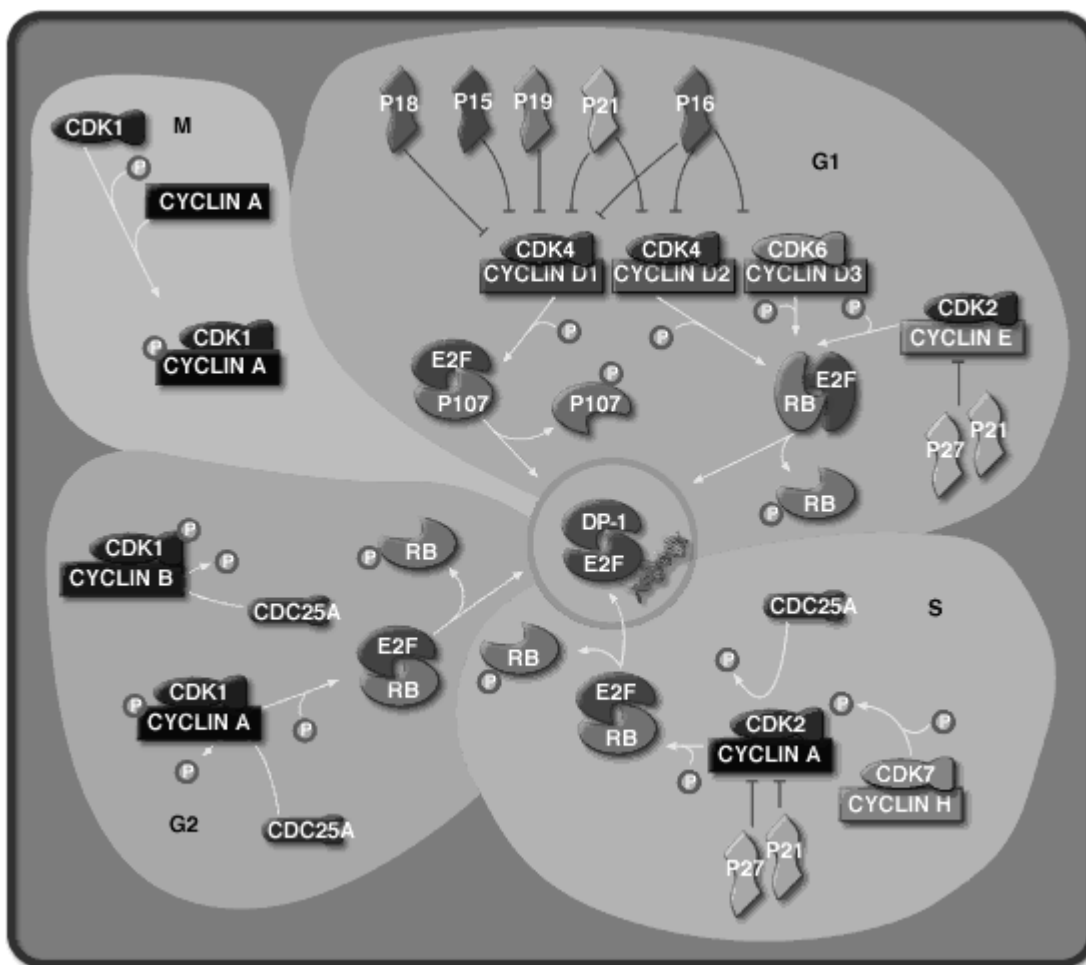


Abb. 1: Der Zellzyklus aus (O'Dell 2000)

8. CYCLIN A

Cyclin A ist ein entscheidendes Protein für die Zellteilung. Die Entdeckung des Zellzyklusproteins Cyclin A erfolgte an Embryonen der Seegurke *Arbacia punctulata* (Evans et al. 1983). Im menschlichen Genom befindet sich die Kodierung für Cyclin A auf Chromosom 4q26-27 (Blanquet et al. 1990). Cyclin A wurde als derjenige Stoff identifiziert, der im Zellzyklus die Progression von der G₂ zur M-Phase reguliert (Kushner et al. 1999). Dabei bindet Cyclin A an cdk1 und initiiert die Mitose. In der S-Phase des Zellzyklus geht Cyclin A eine Bindung mit cdk2 ein, was zur DNA-Replikation führt (Walker and Maller 1991; Pagano et al. 1992; Rosenblatt et al. 1992). Eine Überexpression des Proteins kann zur unkontrollierten Wachstumssteigerung führen. Es gibt Hinweise, dass die Expression von Cyclin A bei Tumoren verändert und mit der Prognose assoziiert ist.

9. CYCLIN B₁

Cyclin B₁ kann ebenfalls als Koordinator der Mitose angesehen werden. Cyclin B₁ befindet sich im menschlichen Genom auf Chromosom 5q12.

1989 isolierten Pines und Hunter die cDNA des Cyclin B₁ aus menschlichen HeLa-Zellen. Sie zeigten, dass die Cyclin mRNA im Laufe des Zellzyklus bestimmten Regulationen ausgesetzt ist: Sie nimmt in der G₂-Phase den vierfachen Wert verglichen zu demjenigen in der G₁-Phase an. Anschließend kommt es zur Kumulation, so dass der Wert der G₂-Phase letztendlich 20fach gegenüber der G₁-Phase erhöht ist. Die Expression von Cyclin B₁ ist damit in der G₁ Phase minimal, steigt in der S-Phase und erreicht im Übergang G₂-M einen Höhepunkt.

Weiterhin konnte eine abrupte Zerstörung in der Mitosephase beobachtet werden (Pines and Hunter 1989).

Auch die Assoziation zu cdk1 konnte durch Immunpräzipitation bewiesen werden: Cyclin B₁ bindet in der G₂-Phase des Zellzyklus an cdk1, woraufhin dieses dephosphoryliert und in den Zellkern zurückgeschleust wird. Dieses stellt den Übergang von der G₂- in die M-Phase sicher (Li et al. 1997; Kushner et al. 1999).

Verschiedene Faktoren wie pRb/E2F, CyclinA/cdk1 und Plk1 kontrollieren die Expression und Lokalisation von Cyclin B₁ (Lukas et al. 1999; Toyoshima-Morimoto et al. 2001). Dabei scheint Plk1 Cyclin B₁ in der Prophase der Mitose zu phosphorylieren und in den Zellkern zu schleusen (Toyoshima-Morimoto et al. 2001). Mit dieser Bewegung zwischen Zytoplasma und Kern scheint Cyclin B₁ eine große Rolle in der Koordination der Mitose zu spielen.

10. p16

p16 ist ein Zellzyklusinhibitor. Seit der Entdeckung von p16^{INK4a} (Serrano et al. 1993) auf Chromosom 9p21 des menschlichen Genoms wurde dieses Mitglied der INK4 (Inhibitors of cdK4) -Familie intensiv erforscht. Die INK4-Familie besteht aus den vier CKIs (cyclin-dependent kinase inhibitors) p16^{INK4a}, p15^{INK4b}, p18^{INK4c} und p19^{INK4d}, die an die Cyclin-abhängigen Kinasen cdk4 und cdk6 binden und sie dadurch inhibieren. Es kommt zu einer Unterbrechung des Zellzyklus in der G1-Phase und der Eintritt in die Synthese-Phase wird verhindert (Sherr and Roberts 1995). Dies lässt vermuten, dass CKIs als Tumorsuppressorgene agieren und somit eine Deletion, Mutation oder Inaktivierung der kodierenden Gene zu unkontrolliertem Zellwachstum und letztlich zu Tumoren führt. Screening menschlicher Tumoren auf Genalterationen (einschliesslich Mutation, Deletion, Neuordnung oder Promotor-Hypermethylierung) und die Herstellung und Analyse von Knock-Out Mäusen zeigt den INK4a/ARF-locus als einen wichtigen Ort in der Tumorenstehung (Roussel 1999). Homozygote Deletionen des INK4a/ARF locus auf 9p21 wurden in hoher Prozentzahl in Sarkomen und Lymphomen (Kamb et al. 1994; Ruas and Peters 1998), sowie bei akuter lymphatischer Leukämie im Kindesalter (Okuda et al. 1995) festgestellt.

11. cdk2

Cdk2 stimuliert durch seine Komplexbildung mit Cyclinen den Zellzyklus. 1994 wurde die Chromosomenlokalisierung des cdk2 auf Chromosom 12q13 beschrieben (Demetrick et al. 1994). Cyclin abhängige Kinasen (Cyclin dependent kinases – cdk's) sind Kinasen, die mit Cyclinen interagieren und damit die Zellteilung regulieren. Rosenblatt et al. (1992) fanden heraus, dass sich die Aktivität des cdk2 im Laufe des Zellzyklus verändert. In der späten G₁-Phase bzw. der frühen S-Phase lässt sich ein Aktivitätsanstieg feststellen. Aktiviertes cdk2 geht in dieser Zeit eine Komplexbildung mit Cyclin E (G₁) und Cyclin A (S) ein, was in beiden Fällen den Zellzyklus stimuliert (Rosenblatt et al. 1992).

12. ZIELSETZUNG DER ARBEIT

Der Schwerpunkt der Arbeit soll in der Untersuchung der immunhistochemisch nachweisbaren Überexpression der Zellzyklusregulatorproteine Cyclin A, Cyclin B₁, p16 und cdk2 beim Ovarialkarzinom liegen.

Es soll ermittelt werden ob die Überexpression der vier Proteine einen Einfluss auf die Prognose bei Ovarialkarzinomen hat und ob es einen Zusammenhang zwischen Überexpression und Überlebenszeit und zwischen Überexpression und Dauer bis zum Rezidiv gibt. Desweiteren soll der Zusammenhang zwischen Überexpression der Zellzyklusregulatorproteine und den bereits bekannten Prognosefaktoren Histologie, Grading, Stadium und Tumorrest festgestellt werden.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. TUMORGEWEBE

Das Tumorgewebe stammt von 95 Patientinnen mit primären epithelialen Ovarialkarzinomen und 16 Patientinnen mit LMP-Tumoren. Letztere wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. Die Patientinnen wurden zwischen 1987 und 2002 in der Abteilung für Gynäkologie der Charité, Campus Virchow-Klinikum und Campus Mitte, operiert. Das Gewebe wurde in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet archiviert.

2. KLINISCHE DATEN UND STATISTIK

Das Alter der Patientinnen lag zwischen 23 und 87 Jahren mit einem Median von 55 Jahren zum Zeitpunkt der Operation. Bei Erstdiagnose ließen sich 34 Tumoren (36%) dem Stadium I, 6 Tumoren (6%) dem Stadium II, 38 Tumoren (40%) dem Stadium III und 15 Tumoren (16%) dem Stadium IV der Klassifikation der Fédération Internationale de Gynécologie et Obstétrique (FIGO) zuordnen. 2 Tumoren (2%) erhielten keine Zuordnung.

Als Standardoperationsverfahren wurde eine Laparotomie mit Hysterektomie, bilateraler Adnektomie und Omentektomie vorgenommen. Im FIGO- Stadium III gelang eine R₀-Resektion des Tumors in 17 Fällen (45%), in 4 Fällen (11%) war der Tumorrest < 2cm und in 5 Fällen (13%) >2cm. In 12 Fällen war die Größe des Tumorrestes aus dem OP-Bericht nicht ersichtlich.

Die überwiegende Zahl der Patientinnen wird nach ihrer Entlassung in der ambulanten Tumornachsorgesprechstunde der Charité, Campus Virchow-Klinikum betreut. Darüber hinaus werden die Daten teilweise durch Kontakte mit dem betreuenden Hausarzt bzw. Gynäkologen ergänzt. Über diesen wurden Informationen bezüglich des Krankheitsverlaufs gewonnen, falls kein follow-up im Virchow-Klinikum erfolgte. Die Verlaufsdaten reichen von 2 Monaten bis 15,7 Jahre (187 Monate) nach Erstdiagnose.

57 (60%) der Patientinnen lebten bei letztem Kontakt, 29 (30,5%) waren am Tumor verstorben. Bei 9 (9,5) Patientinnen kam es zu einem vollständigen Kontaktverlust.

Hinsichtlich des Überlebens wurde zwischen rezidivfreier Überlebenszeit – in Monaten nach der OP, mindestens 2 Monate nach Operationszeitpunkt – und gesamter Überlebenszeit – in Monaten, bis zum letzten Kontakt über die Tumornachsorgesprechstunde, den Hausarzt bzw. Gynäkologen oder das Landeseinwohnermeldeamt - unterschieden.

Insgesamt erkrankten 41 (43,2%) der Patientinnen an einem Rezidiv. Durch Kontaktverluste konnte hierbei bei 11 Frauen kein genauer Zeitpunkt der Rezidivkrankung angegeben werden. In einem Fall war der Rezidivstatus gänzlich unbekannt. 53 (55,8%) Frauen blieben im Beobachtungszeitraum ohne Rezidivkrankung.

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS 13.0 und 14.0 für Windows (© Firma SPSS GmbH, München) angefertigt.

Es wurden Überlebensanalysen mit Hilfe des Kaplan-Meier-Verfahrens erstellt und die Signifikanz möglicher Abhängigkeiten der Prognose von verschiedenen Parametern mit Hilfe des Log-Rank-Tests überprüft. Eine signifikante Abhängigkeit der Faktoren wurde ab einem Wert $p < 0,05$ angenommen.

3. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG

3.1. Immunhistochemische Methode

Als Technik wird die Avidin-Biotin-Komplexmethode (ABC) verwendet. Hierbei wird zunächst ein Primärantikörper und anschließend ein biotinylierter Brückenantikörper aufgetragen. An diesen bindet sich im nächsten Schritt ein vorgeformter Avidin-Biotin-Enzymkomplex. Avidin besitzt 4 Bindungsstellen für Biotin.

Die hohe Affinität von Avidin zu Biotin ist auch der Grund für die höhere Sensitivität der Methode im Vergleich zu der PAP-Färbung (Hsu and Raine 1981).

3.2. Protokoll für Cyclin A- Färbung an Paraffinmaterial

Von dem in Paraffin eingebettetem Gewebe werden 4 μm dünne Schnitte gefertigt und auf mit Aminosilane beschichteten Objektträgern aufgetragen. Um die Färbung direkt mit der Negativkontrolle vergleichen zu können, befinden sich pro Fall zwei Schnitte auf einem Objektträger.

Die Haftung der Schnitte am Objektträger wird durch Inkubation im Brutschrank bei 37°C über Nacht verbessert.

Vor der Färbung werden die Schnitte entparaffiniert. Hierfür werden sie zunächst 2x je 5 min. in Xylol (Baker) und 5 min. in absoluten Alkohol (Merck) gegeben. Anschließend werden sie durch die absteigende Alkoholreihe (90%, 80%, 70%) geführt und in Aqua dest. rehydriert.

Zur Antigen-Demaskierung werden die entparaffinierten Schnitte in Zitratpuffer gekocht: In einem Dampfkochtopf (Fissler) wird der Puffer zum Kochen gebracht, die Schnitte werden hineingestellt, so dass sie vollständig mit Puffer bedeckt sind und auf Stufe 1 genau 2 min. gekocht. Anschließend werden sie in Aqua dest. abgeschreckt. Durch die Erhitzung werden Antigene freigelegt und die Anfärbbarkeit verbessert (Shi et al. 1993).

Um die endogene Peroxidase (z.B. in Erythrozyten) zu blockieren, werden die Schnitte für 10 min. mit 3%igem H₂O₂ (Merck) behandelt und anschließend mit Aqua dest. und TRIS-Puffer (pH 7,4-7,5) gespült.

Während aller folgenden Inkubationsschritte befinden sich die Schnitte in einer feuchten Kammer (Lipshaw), um bei längerer Inkubationszeit das Austrocknen der Schnitte zu verhindern. Vor dem Auftragen der Reagenzien wird mit dem Fettstift (PAP-Pen, SCI Science Service) ein Kreis um jeden Schnitt gezogen, um das Ineinanderfließen des spezifischen Antikörper und der Negativkontrolle zu verhindern.

Als erstes werden die Schnitte mit Protein-Block-Serum-Free (DAKO) 30 min. bei Raumtemperatur vorbehandelt. Der Proteinblocker wird nur abgeklopft und anschließend der Primärantikörper aufgetragen. Der monoklonale Maus-Primärantikörper gegen Cyclin A (Novocastra Laboratories) wird verdünnt in Aqua dest. 1:50 für 60 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Als Negativkontrolle wird von jedem Fall ein Schnitt gleichzeitig gefärbt und mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität und der gleichen Immunglobulinklasse inkubiert (IgG, DAKO).

Anschließend werden die Schnitte 3 x 5 min. in TRIS-Puffer gespült und ein Brücken-Antikörper (biotinylated Rabbit Anti-Mouse Immunglobulins von DAKO, WAB 2 Systems HRP) unverdünnt aufgetragen und für 15 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Erneut wird 3 x 5 min. mit TRIS-Puffer gespült und dann 15 min. mit AB-Complex/HRP (DAKO) bei Raumtemperatur inkubiert.

Zuletzt wird nach 3 x 5 min. Spülen in TRIS-Puffer für 20-30 min. Diaminobenzidin als Chromogen aufgetragen (1 DAB Chromogen Tablette von DAKO zu 10 ml TRIS-Puffer und 15µl 30 %igem H₂O₂).

Die Gegenfärbung erfolgt mit einer Äthylgrün-Kernfärbung. Die Schnitte werden dazu für 10 min. in Natriumacetatpuffer präinkubiert. Danach werden sie 10 min. mit Methylgrün gefärbt, hergestellt aus 2g Methylgrün (Sigma) in 200 ml TRIS-Puffer. Die Farbe muss bei jeder Färbung frisch hergestellt werden.

15 sec. vor Ende der Grünfärbung werden 3 Küvetten mit kaltem Aqua dest. (-4°C) gefüllt und die Schnitte für je 1 sec. hineingedippt.

Als nächstes werden die Schnitte in Butanol (Merck) durch 20 mal eintauchen in der ersten und zweiten Küvette und 2 min in der Küvette entwässert. Zuletzt werden die Schnitte in 3 Küvetten Xylol (Baker) gespült und anschließend mit Histokit (Vitro-Clud, R. Langenbrinck) eingedeckt.

3.3. Auswertung von Cyclin A an Paraffinmaterial

Bei jedem Färbegang wird der Schnitt einer Tonsille als Positivkontrolle mitgefärbt (Leoncini et al. 1999). Bei dieser Methode stellt sich eine Cyclin A Überexpression als braune Kernfärbung dar (Ito et al. 2000). Die Auswertung erfolgt durch 2 Personen an einem Mikroskop mit 2 Okkularen. Beurteilt wird, ob die Schnitte Cyclin A positiv oder negativ sind. Im Falle einer positiven Kernfärbung wird die Zahl der sich braun färbenden Zellkerne in Prozent angegeben. Hierzu werden mindestens 100 Tumorzellkerne ausgezählt.

3.4. Protokoll für Cyclin B₁- Färbung an Paraffinmaterial

Von dem in Paraffin eingebettetem Gewebe werden 4 µm dünne Schnitte gefertigt und auf mit Aminosilane beschichteten Objektträgern aufgetragen. Die Haftung der Schnitte am Objektträger wird durch Inkubation im Brutschrank bei 37°C über Nacht verbessert.

Die Schnitte werden nach dem oben genannten Protokoll entparaffiniert (Xylol, absoluter Alkohol, absteigende Alkoholreihe).

Zur Antigen-Demaskierung werden die entparaffinierten Schnitte in Zitratpuffer gekocht: In einem Dampfkochtopf (Fissler) wird der Puffer zum Kochen gebracht, die Schnitte werden hineingestellt, so dass sie vollständig mit Puffer bedeckt sind und auf Stufe 1 genau 2 min. gekocht. Anschließend werden sie in Aqua dest. abgeschreckt.

Um die endogene Peroxidase (z.B. in Erythrozyten) zu blockieren, werden die Schnitte für 10 min. mit 3%igem H₂O₂ (Merck) behandelt und anschließend mit Aqua dest. und TRIS-Puffer (pH 7,4-7,5) gespült.

Als erstes werden die Schnitte mit Protein-Block-Serum-Free (DAKO) 30 min. bei Raumtemperatur vorbehandelt. Der Proteinblocker wird nur abgeklopft und anschließend der Primärantikörper aufgetragen. Der monoklonale Maus-Primärantikörper gegen Cyclin B₁ (DAKO) wird verdünnt in Aqua dest. 1:200 für 60 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Als Negativkontrolle wird von jedem Fall ein Schnitt gleichzeitig gefärbt und mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität und der gleichen Immunglobulinklasse inkubiert (IgG, DAKO).

Anschließend werden die Schnitte 3 x 5 min. in TRIS-Puffer gespült und ein Brücken-Antikörper (biotinylated Rabbit Anti-Mouse Immunglobulins von DAKO, WAB 2 Systems HRP) unverdünnt aufgetragen und für 15 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Erneut wird 3 x 5 min. mit TRIS-Puffer gespült und dann 15 min. mit AB-Complex/HRP (DAKO) bei Raumtemperatur inkubiert.

Zuletzt wird nach 3 x 5 min. Spülen in TRIS-Puffer für 20-30 min. Diaminobenzidin als Chromogen aufgetragen (1 DAB Chromogen Tablette von DAKO zu 10 ml TRIS-Puffer und 15µl 30 %igem H₂O₂).

Die Gegenfärbung erfolgt entsprechend Cyclin A.

3.5. Auswertung von Cyclin B₁ an Paraffinmaterial

Bei jedem Färbegang wird der Schnitt eines Falles einer bekannten Cyclin B₁ Überexpression als Positivkontrolle mitgefärbt. Bei dieser Methode stellt sich eine Cyclin B₁ Überexpression als braune Zytoplasmafärbung dar (Ito et al. 2000). Die Auswertung erfolgt durch 2 Personen an einem Mikroskop mit 2 Okkularen. Beurteilt wird, ob die Schnitte Cyclin B₁ positiv oder negativ sind. Im Falle einer positiven Zytoplasmafärbung wird die Zahl der sich braun färbenden Zellen in Prozent angegeben. Hierzu werden mindestens 100 Tumorzellen ausgezählt.

3.6. Protokoll für p16- Färbung an Paraffinmaterial

Von dem in Paraffin eingebettetem Gewebe werden 4 µm dünne Schnitte gefertigt und auf mit Aminosilane beschichteten Objektträgern aufgetragen. Die Haftung der Schnitte am Objektträger wird durch Inkubation im Brutschrank bei 37°C über Nacht verbessert.

Die Schnitte werden nach dem oben genannten Protokoll entparaffiniert (Xylol, absoluter Alkohol, absteigende Alkoholreihe).

Zur Antigen-Demaskierung werden die entparaffinierten Schnitte in Zitratpuffer gekocht: In einem Dampfkochtopf (Fissler) wird der Puffer zum Kochen gebracht, die Schnitte werden hineingestellt, so dass sie vollständig mit Puffer bedeckt sind und auf Stufe 1 genau 2 min. gekocht. Anschließend werden sie in Aqua dest. abgeschreckt. Um die endogene Peroxidase(z.B. in Erythrozyten) zu blockieren, werden die Schnitte für 10 min. mit 3%igem H₂O₂ (Merck) behandelt und anschließend mit Aqua dest. und TRIS-Puffer (pH 7,4-7,5) gespült.

Als erstes werden die Schnitte mit Protein-Block-Serum-Free (DAKO) 30 min. bei Raumtemperatur vorbehandelt. Der Proteinblocker wird nur abgeklopft und anschließend der Primärantikörper aufgetragen. Der monoklonale Maus-Primärantikörper gegen p16 (Pharming) wird verdünnt in Aqua dest. 1:400 für 60 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Als Negativkontrolle wird von jedem Fall ein Schnitt gleichzeitig gefärbt und mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität und der gleichen Immunglobulinklasse inkubiert (IgG, DAKO).

Anschließend werden die Schnitte 3 x 5 min. in TRIS-Puffer gespült und ein Brücken-Antikörper (biotinylated Rabbit Anti-Mouse Immunglobulins von DAKO, WAB 2 Systems HRP) unverdünnt aufgetragen und für 15 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Erneut wird 3 x 5 min. mit TRIS-Puffer gespült und dann 15 min. mit AB-Complex/HRP (DAKO) bei Raumtemperatur inkubiert.

Zuletzt wird nach 3 x 5 min. Spülen in TRIS-Puffer für 20-30 min. Diaminobenzidin als Chromogen aufgetragen (1 DAB Chromogen Tablette von DAKO zu 10 ml TRIS-Puffer und 15µl 30 %igem H₂O₂).

Die Gegenfärbung erfolgt entsprechend Cyclin A.

3.7. Auswertung von p16 an Paraffinmaterial

Bei jedem Färbegang wird der Schnitt eines Falles einer bekannten p16 Überexpression als Positivkontrolle mitgefärbt. Bei dieser Methode stellt sich eine p16 Überexpression als braune Kern- und Zytoplasmafärbung dar (Dong et al. 1997). Die Auswertung erfolgt durch 2 Personen an einem Mikroskop mit 2 Okkularen. Gezählt werden nur die Zellen mit brauner Tumorzellkernfärbung. Cytoplasmafärbung und Färbung des bindegeweblichen Hintergrundes wurden, wenn vorhanden, vernachlässigt (Sui et al. 2000; Henshall et al. 2001; Maitra et al. 2001). Beurteilt wird, ob die Schnitte p16 positiv oder negativ sind. Im Falle einer positiven

Kernfärbung wird die Zahl der sich braun färbenden Zellkerne in Prozent angegeben. Hierzu werden mindestens 100 Tumorzellkerne ausgezählt.

3.8. Protokoll für cdk2- Färbung an Paraffinmaterial

Von dem in Paraffin eingebettetem Gewebe werden 4 µm dünne Schnitte gefertigt und auf mit Aminosilane beschichteten Objektträgern aufgetragen. Die Haftung der Schnitte am Objektträger wird durch Inkubation im Brutschrank bei 37°C über Nacht verbessert.

Die Schnitte werden nach dem oben genannten Protokoll entparaffiniert (Xylol, absoluter Alkohol, absteigende Alkoholreihe).

Zur Antigen-Demaskierung werden die entparaffinierten Schnitte in Zitratpuffer gekocht: In einem Dampfkochtopf (Fissler) wird der Puffer zum Kochen gebracht, die Schnitte werden hineingestellt, so dass sie vollständig mit Puffer bedeckt sind und auf Stufe 1 genau 2 min. gekocht. Anschließend werden sie in Aqua dest. abgeschreckt.

Um die endogene Peroxidase (z.B. in Erythrozyten) zu blockieren, werden die Schnitte für 10 min. mit 0,3%igem H₂O₂ (Merck) behandelt (Sui et al. 2001) und anschließend mit Aqua dest. und TRIS-Puffer (pH 7,4-7,5) gespült.

Als erstes werden die Schnitte mit Protein-Block-Serum-Free (DAKO) 30 min. bei Raumtemperatur vorbehandelt. Der Proteinblocker wird nur abgeklopft und anschließend der Primärantikörper aufgetragen. Der monoklonale Maus-Primärantikörper gegen cdk2 (BD Transduction Laboratories) wird verdünnt in einer hintergrundreduzierenden Lösung 1:300 über Nacht bei 4°C inkubiert (Sui et al. 2001). Als Negativkontrolle wird von jedem Fall ein Schnitt gleichzeitig gefärbt und mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität und der gleichen Immunglobulinklasse inkubiert (IgG, DAKO).

Anschließend werden die Schnitte 3 x 5 min. in TRIS-Puffer gespült und ein Brücken-Antikörper (biotinylated Rabbit Anti-Mouse Immunglobulins von DAKO, WAB 2 Systems HRP) unverdünnt aufgetragen und für 15 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Erneut wird 3 x 5 min. mit TRIS-Puffer gespült und dann 15 min. mit AB-Complex/HRP (DAKO) bei Raumtemperatur inkubiert.

Zuletzt wird nach 3 x 5 min. Spülen in TRIS-Puffer für 20-30 min. Diaminobenzidin als Chromogen aufgetragen (1 DAB Chromogen Tablette von DAKO zu 10 ml TRIS-Puffer und 15µl 30 %igem H₂O₂).

Die Gegenfärbung erfolgt entsprechend Cyclin A.

3.9. Auswertung von cdk2 an Paraffinmaterial

Bei jedem Färbegang wird der Schnitt eines Falles einer bekannten cdk2 Überexpression als Positivkontrolle mitgefärbt. Bei dieser Methode stellt sich eine cdk2 Überexpression als braune Kernfärbung dar (Sui et al. 2001). Eine seltene Zytoplasmareaktion wird nicht als positive Färbung gewertet (Sui et al. 2001). Die Auswertung erfolgte durch 2 Personen an einem Mikroskop mit 2 Okkularen. Beurteilt wird, ob die Schnitte cdk positiv oder negativ waren. Im Falle einer positiven Kernfärbung wird die Zahl der sich braun färbenden Kerne in Prozent angegeben. Hierzu werden mindestens 100 Tumorzellkerne ausgezählt.

4. VERWENDETE REAGENZIEN UND LÖSUNGEN

4.1. Tris-Puffer (TBE)

Auf 5 l Aqua dest.: 33,0 g Tris-HCl (Sigma)
4,5 g Tris-Base (Sigma)
43,9 g NaCl (Merck)

pH 7,4-7,6

4.2. Citrat-Puffer

Auf 2 l Aqua dest.: 4,2 g Citronensäure
pH 6,0 (mit 1 molarer Natronlauge titrieren)

4.3. Na-Acetat-Puffer

0,6 ml 100%iger Eisessig (Merck) auf 100 ml Aqua dest.
5,44 g Na-Acetat (Merck) auf 400 ml Aqua dest.
80 ml verdünnte Essigsäure zu 320 ml Na-Acetatlösung geben
200 ml in Küvette

III. ERGEBNISSE

1. KLINISCHE UND HISTOLOGISCHE DATEN

1.1. Histologie

Unter 95 epithelialen Ovarialkarzinomen waren 50 seröse (53%), 22 endometrioid (23%), 9 undifferenzierte (10%), 6 muzinöse (6%), 5 klarzellige (5%) und 3 gemischt epitheliale (3%).

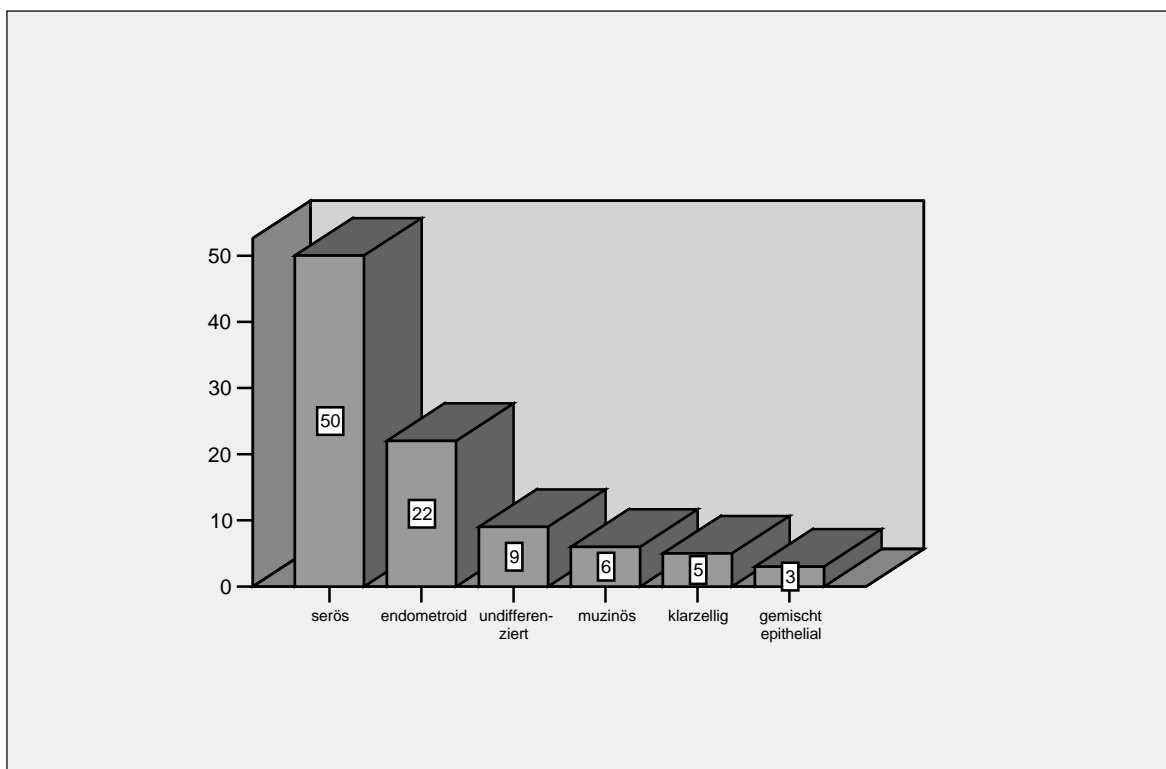


Abb. 2: Histologietypen

Wir haben uns wegen der geringen Fallzahlen bei den selten Histologien auf einen Vergleich von serösen und endometrioiden Tumoren hinsichtlich der Prognose beschränkt. Die 5-

Jahresüberlebensrate (5-JÜR) lag bei serösen Ovarialkarzinomen bei 65 % wohingegen die 5-JÜR bei den endometrioiden Karzinomen 90% betrug ($p = 0,071$).

Bei 8 Patientinnen mit serösen Tumoren, sowie 3 Patientinnen mit endometrioiden Tumoren war der Zeitpunkt der Rezidivkrankung unbekannt. Im gesamten Beobachtungszeitraum lag die rezidivfreie 5-JÜR der restlichen 42 serösen Tumoren bei 45% während es bei den 19 endometrioiden Karzinomen nur 2 Patientinnen mit einem Rezidiv gab, so dass die rezidivfreie 5-JÜR mit $> 88\%$ angegeben werden kann ($p= 0,005$).

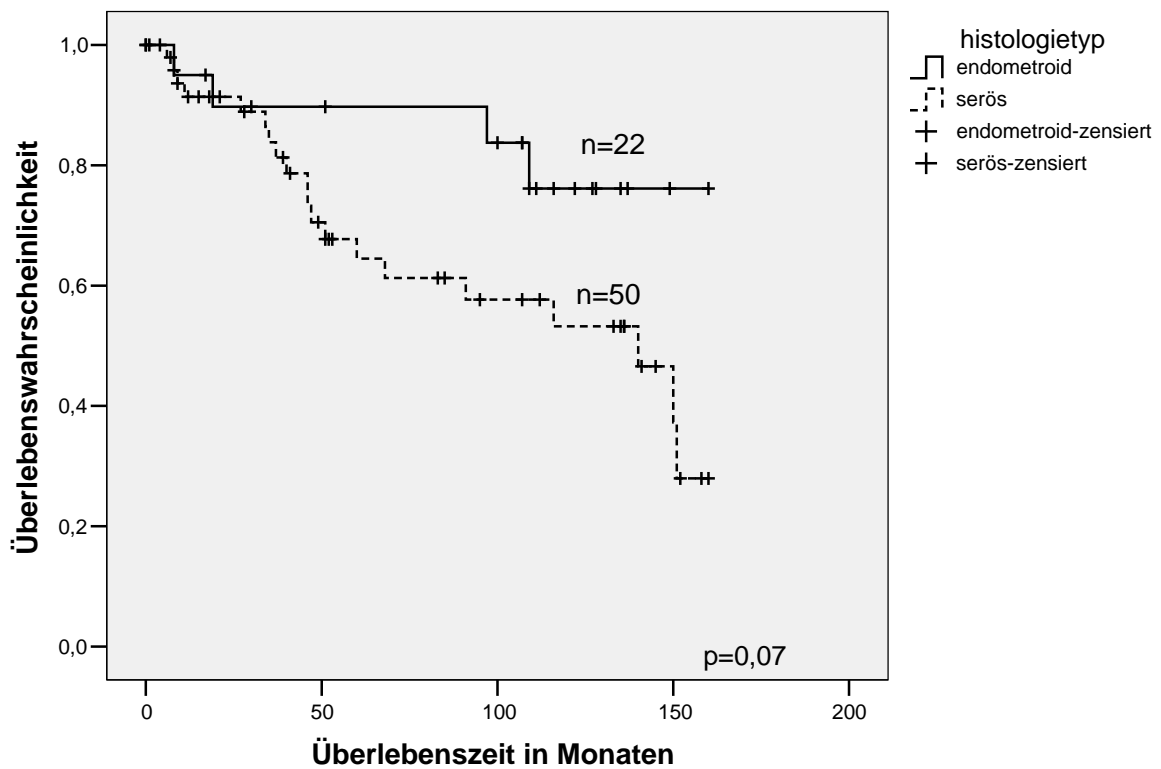


Abb. 3: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Histologietyp

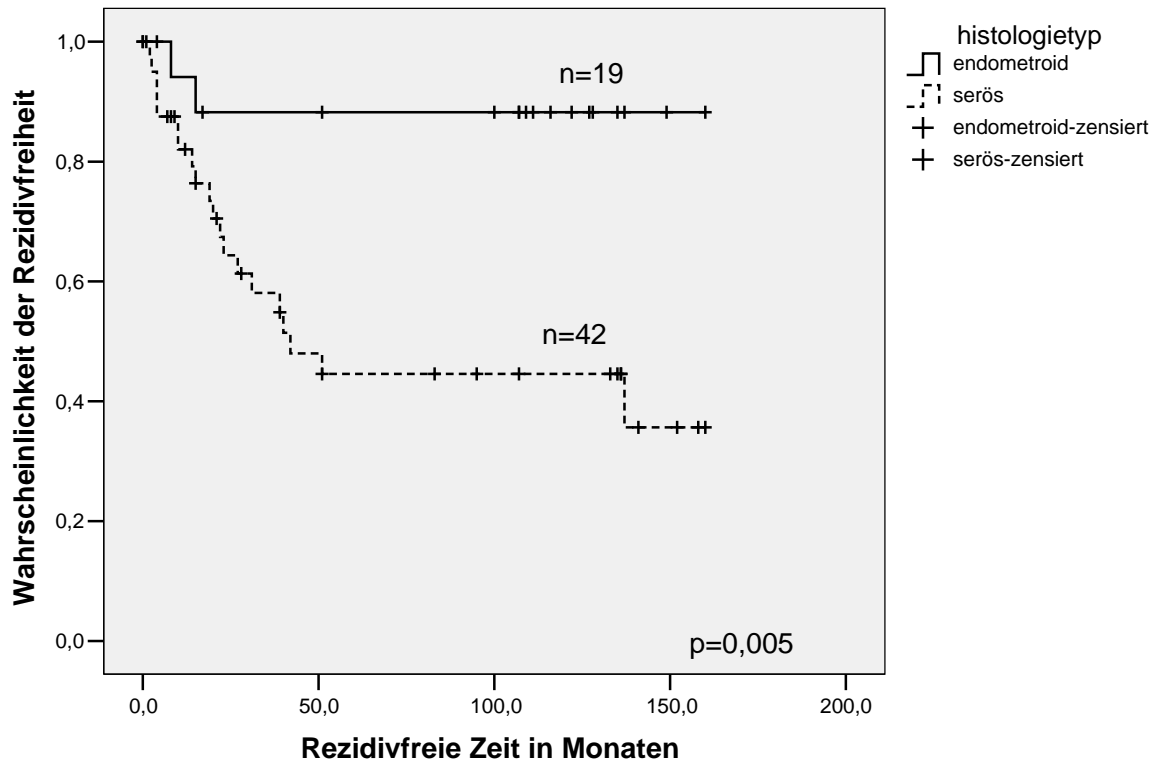


Abb. 4: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Histologietyp

1.2. Grading

Der Differenzierungsgrad wurde bei 27 (28%) Fällen als gut, bei 24 (25%) Fällen als mäßig und bei 41 (43%) als schlecht differenziert beschrieben. 3 (3%) Fälle erhielten keinen Differenzierungsgrad.

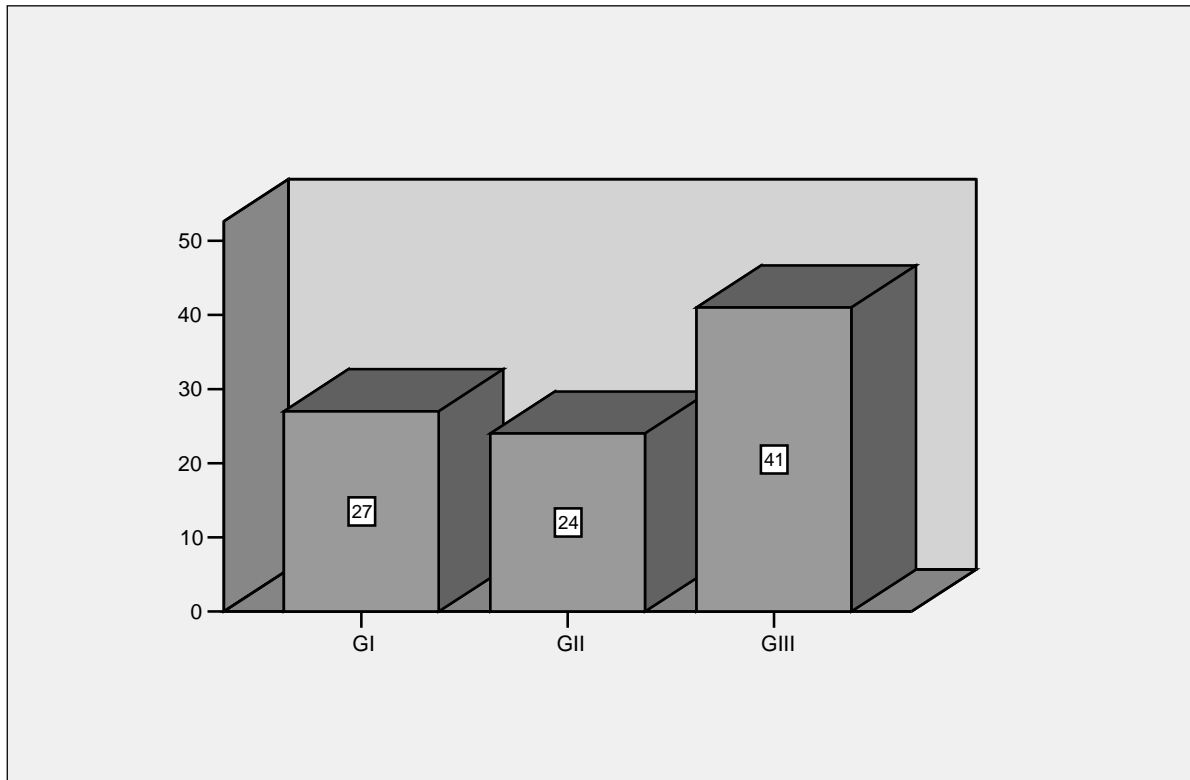


Abb. 5: Grading

Die mediane Überlebenszeit ließ sich bei gut differenzierten Karzinomen (GI) nicht ermitteln, da die Überlebenswahrscheinlichkeit im gesamten betrachteten Zeitbereich $>50\%$ ist. Bei den mäßig differenzierten Karzinomen betrug die mediane Gesamtüberlebenszeit 150 Monate, während sie bei schlecht differenzierten Ovarialkarzinomen bei 97 Monaten lag ($p=0,054$). Dies entspricht einer 5-JÜR von 82% bei gut differenzierten, von 87% bei mäßig differenzierten und von 61% bei schlecht differenzierten Tumoren.

Bei 23 der 27 Patientinnen mit einem G1-Tumor war der Rezidivzeitpunkt bekannt. Die rezidivfreie 5-JÜR lag hier bei 69%.

Bei den 21 Patientinnen mit G2-Tumor und bekanntem Rezidivzeitpunkt lag die rezidivfreie 5-JÜR bei 69%, im Falle der GIII-Tumoren bei 48% ($p=0,22$).

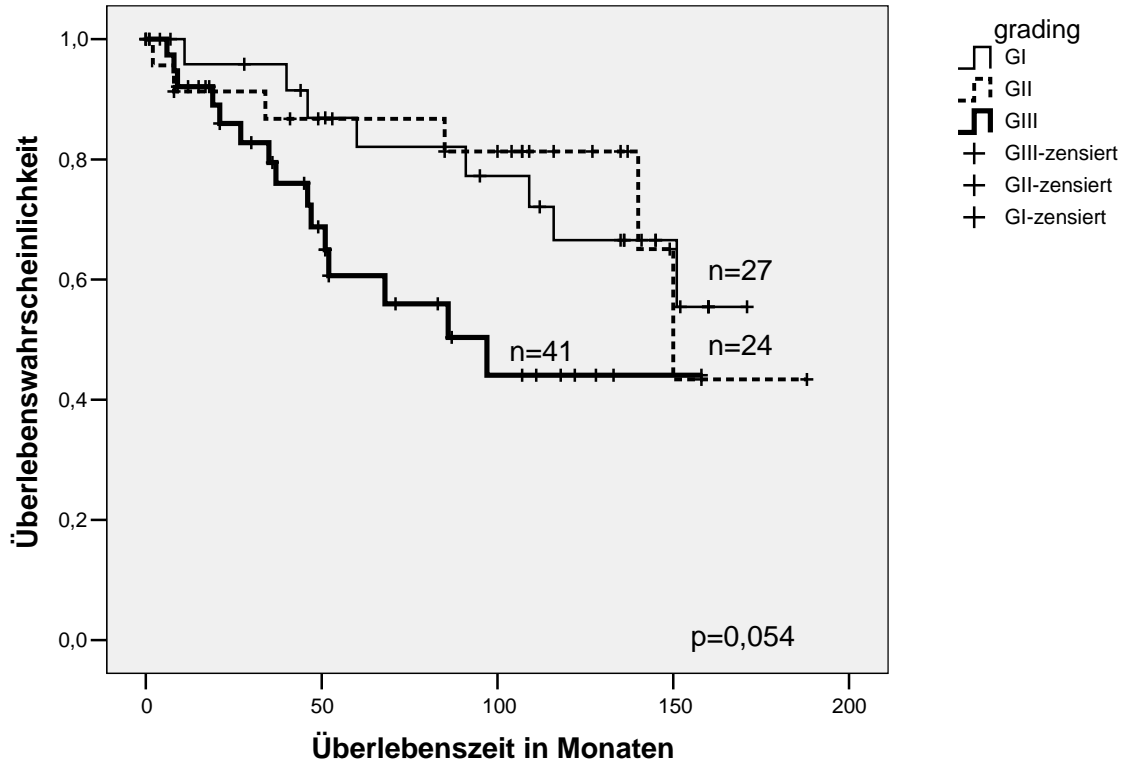


Abb. 6: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom histologischen Differenzierungsgrad

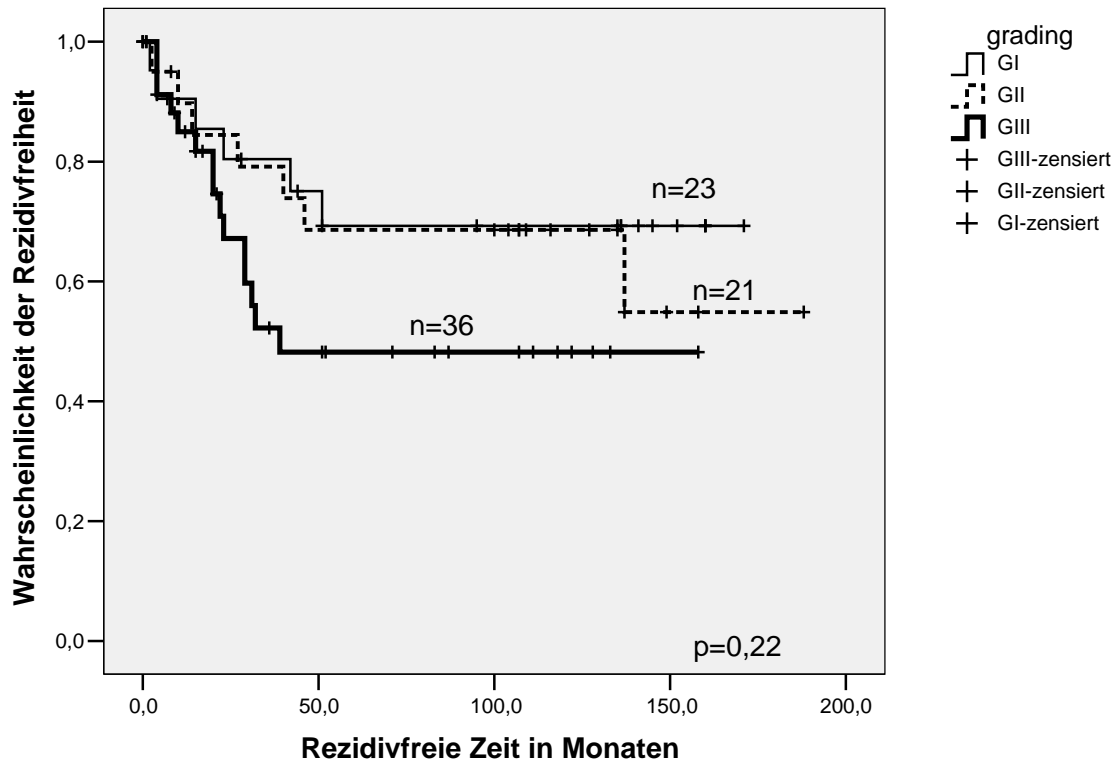


Abb. 7: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom histologischen Differenzierungsgrad

1.3. pathologische Tumorstadien

Nach der pTNM-Klassifikation entspricht 1 Fall (1%) dem Stadium pT1 ohne nähere Angaben, 18 Fälle (19%) dem Stadium pT1a, 3 Fälle (3%) dem Stadium pT1b, 16 Fälle (17%) dem Stadium pT1c. 1 Fall (1%) entspricht dem Stadium pT2a, 7 Fälle (7%) dem Stadium pT2b, 2 Fälle (2%) dem Stadium pT2c. 3 Fälle entsprechen dem Stadium pT3 ohne nähere Angaben, 4 Fälle (4%) dem Stadium pT3a, 4 Fälle (4%) dem Stadium pT3b und 36 Fälle (38%) dem Stadium pT3c.

Zusammengefasst sind das 38 Fälle im Stadium pT1, 10 Fälle im Stadium pT2 und 47 Fälle im Stadium pT3.

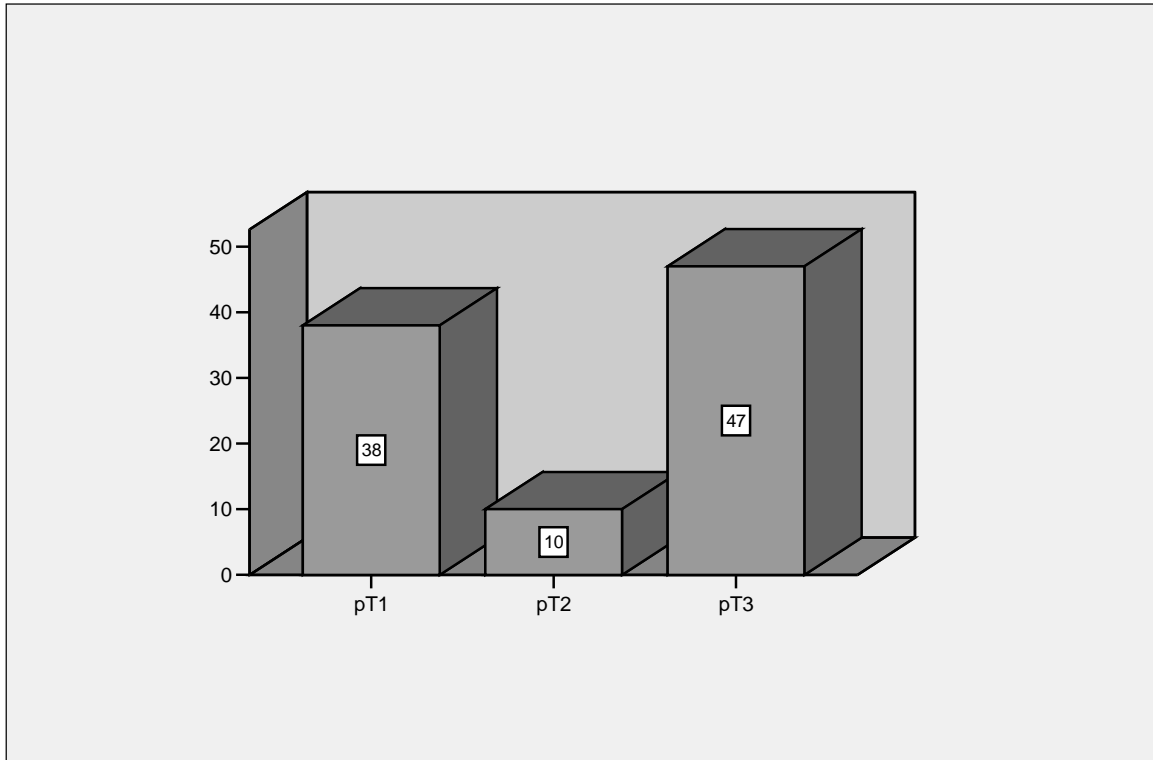


Abb. 8: pathologische Tumorstadien

Erfolgte die Diagnose des Ovarialkarzinoms im frühen Stadium pT1, lag die 5-JÜR bei 91%. Im Stadium pT2 sank sie auf 71% und im Stadium pT3 auf 59% ($p=0,001$).

Die 5-JÜR der 33 Patientinnen mit bekanntem Rezidivzeitpunkt im Tumorstadium pT1 lag bei 90%. Im Stadium pT2 lag die 5-JÜR der 9 Patientinnen bei 73% und bei den 41 Patientinnen im Stadium pT3 bei 27% ($p<0,0001$).

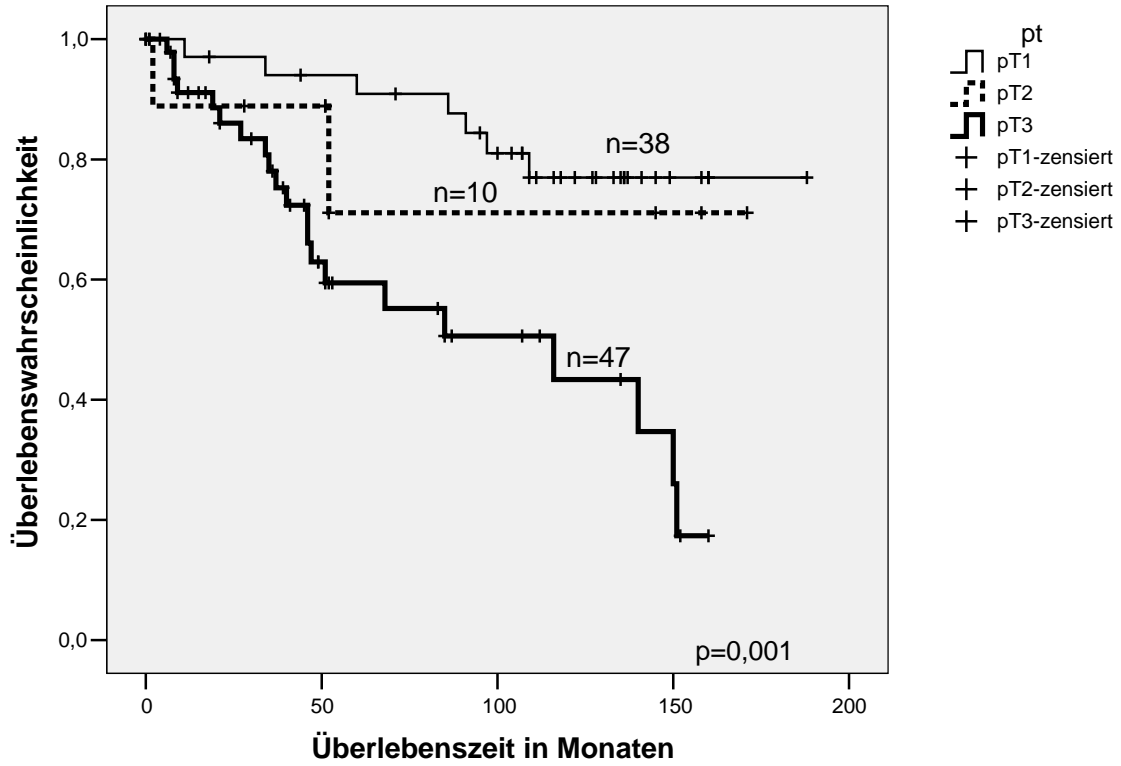


Abb. 9: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pT-Stadium

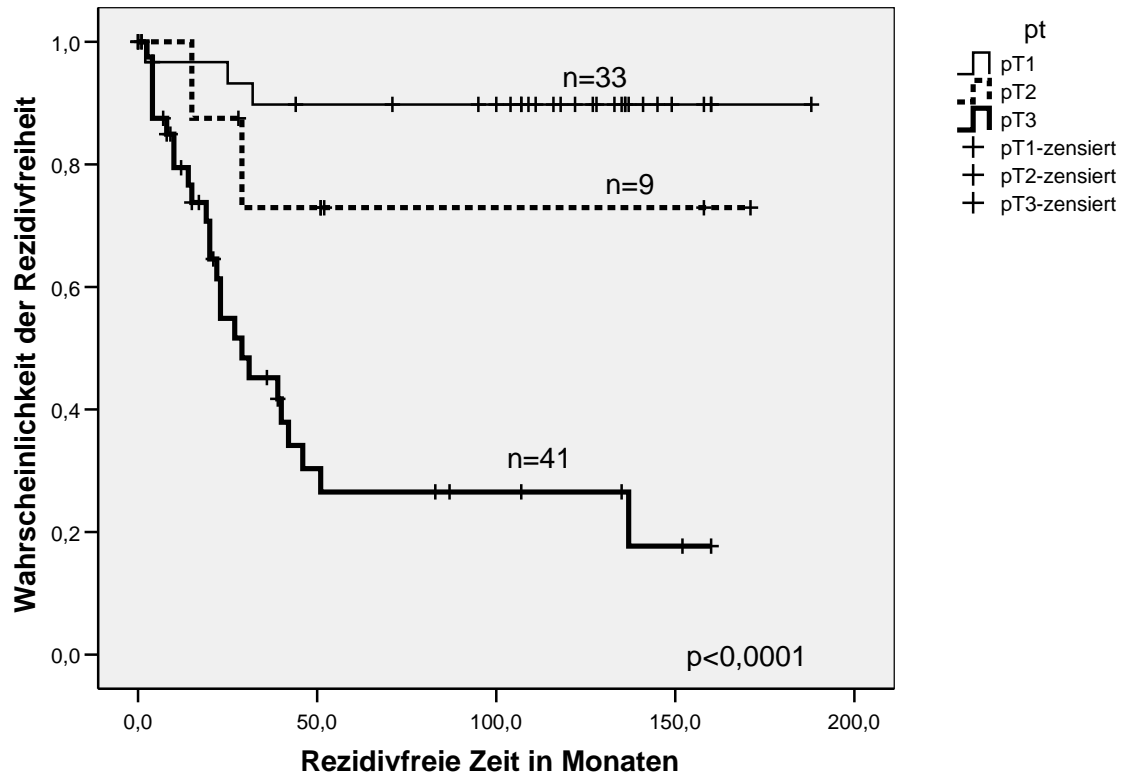


Abb. 10: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom pT-Stadium

1.4. FIGO

Von den 95 untersuchten Ovarialtumoren entsprachen 34 Fälle (36%) der FIGO-Klassifikation I, 6 Fälle (6%) der FIGO-Klassifikation II, 38 Fälle (40%) der FIGO-Klassifikation III und 15 Fälle (15%) der FIGO-Klassifikation IV. Zwei erhielten keine FIGO-Klassifikation.

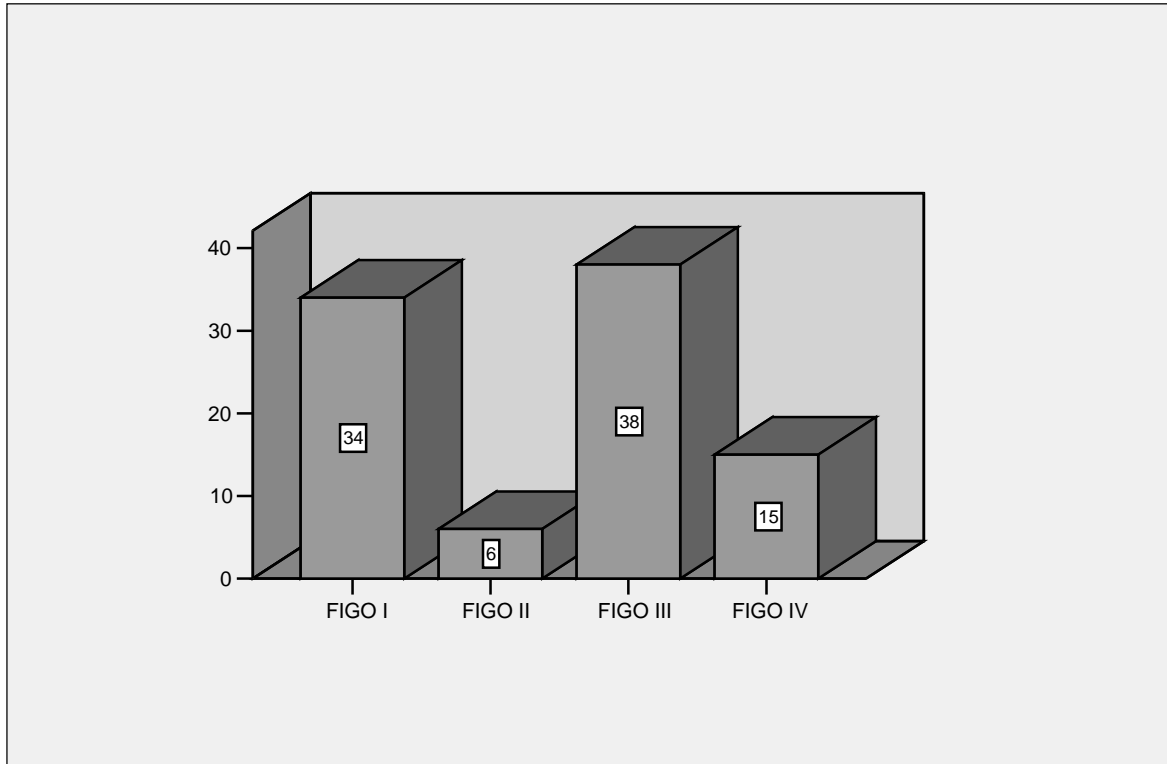


Abb. 11: FIGO-Stadien

Die 5-JÜR liegt im Stadium I bei 93% , im Stadium II bei 40%, bei Stadium III bei 66% und im Stadium IV bei 63% ($p=0,024$).

Im Zusammenhang mit einer Rezidiventwicklung lag die 5-JÜR Stadium FIGO I bei 92%. Im Stadium FIGO II betrug die rezidivfreie 5-JÜR 37%, während sie im Stadium III 41% und im Stadium IV 38% beträgt ($p<0,0001$). Die Zahlen beziehen sich wiederum auf die Fällen, bei denen der Rezidivzeitpunkt bekannt war.

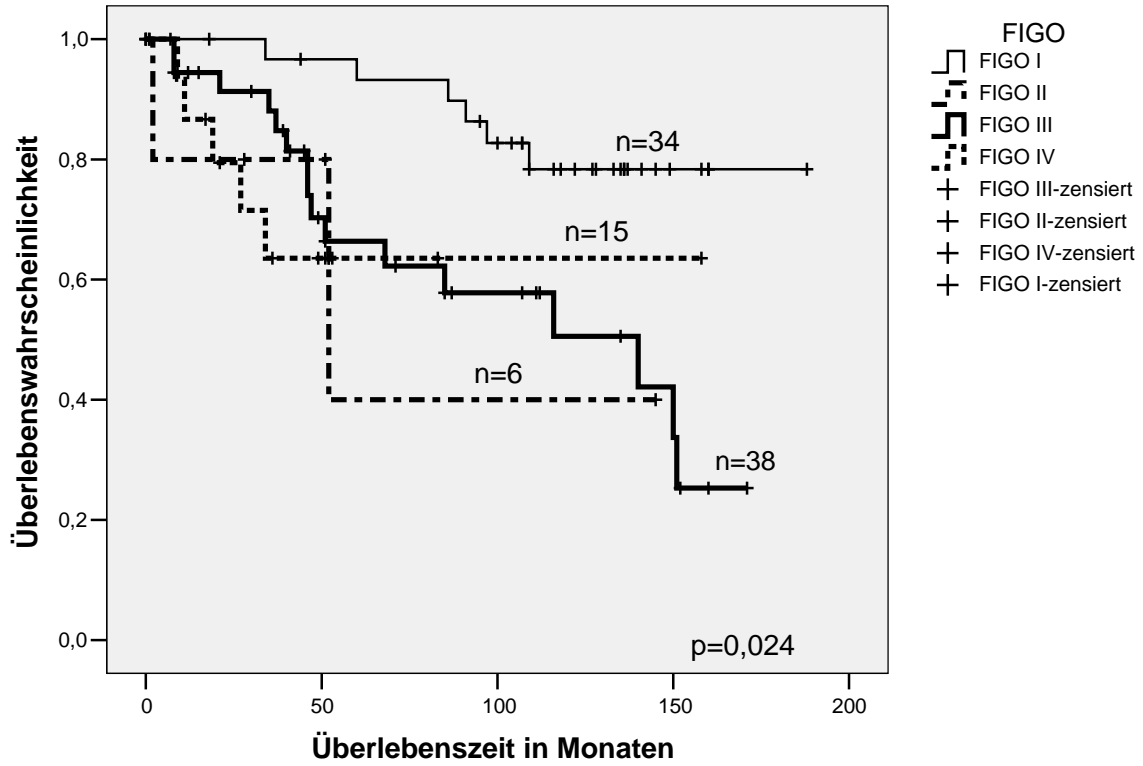


Abb. 12: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

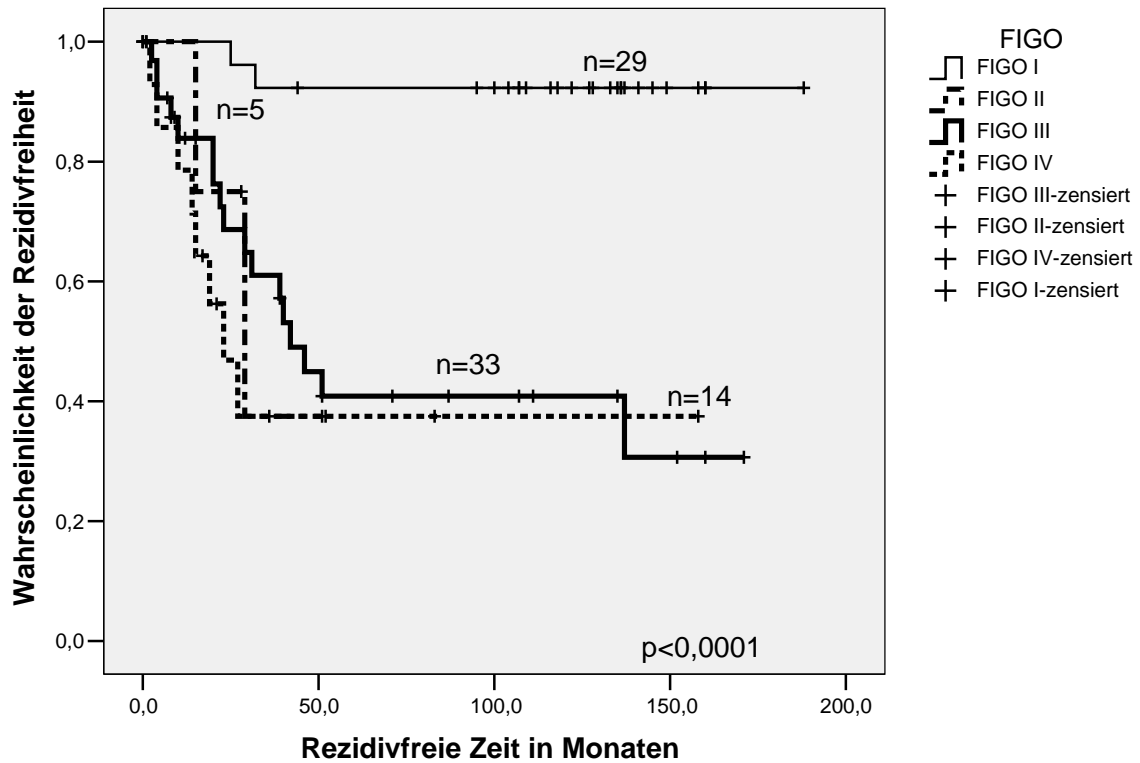


Abb. 13: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

1.5. Lymphknotenstatus

In 44 Fällen wurden die pelvinen Lymphknoten und in 29 Fällen zusätzlich die paraaortalen Lymphknoten entfernt. In 35 Fällen wurde keine Lymphonodektomie durchgeführt. In 15 Fällen ist unbekannt welche und in einem Fall, ob Lymphknoten entfernt wurden.

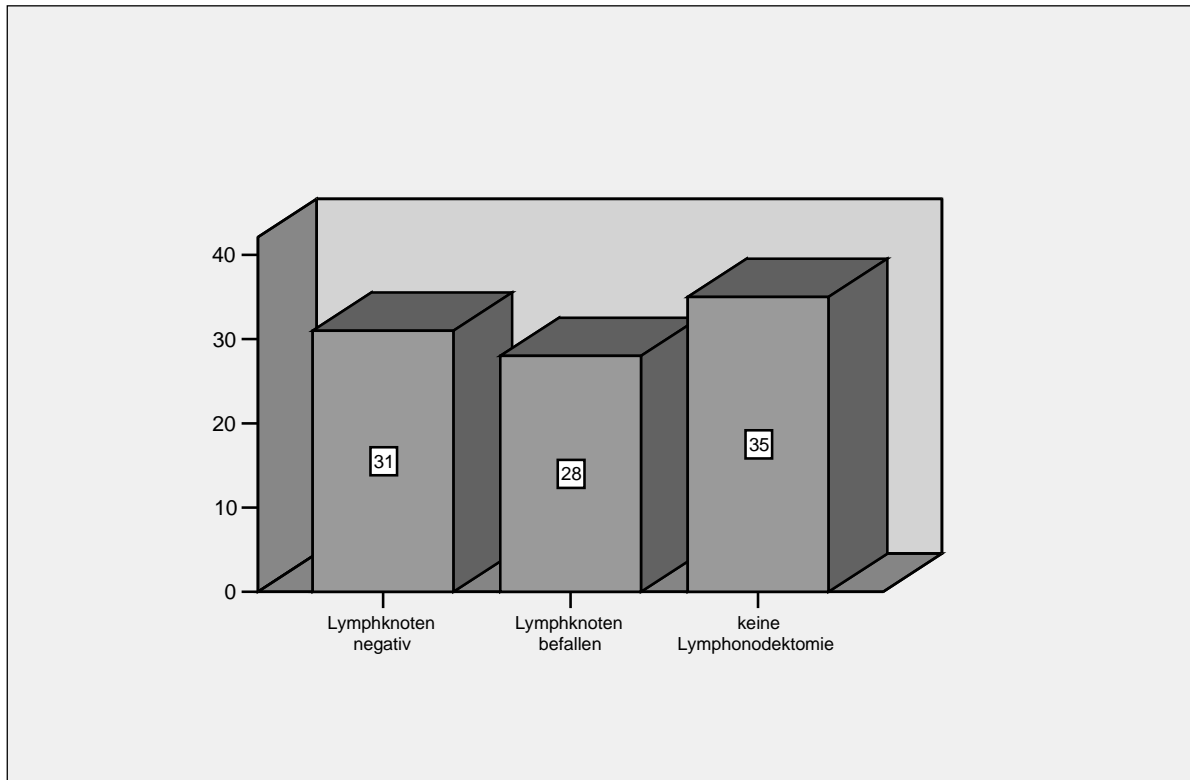


Abb. 14: Lymphknotenbefall

In 31 Fällen waren die Lymphknoten tumorfrei und die 5-JÜR betrug 88%.

Bei den 28 Fällen, deren regionäre Lymphknoten befallen waren, verkürzte sich die 5-JÜR auf 62% ($p=0,112$). Die 35 Fälle ohne Lymphonodektomie hatten eine 5-JÜR von 76%.

Betrachtet man die 5-JÜR in Bezug auf das rezidivfreie Überleben, so ergibt sich für die 28 Patientinnen mit unbefallenen Lymphknoten und bekanntem Rezidivzeitpunkt eine 5-JÜR von 74% im Vergleich zu 28% bei 25 Patientinnen mit befallenen Lymphknoten und bekanntem Rezidivzeitpunkt ($p=0,014$) und 70% bei Verzicht auf Lymphonodektomie.

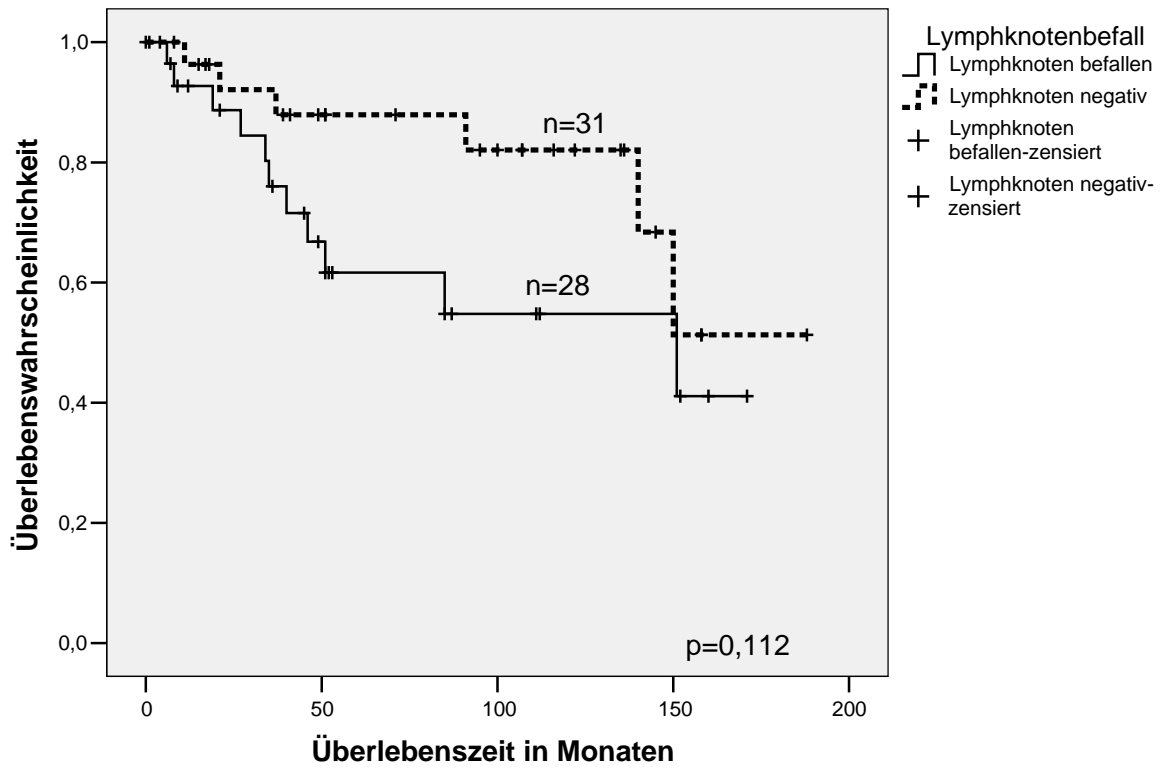


Abb. 15: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

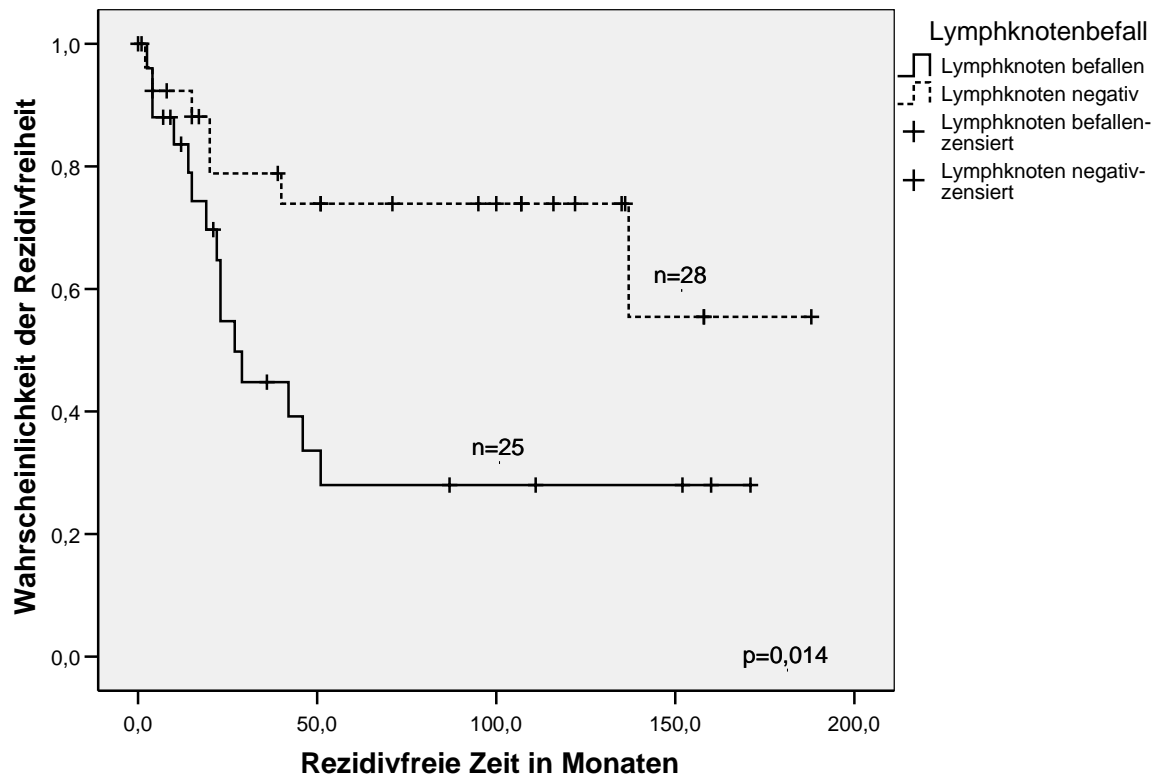


Abb. 16: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

1.6. Fernmetastasen

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung lagen bei 15 Patientinnen (15,8%) bereits Fernmetastasen vor. Diese Frauen hatten eine 5-JÜR von 64%.

72 Patientinnen (75,8%) hatten keine Fernmetastasen. Hier lag die 5-JÜR bei 79% (p=0,221).

Bei 8 Patientinnen waren keine sicheren Angaben über das Vorhandensein von Metastasen zu finden.

Die statistische Auswertung der Fälle mit bekanntem Rezidivzeitpunkt ergab folgende Zahlen: Die mediane Überlebenszeit bis zum Auftreten eines Rezidivs lag bei den 63 Patientinnen ohne Fernmetastasen außerhalb des Beobachtungszeitraumes, während sie bei den 14 Patientinnen mit Fernmetastasen 23 Monate betrug.

Die 5-JÜR ohne das Auftreten eines Rezidivs, lag ohne primär vorhandene Fernmetastasen bei 63%, während diese Überlebensrate bei Patientinnen mit primär vorhandenen Fernmetastasen 38% betrug ($p=0,022$).

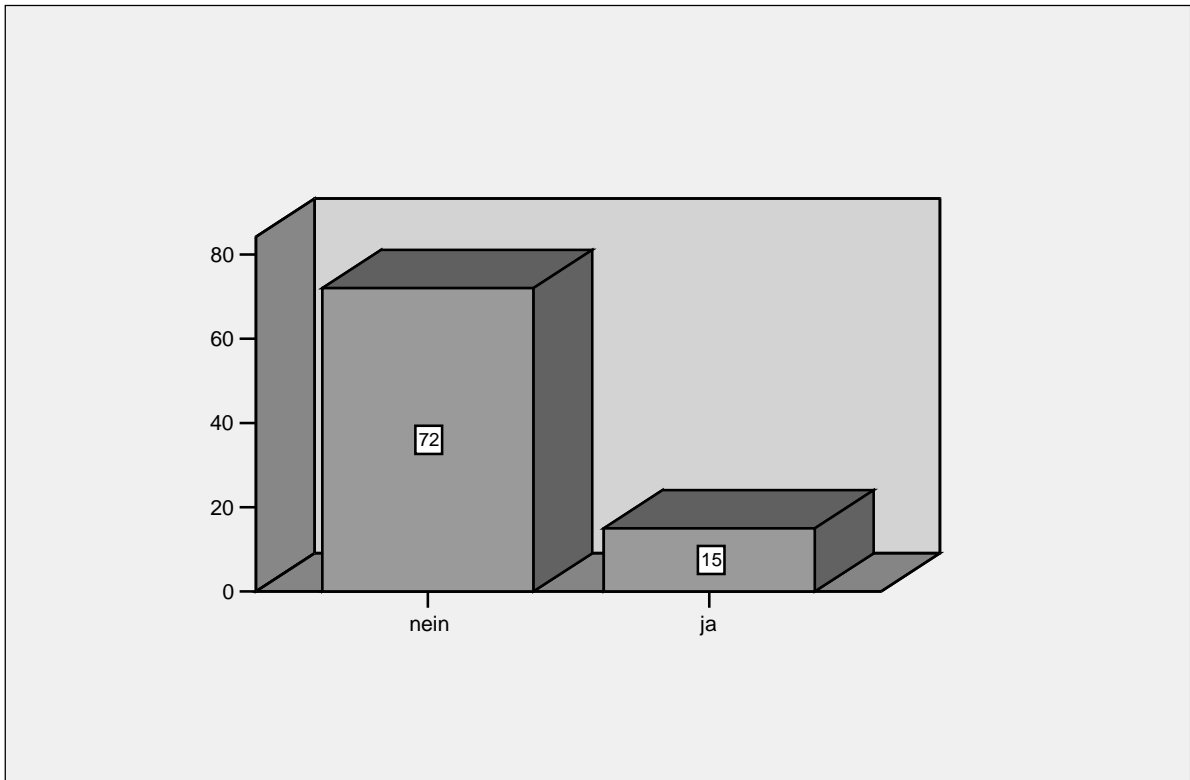


Abb. 17: Fernmetastasen

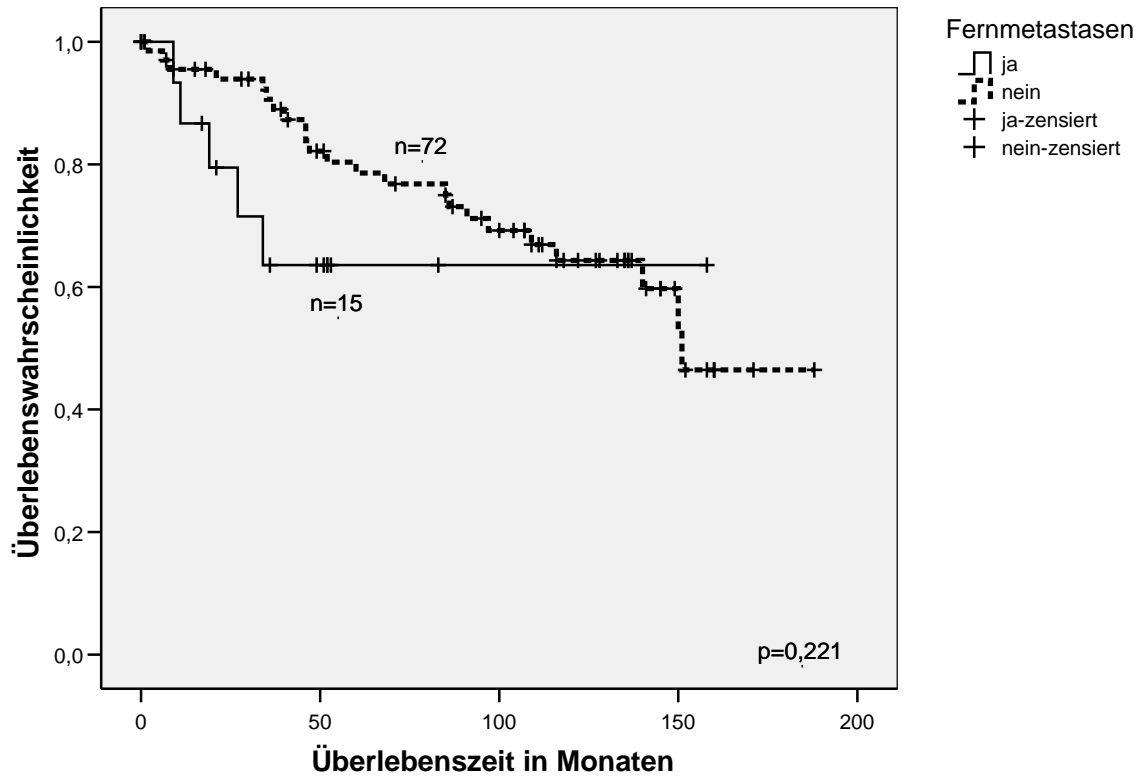


Abb. 18: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von Fernmetastasen

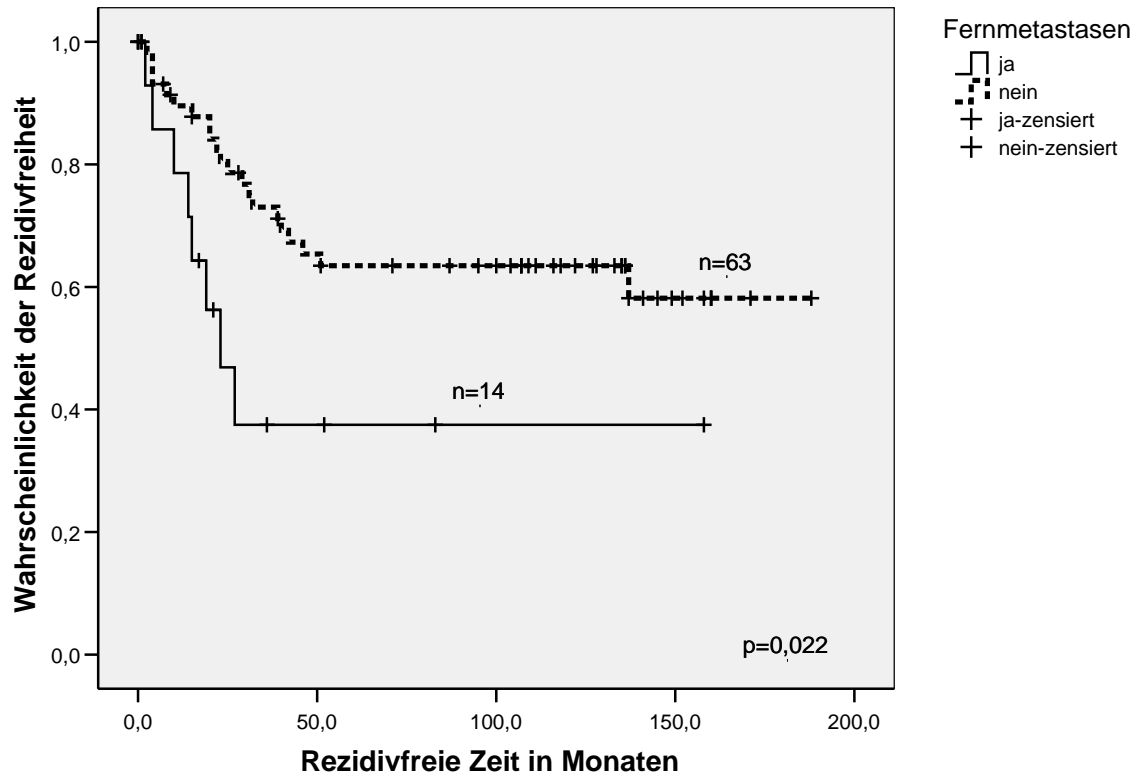


Abb. 19: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von Fernmetastasen

1.7. Tumorrest

Eine komplette Tumorentfernung gelang 59 Fällen (62,1%). In 4 Fällen (4,2%) war der zurückbelassene Tumorrest kleiner als 2 cm. Eine suboptimale Tumorreduktion mit mehr als 2 cm betragendem Rest gelang in 9 Fällen (9,5%). In 23 Fällen war die Größe des Tumorrestes aus den OP-Protokollen nicht ersichtlich.

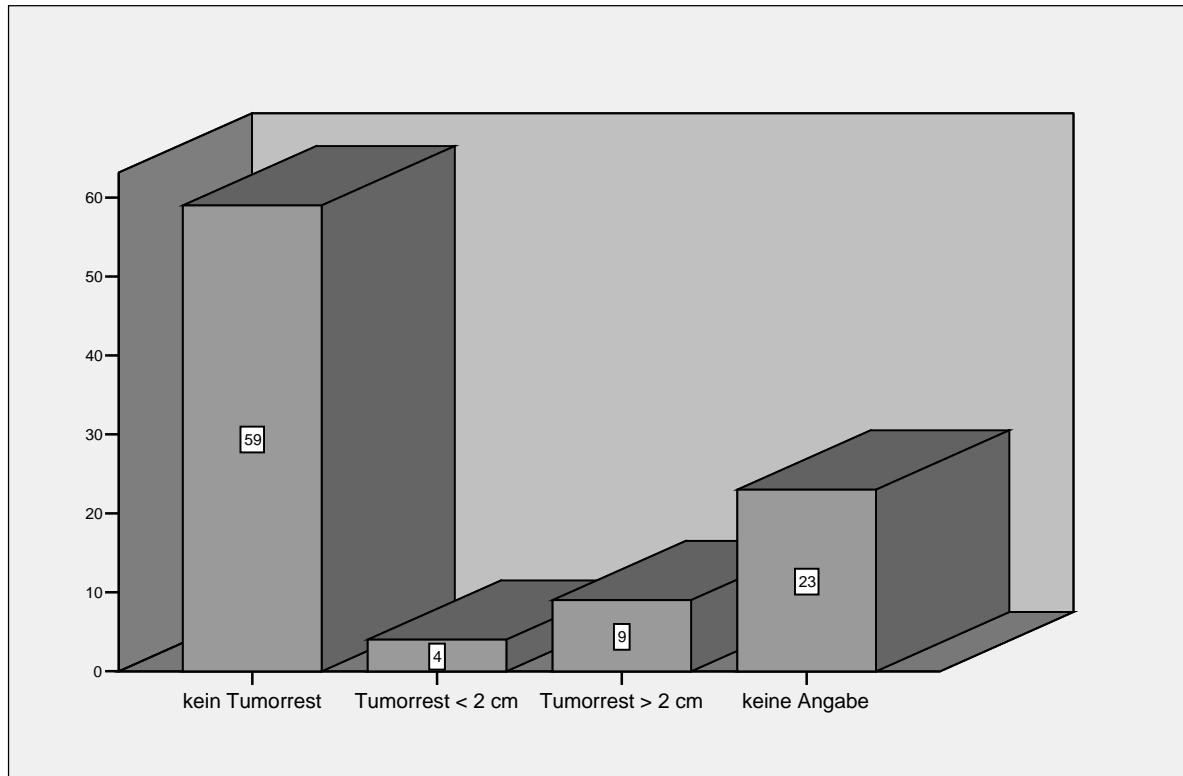


Abb. 20: Tumorrest

Die 5-JÜR betrug bei Frauen ohne Tumorrest 90%. Ist ein Tumorrest von < 2cm vorhanden, beträgt die 5-JÜR 50%. War der verbleibende Tumorrest > 2cm, betrug die 5-JÜR 44% ($p=0,003$).

Hinsichtlich der Rezidivfreiheit betrug die 5-JÜR bei den 51 Patientinnen ohne Tumorrest und bekanntem Rezidivzeitpunkt 71%, bei den 4 Patientinnen mit einem Tumorrest < 2cm und bekanntem Rezidivzeitpunkt 33% und bei den 8 Patientinnen mit einem Tumorrest > 2cm und bekanntem Rezidivzeitpunkt 38% ($p<0,0001$).

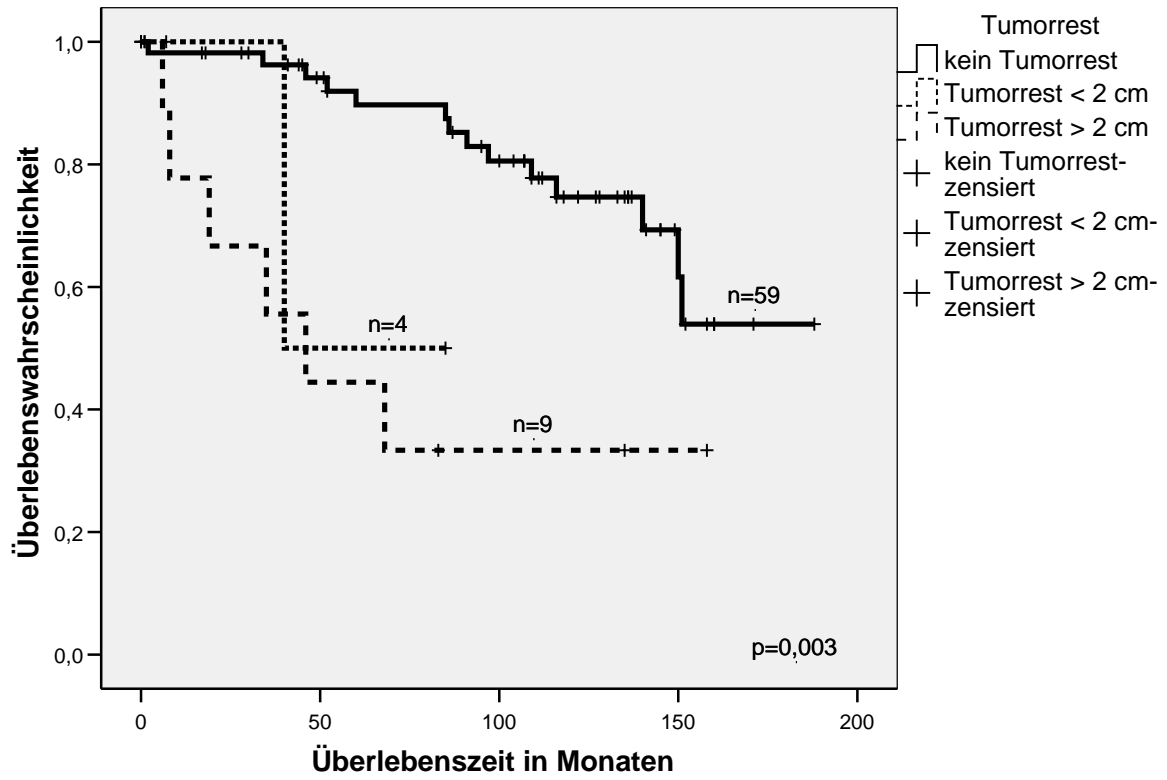


Abb. 21: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest



Abb. 22: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Tumorrest

1.8. Alter zum OP-Zeitpunkt

Das Alter der Patientinnen lag zum OP-Zeitpunkt 23 und 87 Jahren mit einem Median von 55 Jahren.

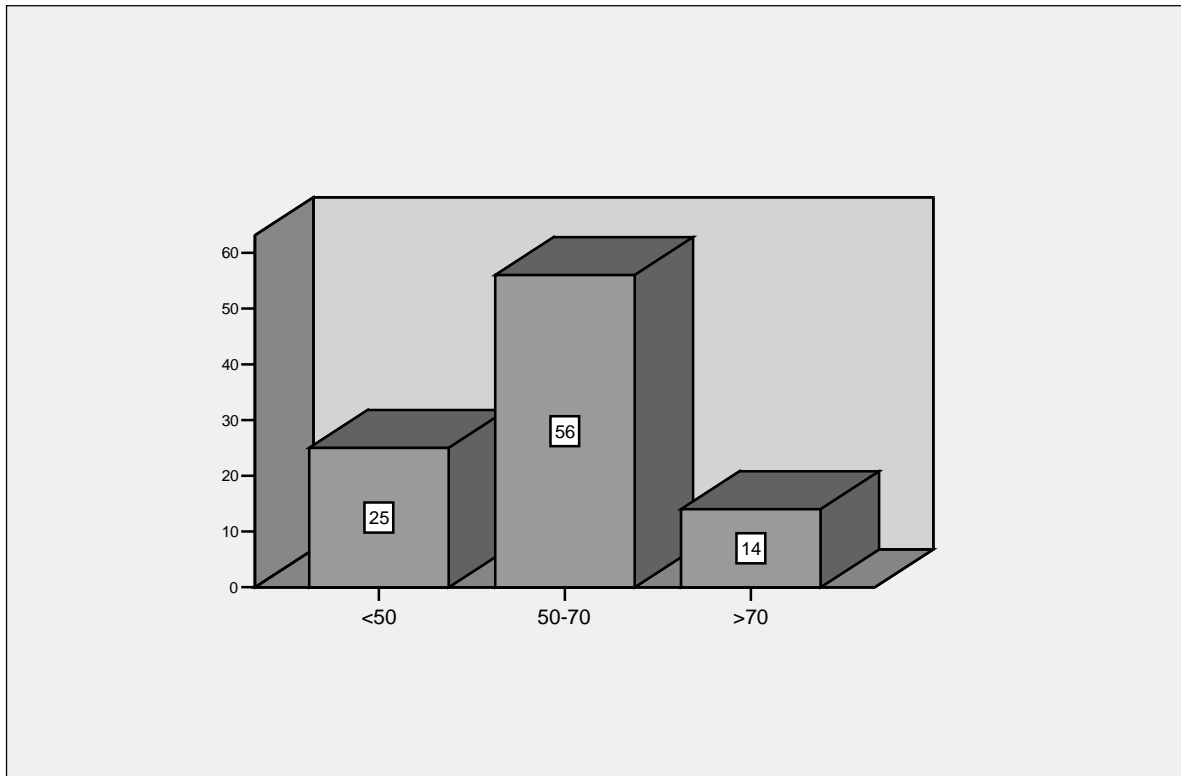


Abb. 23: Alter zu OP-Zeitpunkt

Die 25 Patientinnen, die zum Zeitpunkt der Operation unter 50 Jahre alt waren, hatten mit 84% die beste 5-JÜR. Diese Patientinnen überlebten den Beobachtungszeitraum mit einer Wahrscheinlichkeit von über 50%, so dass keine mediane Gesamtüberlebenszeit angegeben werden kann.

Bei den 56 Frauen zwischen 50 und 70 Jahren lag die 5-JÜR bei 74% und die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 151 Monaten.

Die 14 Patientinnen mit >70 Jahren zum Zeitpunkt der Operation hatten die niedrigste 5-JÜR von 58%. Die mediane Gesamtüberlebenszeit lag hier bei den 91 Monaten ($p=0,014$).

Auch in Hinblick auf die Rezidivfreiheit, haben die 24 Frauen unter 50 Jahren zum Zeitpunkt der Operation die günstigste Prognose. Die 5-JÜR lag hier bei 79% im Vergleich zu 52% bei den 50 Frauen im Alter von 50-70 Jahren und 43% bei den 9 über 70 jährigen ($p=0,148$).

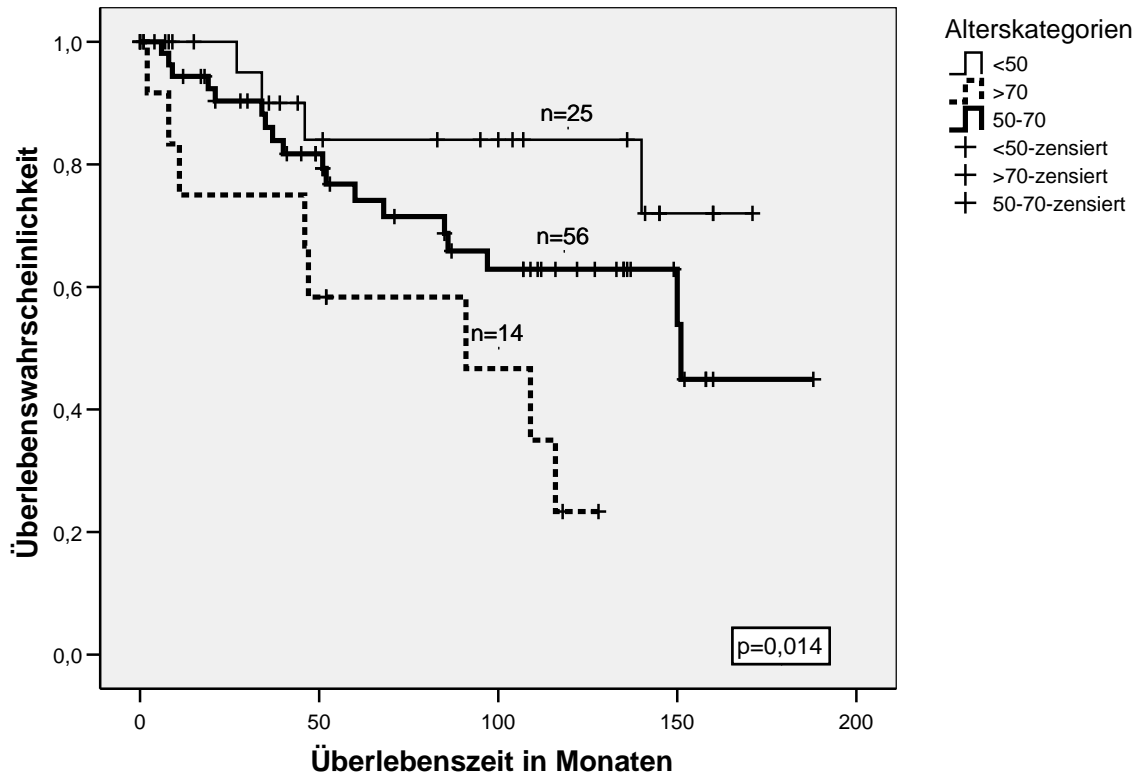


Abb. 24: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Alter zum OP-Zeitpunkt

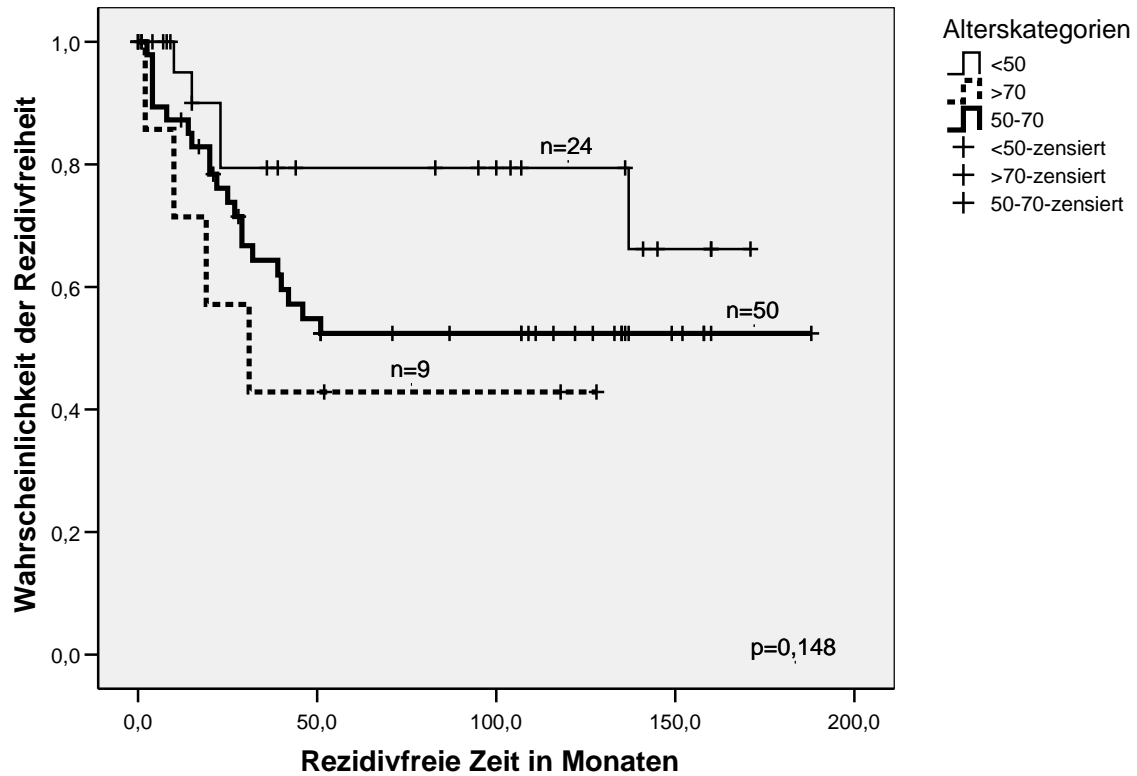


Abb. 25: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Alter zum OP-Zeitpunkt

1.9. Rezidiv

Zum Zeitpunkt des letzten Kontakts waren 53 Patientinnen (56%) ohne ein Anzeichen für ein Rezidiv. Hierbei war bei drei Frauen der Zeitpunkt des letzten Kontaktes identisch mit dem Operationszeitpunkt. In 41 Fällen (43%) lag ein Rezidiv vor. In einem Fall war der Rezidivstatus unbekannt. Hiervon ließ sich bei 12 Patientinnen der genaue Rezidivzeitpunkt nicht nachvollziehen.

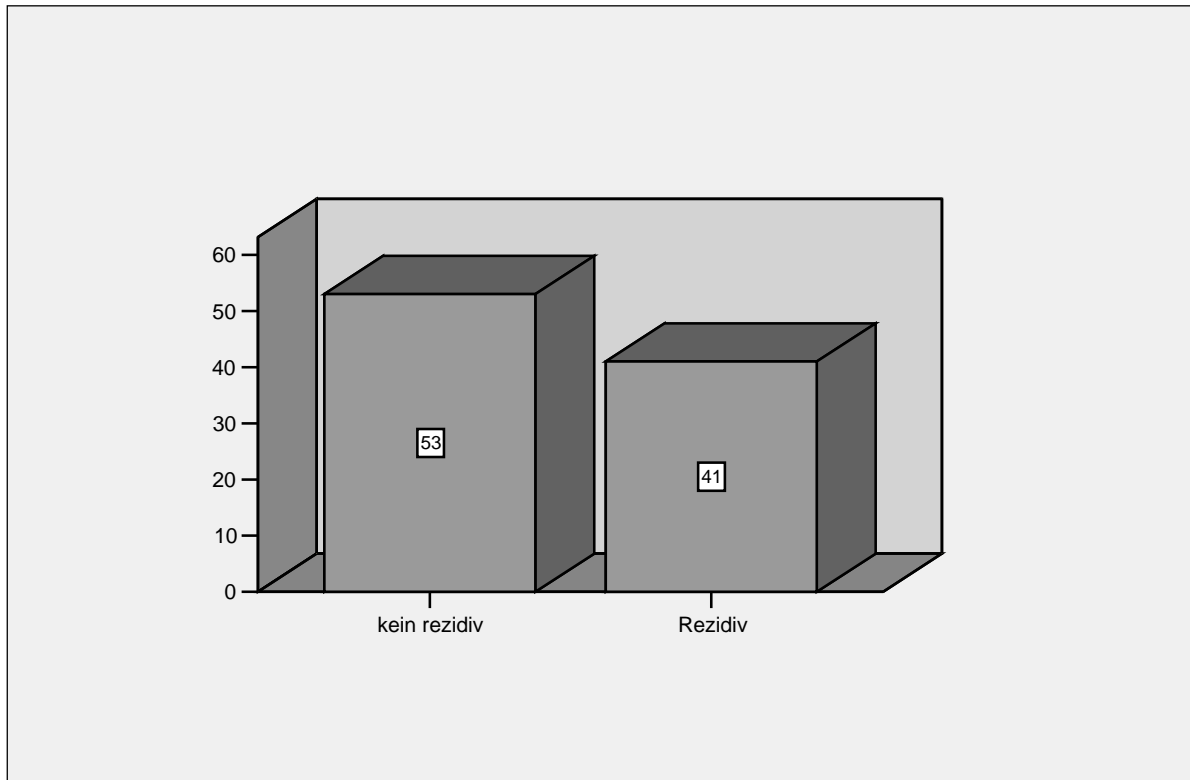


Abb. 26: Rezidivstatus

1.10. Krankheitsverlauf

Von 95 Patientinnen leben 57 (60%) zum Zeitpunkt des letzten Kontakts. 29 (31%) sind im Beobachtungszeitraum verstorben. Bei 9 Patientinnen (10%) war kein Follow-up möglich.

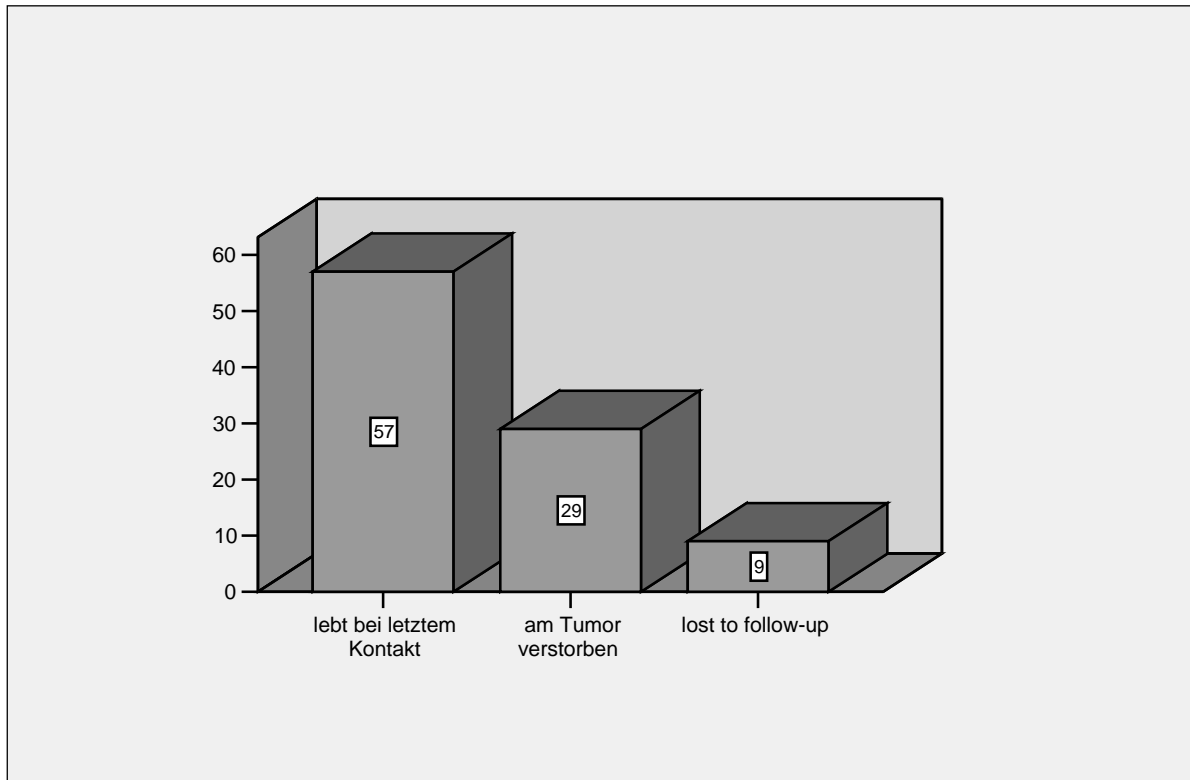


Abb. 27: Krankheitsverlauf

2. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON CYCLIN A BEIM OVARIALKARZINOM

Insgesamt wurde 95 Fälle von Ovarialkarzinomen auf die immunhistochemische Überexpression von Cyclin A untersucht.

56 Fälle (59%) zeigten eine positive Expression (Überexpression) von Cyclin A, 39 Fälle (41 %) waren immunhistochemisch Cyclin A negativ.

Die Stärke der Überexpression wurde geschätzt als Prozentteil der positiv gefärbten Kerne.

Jegliche Färbung von Tumorzellkernen $\geq 5\%$ wurde als positiv gewertet (Florenes et al. 2001).

26 (27%) der negativen Fälle zeigten eine positive Kernfärbung von 0%, 13 (14%) Fälle lagen zwischen 1 und 4% Positivität. In 53 (56%) Fällen färbten sich die Kerne zwischen 5 und 50% und in 3 (3%) Fällen zu über 50%.

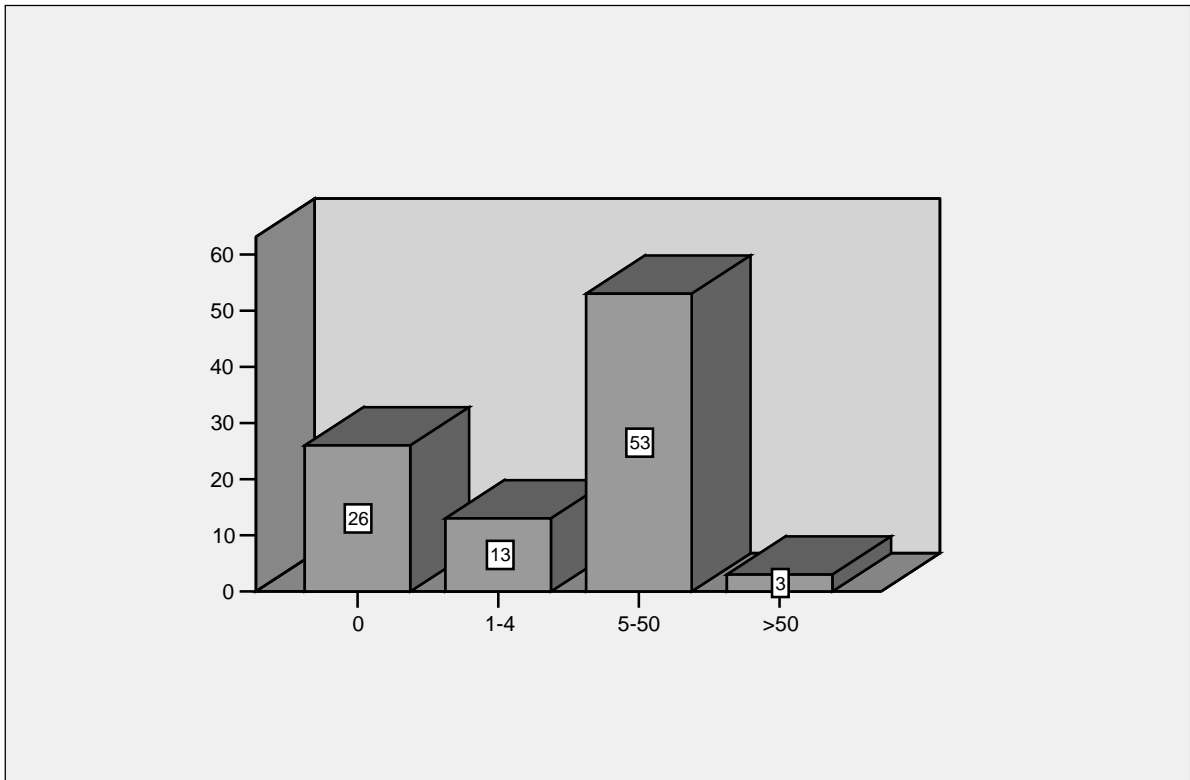


Abb. 28: Anzahl der Fälle mit prozentuaem Anteil der positiv gefärbten Kerne

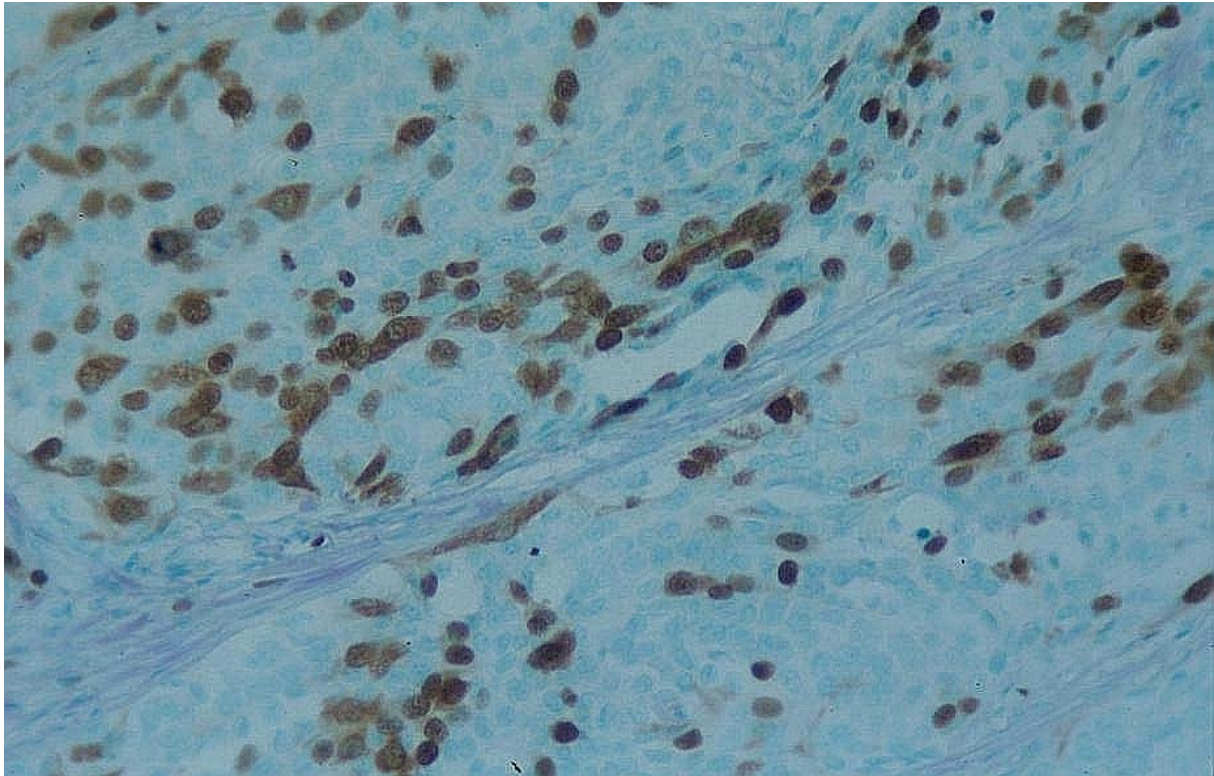


Abb. 29: Immunhistochemische Färbung von Cyclin A an einem serösen Ovarialkarzinom (30% positive Kerne)

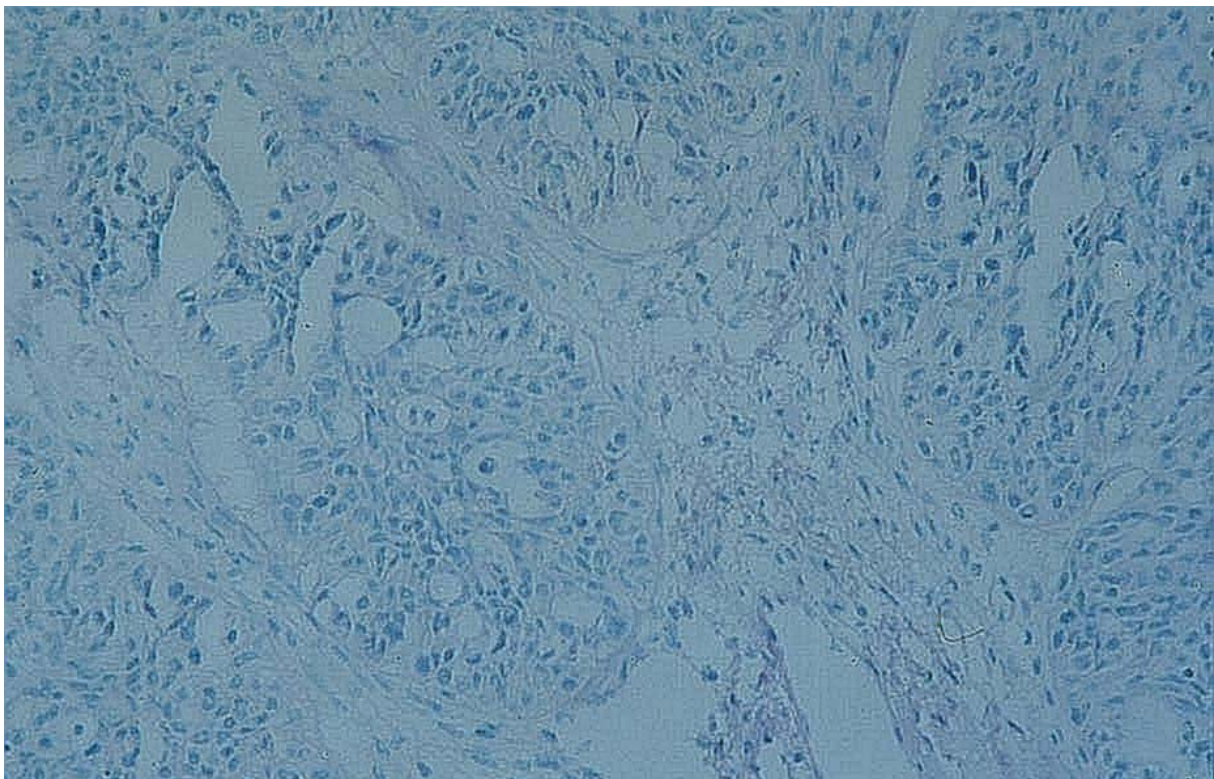


Abb. 30: Immunhistochemische Färbung von Cyclin A an einem endometrioiden Ovarialkarzinom (negative Kerne)

2.1. Korrelation von Cyclin A Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren

In der folgenden Tabelle sind die klinisch-histologischen Daten der 95 Ovarialkarzinome beschrieben, deren Tumorgewebe auf eine Cyclin A Proteinüberexpression hin untersucht wurde.

	Anzahl		Cyclin A positiv		Cyclin A negativ		p-Wert
	n	%	n	%	n	%	
Histologie	95	100	56	58,9	39	41,1	
Serös	50	52,6	28	50,0	22	56,4	
Endometrioid	22	23,2	17	30,4	05	12,8	
Undifferenziert	09	09,5	04	07,1	05	12,8	
Muzinös	06	06,3	02	03,6	04	10,3	
Klarzellig	05	05,3	04	07,1	01	02,6	
Gemischt epithelial	03	03,2	01	01,8	02	05,1	
							0,180
Grading	92	100	56	60,9	36	39,1	
G1	27	29,3	09	16,1	18	50,0	
G2	24	26,1	17	30,4	07	19,4	
G3	41	44,6	30	53,6	11	30,6	
							0,003
pT	95	100	56	58,9	39	41,1	
T1	38	40,0	22	39,3	16	41,0	
T2	10	10,5	04	07,1	06	15,4	
T3	47	49,5	30	53,6	17	43,6	
							0,429
FIGO	93	100	54	58,1	39	41,9	
FIGO I	34	36,6	19	35,2	15	38,5	
FIGO II	06	06,5	03	05,6	03	07,7	
FIGO III	38	40,9	22	40,7	16	41,0	
FIGO IV	15	16,1	10	18,5	05	12,8	

							0,872
Lymphknotenbefall	59	100	38	64,4	21	35,6	
positiv	28	47,5	16	42,1	12	57,1	
negativ	31	52,5	22	57,9	09	42,9	
							0,291
Fernmetastasen	87	100	52	59,8	35	40,2	
Keine Metastasen	72	82,8	42	80,8	30	85,7	
Metastasen	15	17,2	10	19,2	05	14,3	
							0,773
Tumorrest	72	100	42	58,3	30	41,7	
Kein Tumorrest	59	81,9	31	73,8	28	93,3	
Residualtumor < 2cm	04	05,6	02	04,8	02	06,7	
Residualtumor > 2cm	09	12,5	09	21,4	00	00,0	
							0,011

Tab. 3: Cyclin A und klinisch-histologische Daten

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Cyclin A Überexpression signifikant assoziiert ist mit einem schlechten Differenzierungsgrad des Tumors ($p=0,003$) und mit einem so ausgedehnten Tumorbefund, dass eine komplette Entfernung nicht möglich war ($p=0,011$).

Es besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Cyclin A Überexpression und Histologie, Tumorstadien, Lymphknoten oder Fernmetastasierung.

2.2. Überlebensstatistik

Von den 39 Patientinnen mit negativer Cyclin A Expression verstarben 11. Bei den 56 Patientinnen, deren Tumoren eine Cyclin A Überexpression aufwiesen verstarben 19. Die 5-JÜR für Tumoren mit negativer Cyclin A Expression beträgt 81% verglichen mit 69% für Tumoren mit Cyclin A Überexpression ($p=0,298$).

Bezüglich der rezidivfreien Überlebenszeit ergibt sich ebenfalls eine statistisch nicht signifikante Verschlechterung für Fälle mit Cyclin A Überexpression. Ihre rezidivfreie 5-JÜR liegt bei 56%, verglichen mit 62% für Fälle ohne Cyclin A Überexpression ($p=0,306$).

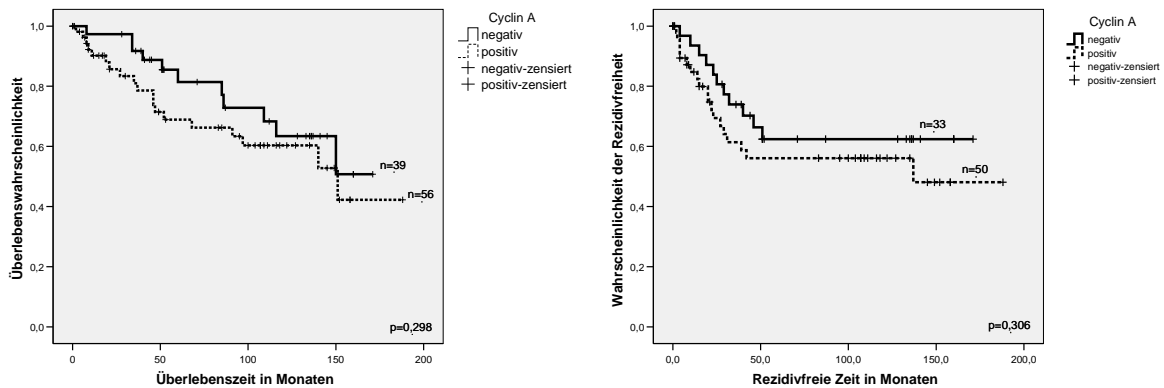


Abb. 31: Gesamtüberlebenszeit und Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Proteinexpression

2.2.1. Überlebensstatistik klassifiziert nach Histologie

Patientinnen mit serösen Tumoren weisen bei positiver Immunhistologie für Cyclin A eine 5-JÜR von 59% auf, während sie bei negativer Immunhistologie bei 71% liegt. Auch die mediane Gesamtüberlebenszeit ist bei Cyclin A Überexpression mit 91 Monaten niedriger als bei negativer Immunhistologie mit 150 Monaten (p=0,204).

Patientinnen mit endometrioiden Tumoren weisen bei positiver Cyclin A Expression eine 5-JÜR von 86%, während sie bei negativer Expression bei 100% liegt (p=0,861).

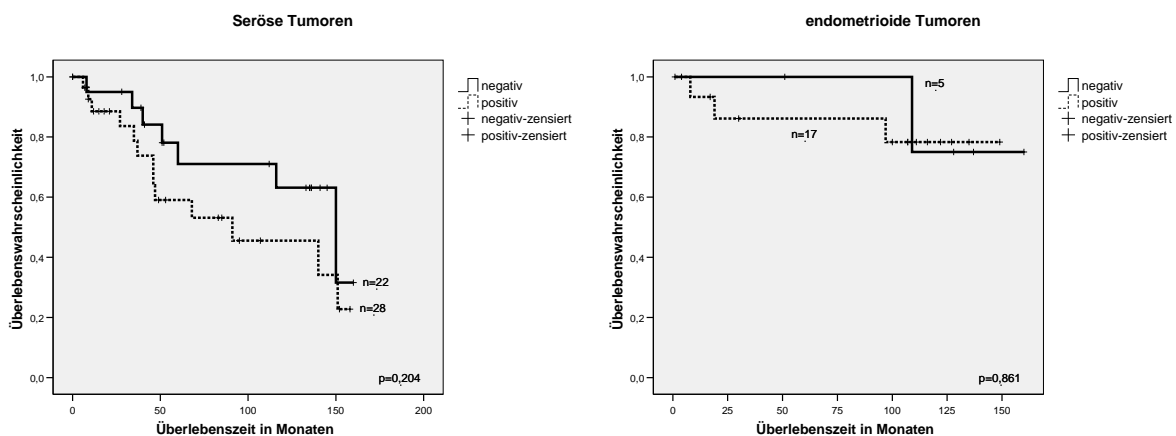


Abb. 32: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom der Histologie

Von den 28 Patientinnen mit serösen Tumoren und positiver Immunhistologie war bei 25 Rezidivstatus und Rezidivzeitpunkt bekannt. 14 erkrankten an einem Rezidiv, die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 35%. Von den Patientinnen mit 22 serösen Tumoren und negativer

Immunhistologie lag die Zahl bei 17 mit 6 Rezidivkrankungen und einer 5-JÜR von 57% (p=0,136).

Bei den endometrioiden Tumoren mit Cyclin A Überexpression war bei 15 von 17 Patientinnen Rezidivstatus und –zeitpunkt bekannt. Es kam in 2 Fällen zur Rezidivkrankung. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 85%. In den Fällen mit negativer Immunhistologie lag die 5-JÜR bei 100%, da keine Rezidivkrankung stattfand (p=0,423).

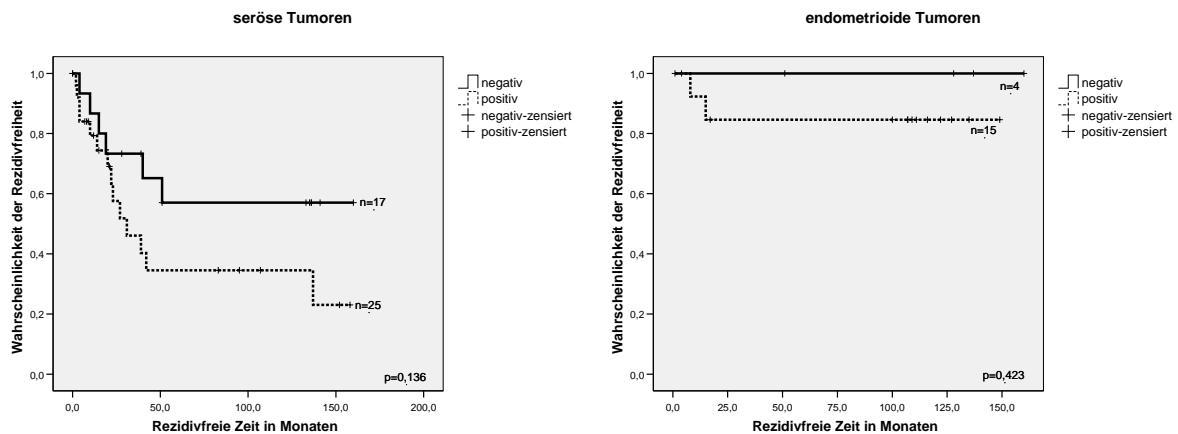


Abb. 33: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Histologie

2.2.2. Überlebensstatistik klassifiziert nach Grading

Weisen gut differenzierte Tumoren eine Cyclin A Überexpression auf so haben diese mit 71% eine schlechtere 5-JÜR als Tumoren ohne Cyclin A Überexpression mit 87% (p=0,153).

Bei schlecht differenzierten Tumoren ist der Unterschied noch deutlicher. Tumoren mit einer Cyclin A Überexpression führen zu einer 5-JÜR von 47%, wohingegen die 5-JÜR von Patientinnen mit Tumoren ohne Überexpression von Cyclin A 89% beträgt (p=0,045).

Bei mäßig differenzierten Tumoren weisen die Cyclin A negativen Tumoren ein deutlich schlechteres Überleben (5-JÜR = 67%) als die Cyclin A positiven Tumoren mit einer 5-JÜR von 94% auf (p=0,018).

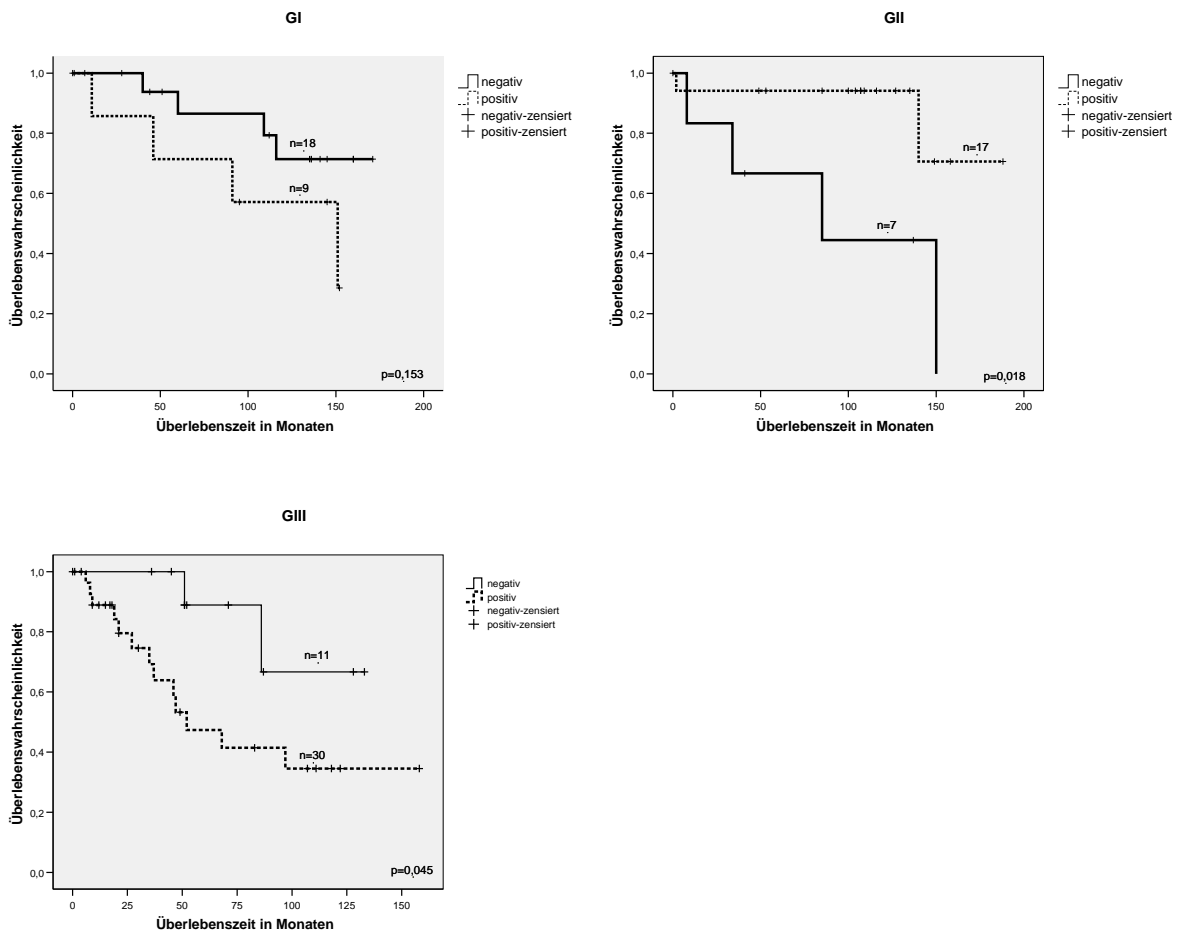


Abb. 34: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Grading

Vergleicht man die rezidivfreien 5-JÜR, zeigen sich die gleichen Tendenzen.

Gut differenzierte Tumoren haben eine 5-JÜR von 77%, wenn sie Cyclin A negativ sind im Vergleich zu 51% bei Cyclin A Überexpression ($p=0,239$).

Schlecht differenzierte Tumoren führen bei Cyclin A Überexpression zu einer schlechteren rezidivfreien 5-JÜR von 37%, wohingegen die Wahrscheinlichkeit der Patientinnen ohne Cyclin A Überexpression die ersten 5 Jahre rezidivfrei zu überleben bei 70% liegt ($p=0,072$).

Bei mäßig differenzierten Tumoren hingegen führt auch im Vergleich des rezidivfreien Überlebens die Cyclin A Überexpression zu einer höheren 5-JÜR von 80% im Vergleich zu 25% bei normaler Cyclin A Expression ($p=0,107$).

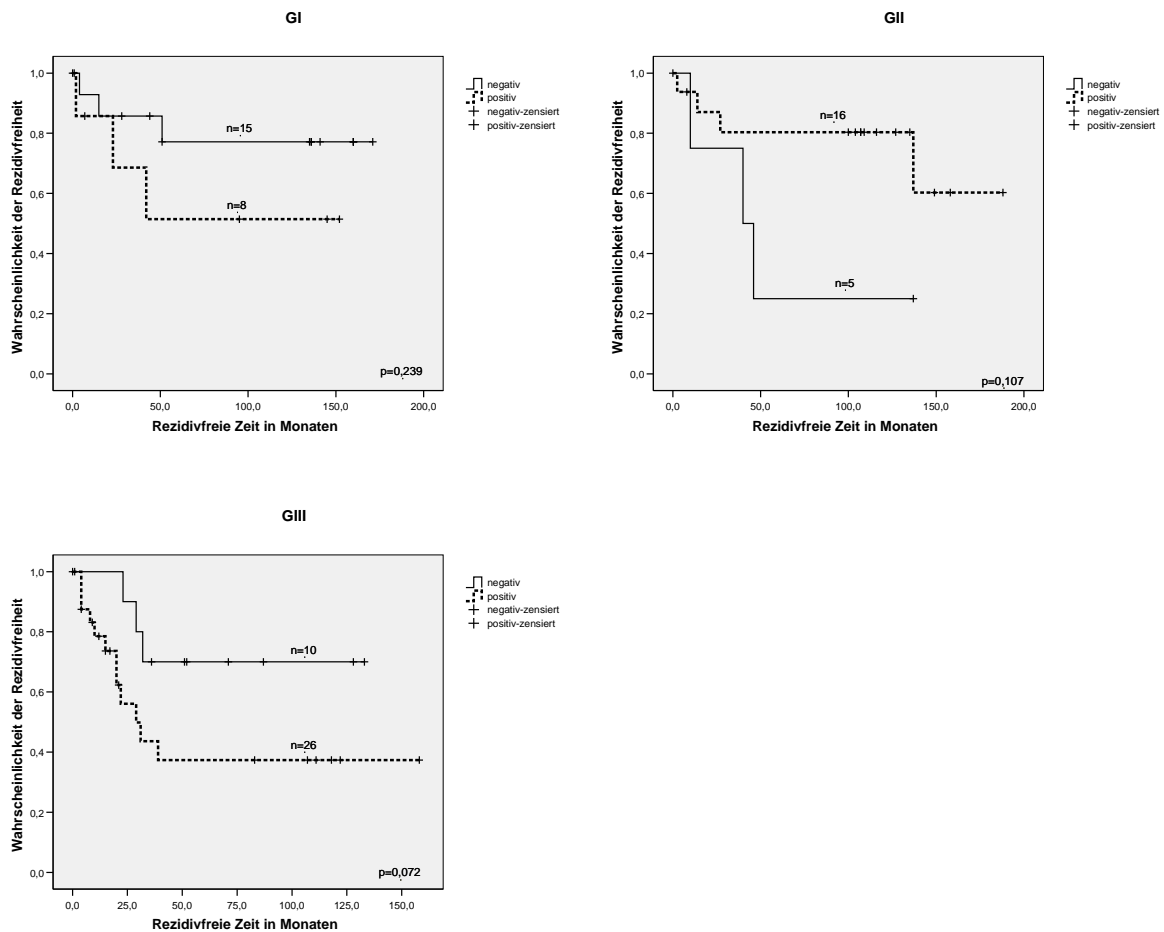


Abb. 35: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Grading

2.2.3. Überlebensstatistik klassifiziert nach pT

Im Stadium pT1 lag die 5-JÜR der Cyclin A negativen Fälle bei 86%. Sie stieg bei Cyclin A Überexpression auf 95% ($p=0,446$).

Im Stadium pT2 gab es bei den Cyclin A negativen Tumoren keine Todesfälle. Die 5-JÜR lag somit bei 100%. Sie sank bei Überexpression von Cyclin A auf 33% ($p=0,062$).

Im Stadium pT3 lag die 5-JÜR der Cyclin A negativen Fälle bei 71% und sank bei Überexpression auf 53% ($p=0,393$).

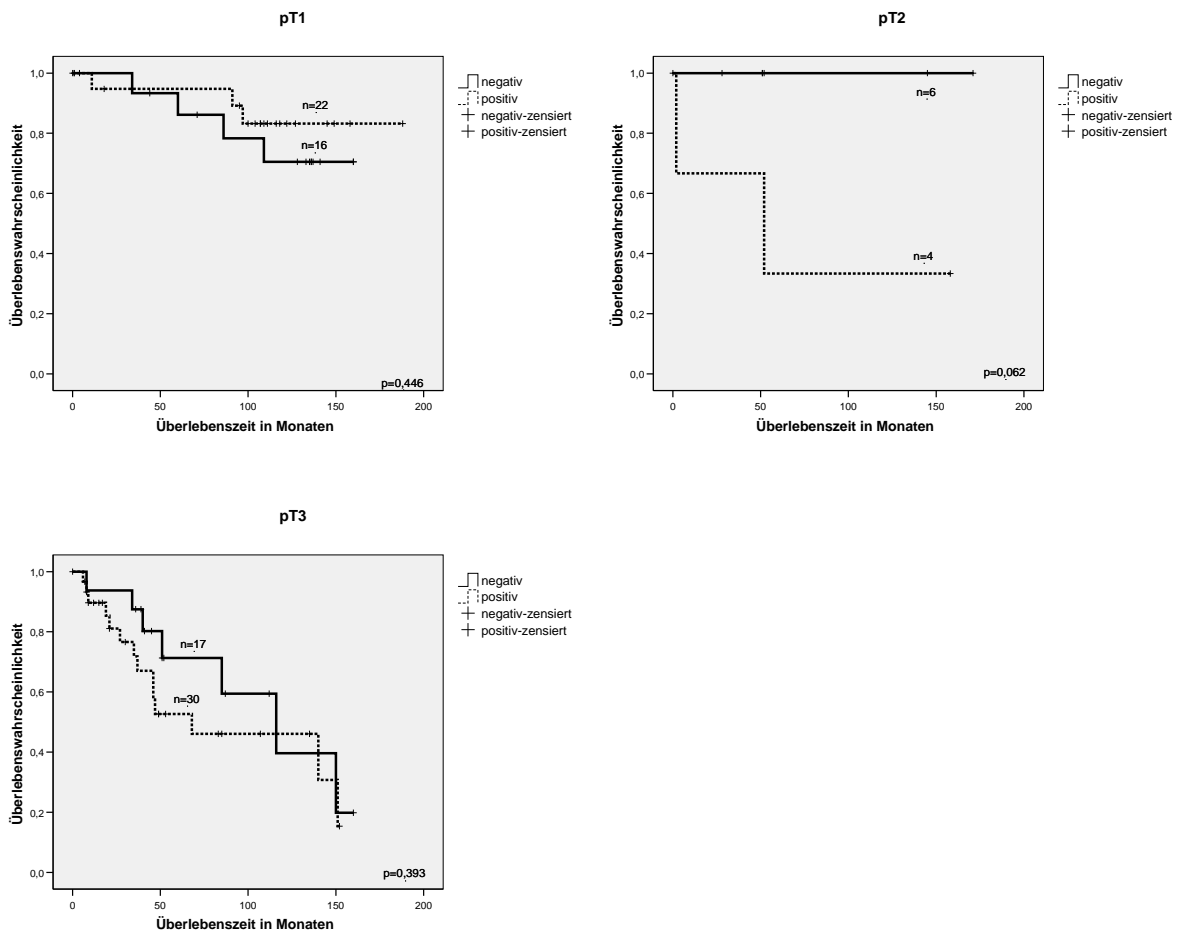


Abb. 36: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium

Bei bekanntem Rezidivzeitpunkt ergab sich bei den T1-Tumoren eine rezidivfreie 5-JÜR von 85% bei normaler Cyclin A Expression und von 94% bei Überexpression ($p=0,445$).

Die T2-Tumoren zeigten bei normaler Cyclin A Expression eine rezidivfreie 5-JÜR von 83% und bei Überexpression von 50% ($p=0,515$).

Hier war wegen der geringen Fallzahl im Stadium pT2 in mindestens einer Schicht nur ein einziger gültiger Wert für die Überlebensfunktion vorhanden. Für diese Schichten kann kein Diagramm gezeichnet werden.

Im Stadium pT3 lag die rezidivfreie 5-JÜR der Cyclin A negativen Fälle bei 23%, die der Cyclin A positiven Fälle bei 27% ($0,453$).

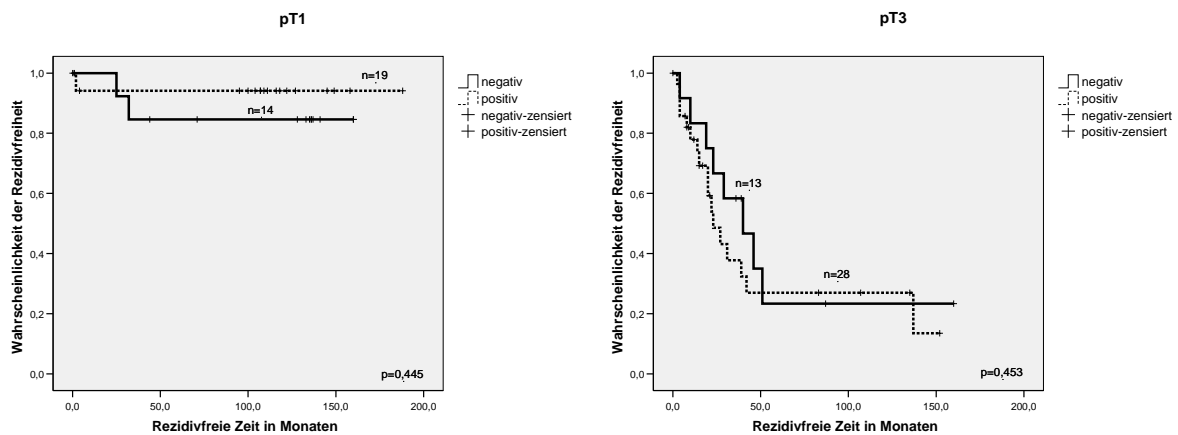


Abb. 37: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium

2.2.4. Überlebensstatistik klassifiziert nach FIGO

Die Untersuchung der 5-JÜR in Bezug auf die verschiedenen FIGO-Stadien ergibt folgendes Ergebnis:

Im Stadium I beträgt die 5-JÜR für Cyclin A negative Fälle 85%, während Cyclin A überexprimierende Fälle die ersten 5 Jahre zu 100% überleben ($p=0,258$).

In allen übrigen FIGO-Stadien liegen die 5-JÜR von Cyclin A überexprimierenden Tumoren unter denen von Tumoren mit normaler Cyclin A Expression:

Sie lag bei 50% (Cyclin A positiv) im Vergleich zu 100% (Cyclin A negativ) im Stadium II ($p=0,116$).

Sie lag bei 57% (Cyclin A positiv) im Vergleich zu 78% (Cyclin A negativ) im Stadium III ($p=0,337$).

Sie lag bei 55% (Cyclin A positiv) im Vergleich zu 80% (Cyclin A negativ) im Stadium IV ($p=0,287$).

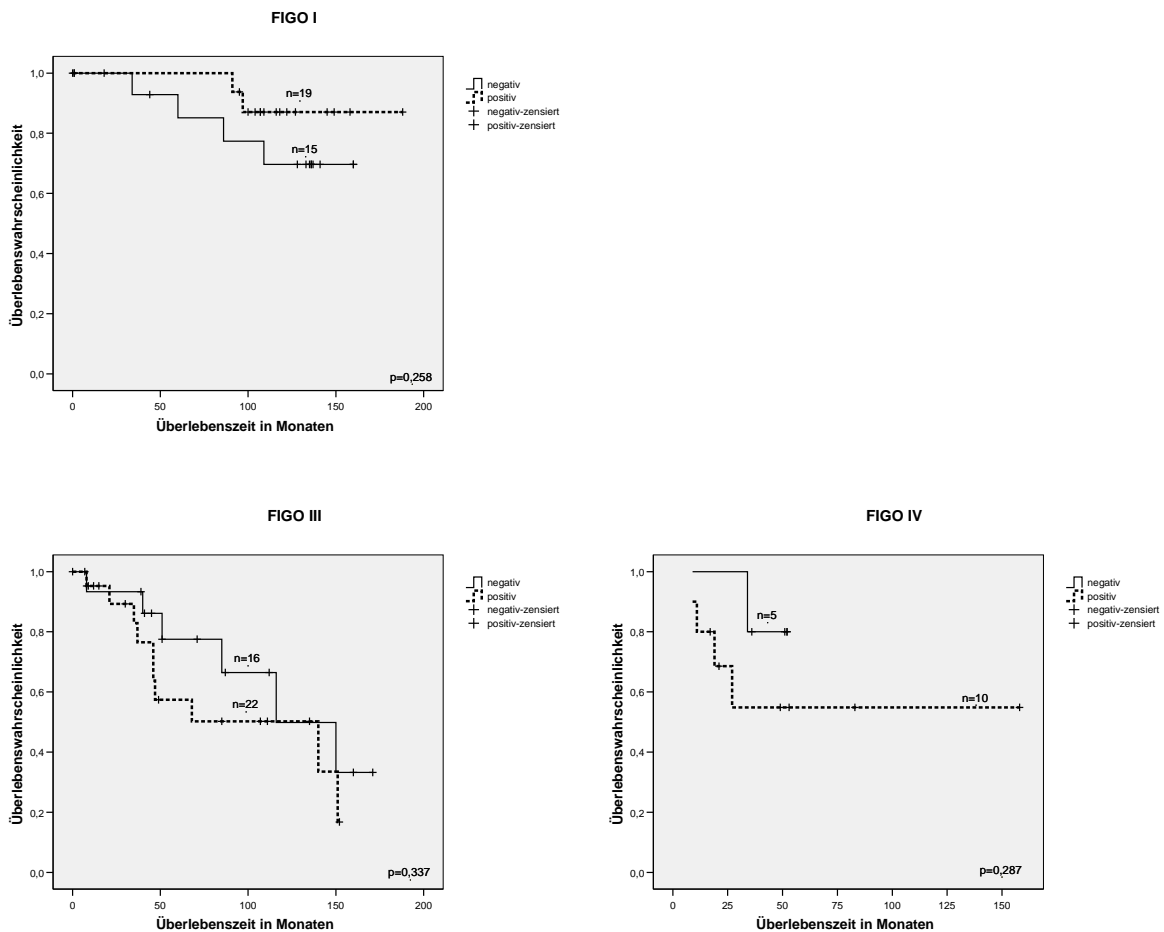


Abb. 38: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

Der Zusammenhang zwischen Zeitraum bis zum Rezidiv und Cyclin A Expression in den verschiedenen FIGO-Stadien wurde mit folgendem Ergebnis untersucht:

Mit Ausnahme des FIGO Stadiums I sind die rezidivfreien 5-JÜR bei Cyclin A überexprimierenden Tumoren schlechter als die von Cyclin A negativen Fällen

Im Stadium FIGO I lag sie bei 100% (Cyclin A positiv) im Vergleich zu 83% (Cyclin A negativ) ($p=0,118$).

Sie lag bei 0% (Cyclin A positiv) im Vergleich zu 67% (Cyclin A negativ) im Stadium FIGO II ($p=0,705$).

Sie lag bei 33% (Cyclin A positiv) im Vergleich zu 51% (Cyclin A negativ) im Stadium FIGO III ($p=0,121$).

Sie lag bei 37% (Cyclin A positiv) im Vergleich zu 40% (Cyclin A negativ) im Stadium FIGO IV ($p=0,816$).

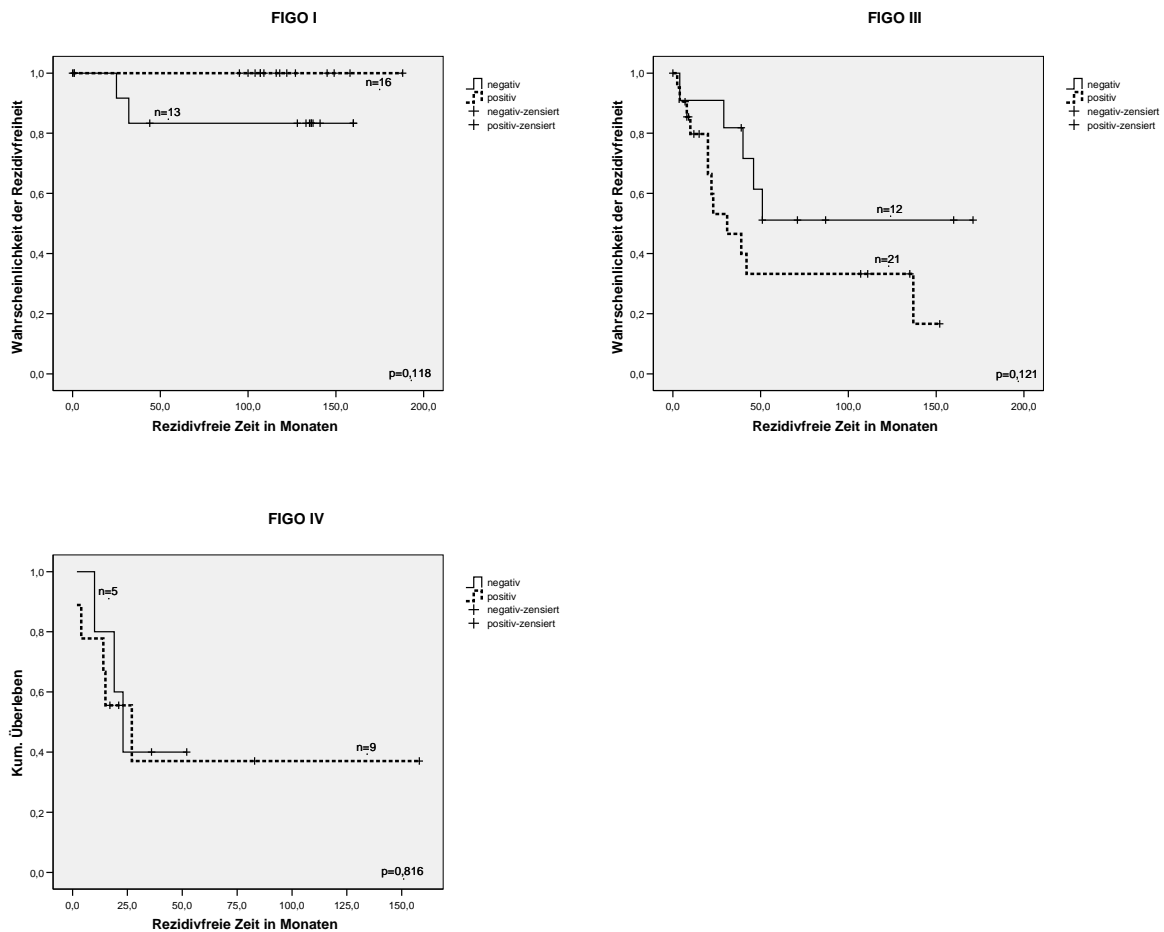


Abb. 39: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

Wegen der geringen Fallzahl im Stadium FIGO II, ist in mindestens einer Schicht nur ein einziger gültiger Wert für die Überlebensfunktion vorhanden. Für diese Schichten kann kein Diagramm gezeichnet werden.

2.2.5. Überlebensstatistik klassifiziert nach Lymphknotenstatus

Betrachtet man die Überlebensraten im Zusammenhang mit der Lymphknotenmetastasierung, kommt man zu folgendem Ergebnis:

Fälle ohne Lymphknotenmetastasen haben eine 5-JÜR von 100%, wenn Cyclin A nicht überexprimiert ist und von 82% bei einer Cyclin A Überexpression (p=0,477).

Fand bereits eine Lymphknotenmetastasierung statt beträgt die 5-JÜR 72% bei Cyclin A negativen und 53% bei Cyclin A positiven Fällen (p=0,234).

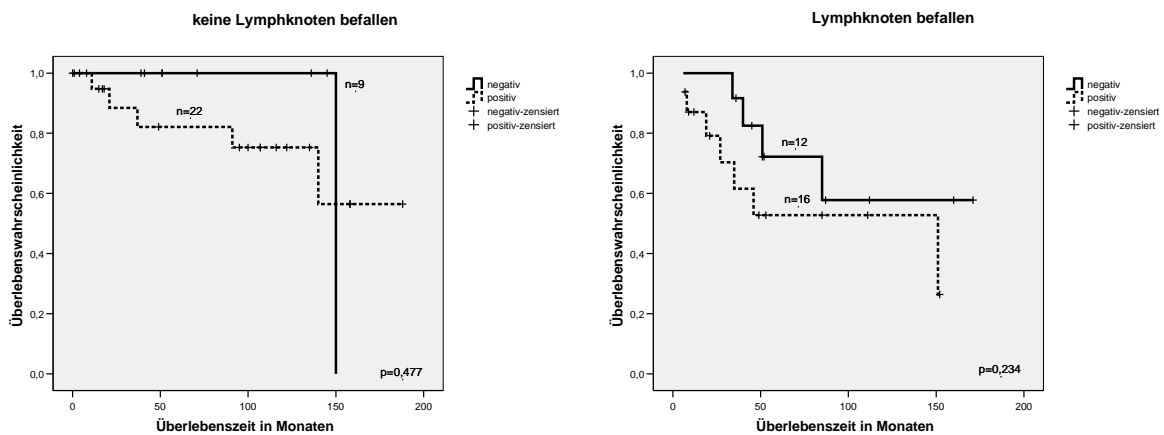


Abb. 40: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

Bezüglich der rezidivfreien Überlebenszeit ergibt sich für die Fälle ohne LK-Metastasen eine höhere 5-JÜR bei Cyclin A Überexpression (76% im Vergleich zu 69%), die aber statistisch nicht signifikant ist ($p=0,865$).

Im Falle der stattgehabten Lymphknotenmetastasierung beträgt die mediane rezidivfreie Überlebenszeit 46 Monate bei Cyclin A negativen Tumoren und 23 Monate bei Cyclin A Überexpression. Die 5-JÜR spiegelt hier ebenfalls die ungünstigere Prognose der Cyclin A Überexpression wider: 32% im Vergleich zu 22% ($p=0,394$).

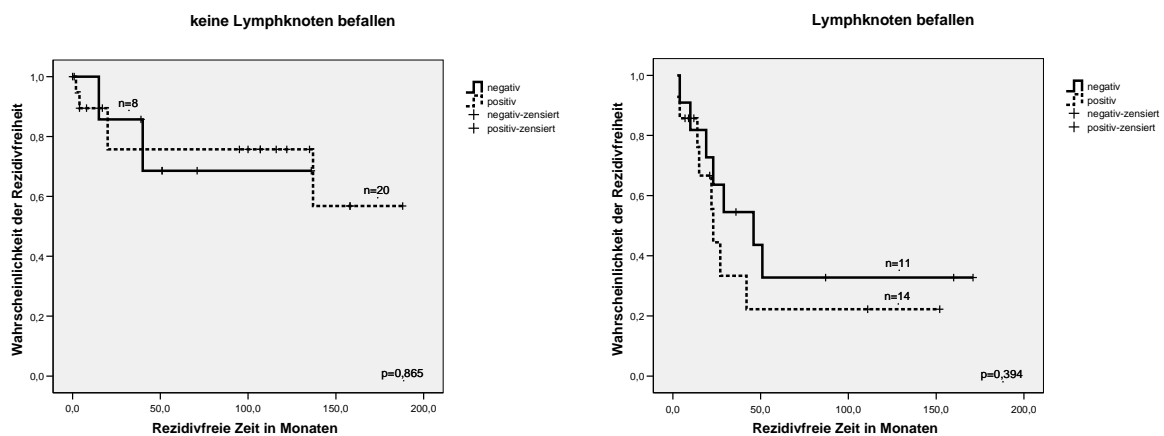


Abb. 41: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

2.2.6. Überlebensstatistik klassifiziert nach Fernmetastasen

Von den 72 Fällen ohne Fernmetastasierung waren 30 Fälle Cyclin A negativ. 42 wiesen eine positive Immunhistologie auf. Die 5-JÜR lag bei 85% und 74% ($p=0,495$).

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung lagen in 15 Fällen bereits hämatogene Metastasen vor. 5 Tumoren waren Cyclin A negativ, 10 Cyclin A positiv. Die 5-JÜR bei negativer Immunhistologie betrug 80% und sank bei Cyclin A Überexpression auf 55% ($p=0,287$).

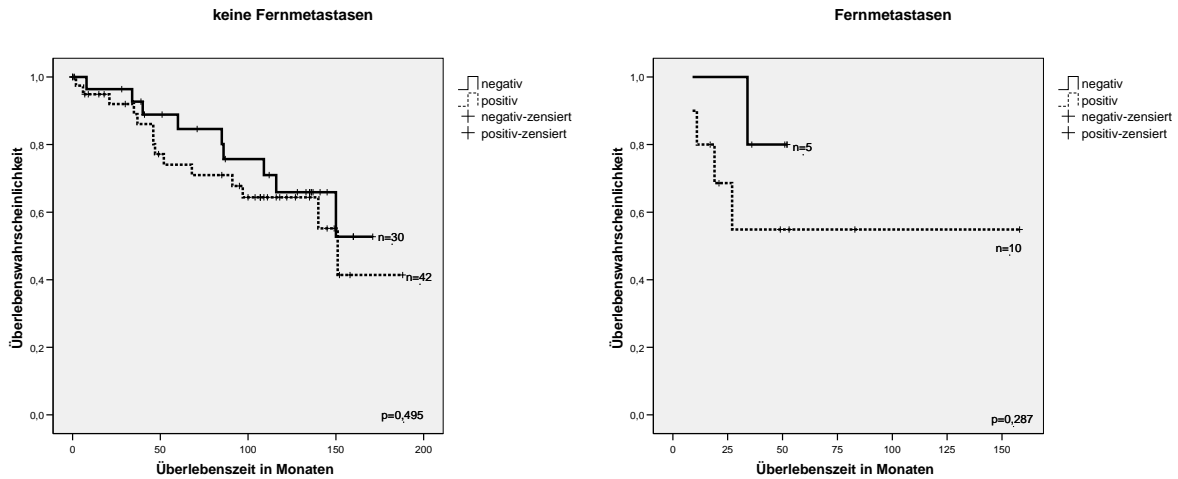


Abb. 42: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von der Metastasierung

In 63 Fällen ohne Fernmetastasen waren Rezidivstatus und -zeitpunkt bekannt. 25 Tumoren wiesen eine negative Cyclin A Expression auf. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 68%. 38 Tumoren wiesen eine positive Cyclin A Expression auf, bei einer 5-JÜR von 60% ($p=0,305$).

Im Falle der Fernmetastasierung lagen in 14 Fällen Angaben über Rezidivparameter vor. 5 Fälle waren Cyclin A negativ, 9 Cyclin A positiv. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 40 und 37%, die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 23 und 27 Monaten ($p=0,816$).

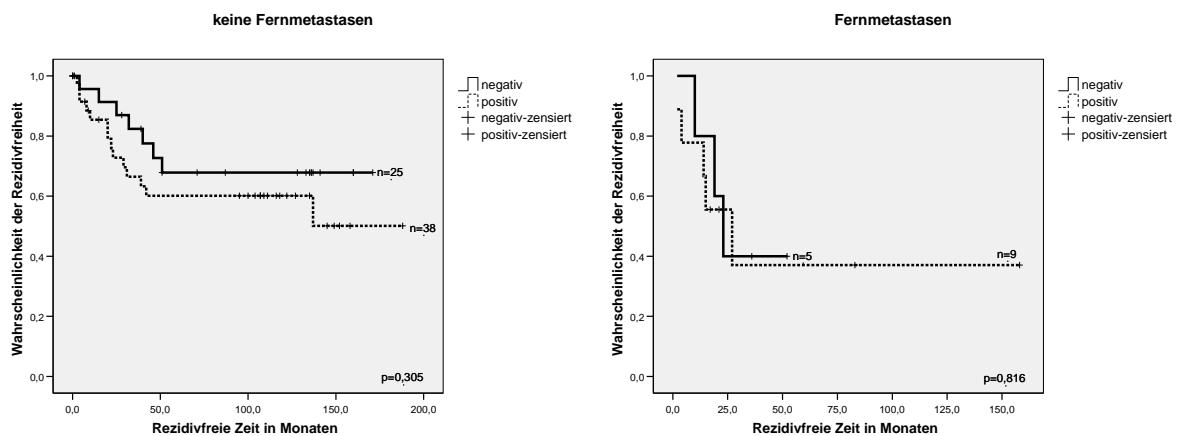


Abb. 43: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Metastasierung

2.2.7. Überlebensstatistik klassifiziert nach Tumorrest

In 59 Fällen wurde bei der Operation eine R₀-Resektion des Tumors erreicht. Davon waren 28 Fälle Cyclin A negativ mit einer 5-JÜR von 91%. 31 Fälle wiesen eine positive Immunhistologie auf. Die 5-JÜR lag hier bei 88% (p=0,982).

In 4 Fällen gelang bei der Karzinomoperation eine R₁-Resektion (<2cm Tumorrest). Hier waren je zwei Fälle Cyclin A negativ und positiv (p=0,317). Eine Überlebensanalyse mit Diagrammerstellung wurde wegen der geringen Fallzahlen nicht durchgeführt.

Die 9 Fällen der R₂-Resektion (>2cm Tumorrest) wiesen alle eine positive Immunhistologie auf, weswegen keine Vergleichsanalyse durchgeführt werden konnte. Die 5-JÜR lag bei 44%.

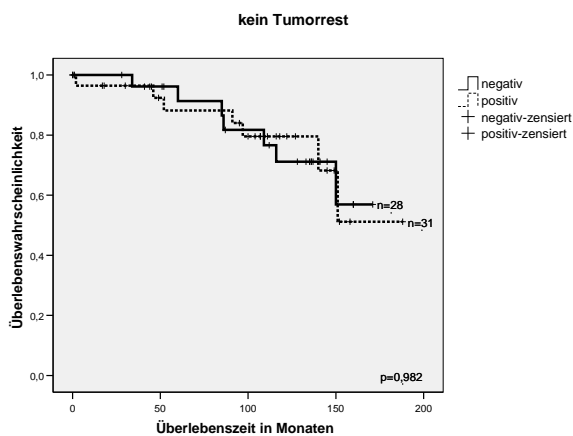


Abb. 44: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest

In 51 Fällen mit kompletter Tumorentfernung ließen sich Aussagen über Rezidivstatus und –zeitpunkt machen. 24 Fälle waren Cyclin A negativ, 27 positiv. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 64% im Falle der negativen Immunhistologie und bei 79% bei Überexpression (p=0,526).

Die 2 Fälle mit R₁-Resektion und negativer Immunhistologie hatten eine rezidivfreie mediane Gesamtüberlebenszeit von 4 Monaten. Bei den 2 Fällen mit positiver Immunhistologie lag sie bei 2,5 Monaten (p=0,808).

In den 8 Fällen mit R₂-Resektion und bekannten Rezidivparametern lag die rezidivfreie 5-JÜR bei 38%.

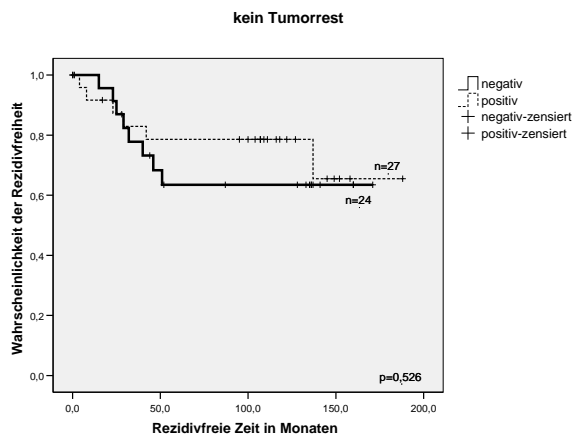


Abb. 45: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Tumorrest

3. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON CYCLIN B1 BEIM OVARIALKARZINOM

Insgesamt wurde 95 Fälle von Ovarialkarzinomen auf die immunhistochemische Überexpression von Cyclin B₁ untersucht.

Die Stärke der Überexpression wurde geschätzt als Prozentteil des positiv gefärbten Plasmas. Jegliche Färbung von Zytoplasma > 10% wurde als positiv gewertet (Milde-Langosch et al. 2001).

81 Fälle waren mit 0%-10% Plasmafärbung negativ, 14 Fälle zeigten mit einer Plasmafärbung von >10% eine Cyclin B₁ Überexpression.

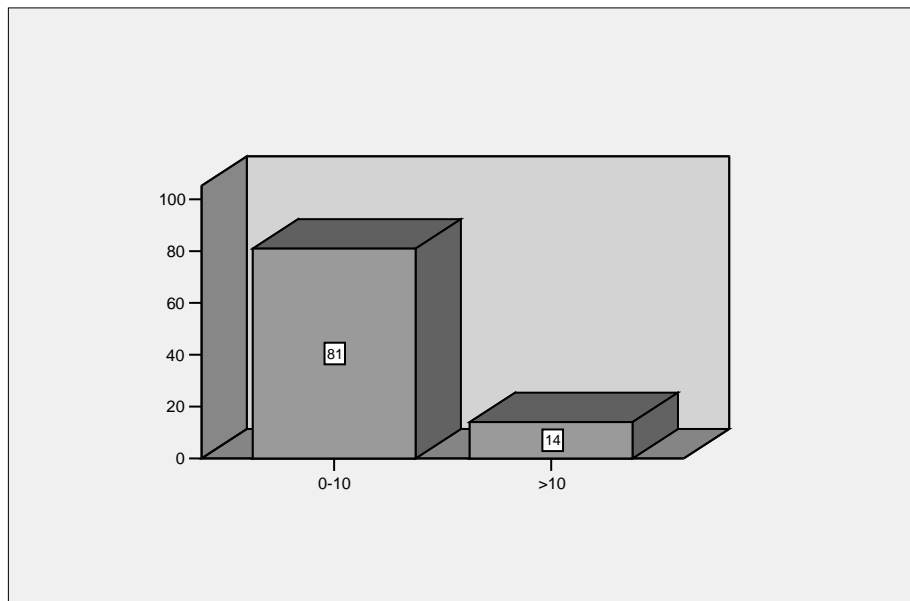


Abb. 46: Anzahl der Fälle mit prozentualem Anteil des positiv gefärbten Plasmas

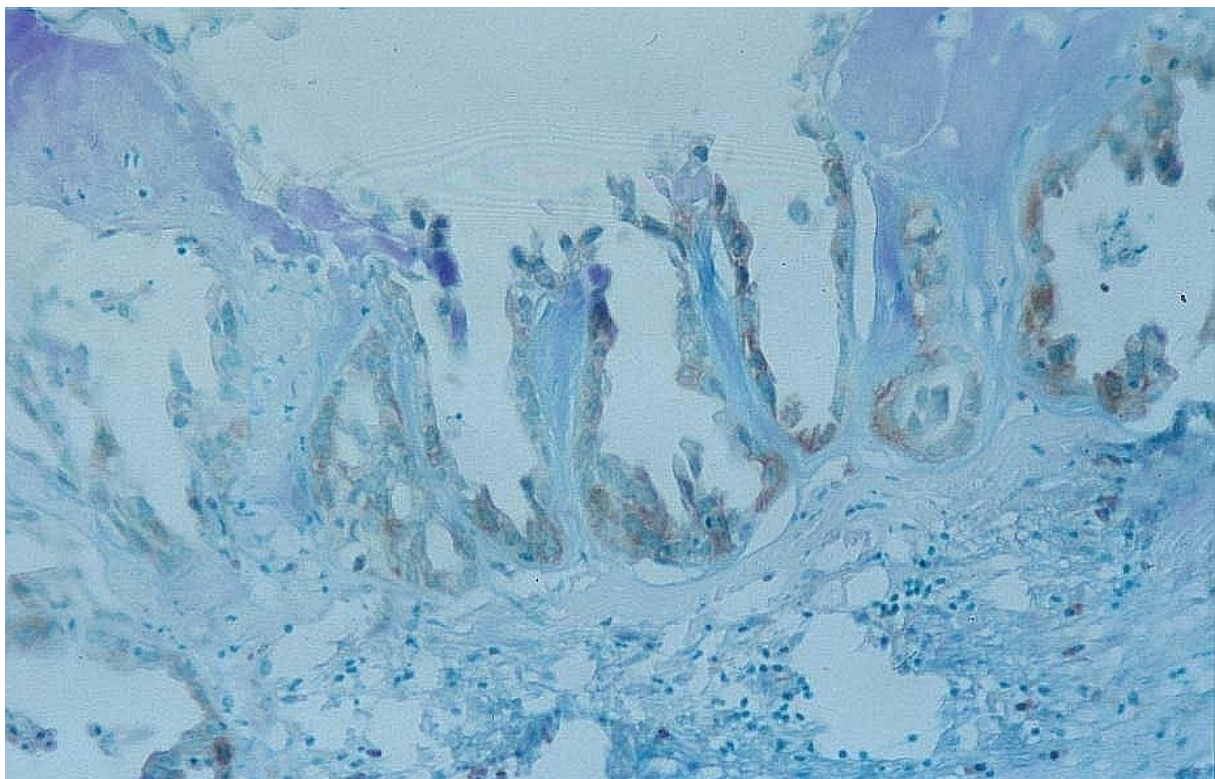


Abb. 47: Immunhistochemische Färbung von Cyclin B₁ an einem klarzelligem Ovarialkarzinom (50% positives Plasma)

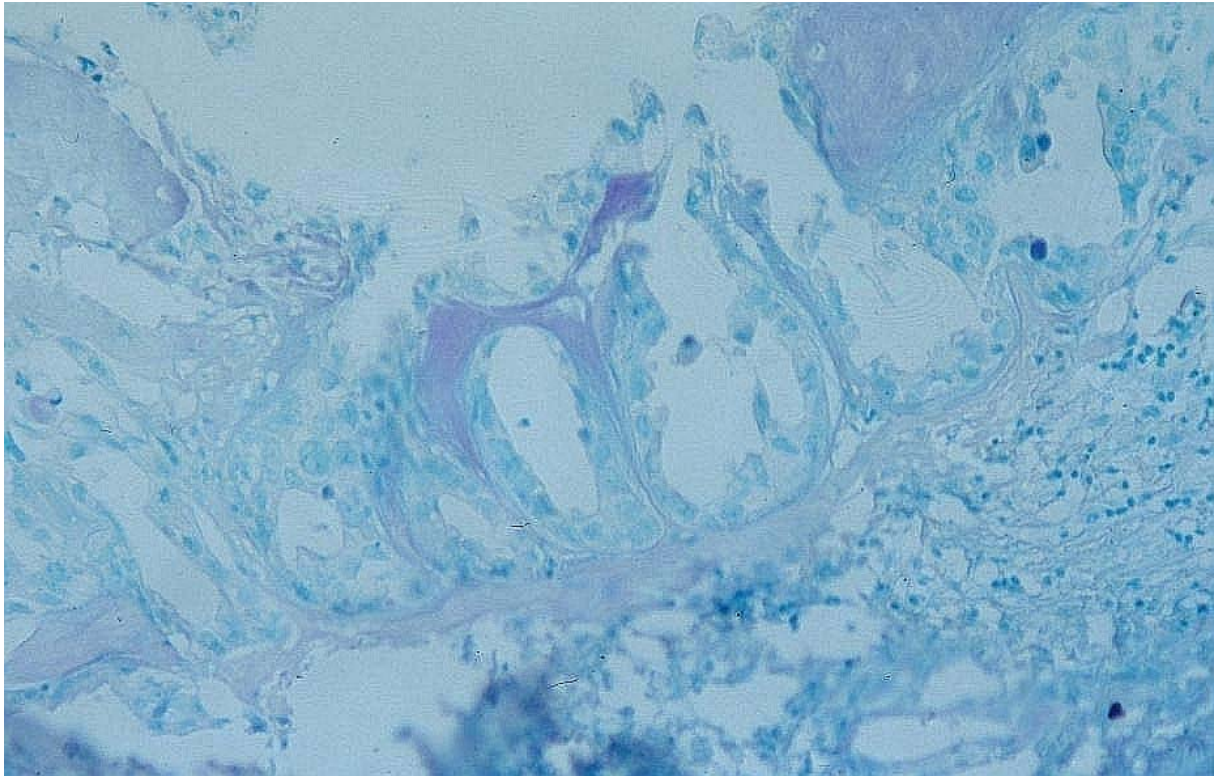


Abb. 48: Immunhistochemische Färbung von Cyclin B₁ an einem klarzelligem Ovarialkarzinom (Negativkontrolle gefärbt mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität)

3.1. Korrelation von Cyclin B₁ Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren

In der folgenden Tabelle sind die klinisch-histologischen Daten der 95 Ovarialkarzinome beschrieben, deren Tumorgewebe auf eine Cyclin B₁ Proteinüberexpression hin untersucht wurde.

	Anzahl		CyclinB ₁ positiv		CyclinB ₁ negativ		p-Wert
	n	%	n	%	n	%	
	95	100	14	14,7	81	85,3	
Histologie							
Serös	50	52,6	06	42,9	44	54,3	
Endometrioid	22	23,2	06	42,9	16	19,8	
Undifferenziert	09	09,5	00	00,0	09	11,1	
Muzinös	06	06,3	00	00,0	06	07,4	
Klarzellig	05	05,3	02	14,3	03	03,7	

Gemischt epithelial	03	03,2	00	00,0	03	03,7	
							0,147
Grading	92	100	14	15,2	78	84,8	
G1	27	29,3	02	14,3	25	32,1	
G2	24	26,1	05	35,7	19	24,4	
G3	41	44,6	07	50,0	34	43,6	
							0,372
pT	95	100	14	14,7	81	85,3	
T1	38	40,0	08	57,1	30	37,0	
T2	10	10,5	00	00,0	10	12,3	
T3	47	49,5	06	42,9	41	50,6	
							0,291
FIGO	93	100	13	14,0	80	86	
FIGO I	34	36,6	06	46,2	28	35,0	
FIGO II	06	06,5	00	00,0	06	07,5	
FIGO III	38	40,9	04	30,8	34	42,5	
FIGO IV	15	16,1	03	23,1	12	15,0	
							0,609
Lymphonodektomie	59	100	12	20,3	47	79,7	
LK positiv	28	47,5	04	33,3	24	51,1	
LK negativ	31	52,5	08	66,7	23	48,9	
							0,342
Fernmetastasen	87	100	12	13,8	75	86,2	
Keine Metastasen	72	82,8	09	75,0	63	84,0	
Metastasen	15	17,2	03	25,0	12	16,0	
							0,427
Tumorrest	72	100	10	13,9	62	86,1	
Kein Tumorrest	59	81,9	08	80,0	51	82,3	
Residualtumor < 2cm	04	05,6	01	10,0	03	04,8	
Residualtumor > 2cm	09	12,5	01	10,0	08	12,9	
							0,789

Tab. 4: Cyclin B₁ und klinisch-histologische Daten

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Cyclin B₁ Überexpression und Histologie, Differenzierungsgrad, Tumorstadien, Tumorrest, Lymphknoten oder Fernmetastasierung besteht.

3.2. Überlebensstatistik

Die 5-JÜR für Tumoren mit normaler Cyclin B₁ Expression beträgt 72% verglichen mit 91% für Tumoren mit Cyclin B₁ Überexpression (p=0,088). Bezüglich der rezidivfreien Überlebenszeit ergibt sich bei bekanntem Rezidivzeitpunkt ebenfalls eine statistisch nicht signifikante Verschlechterung für Fälle ohne Cyclin B₁ Überexpression. Ihre rezidivfreie 5-JÜR liegt bei 55%, verglichen mit 90% für Fälle mit Cyclin B₁ Überexpression (p=0,094).

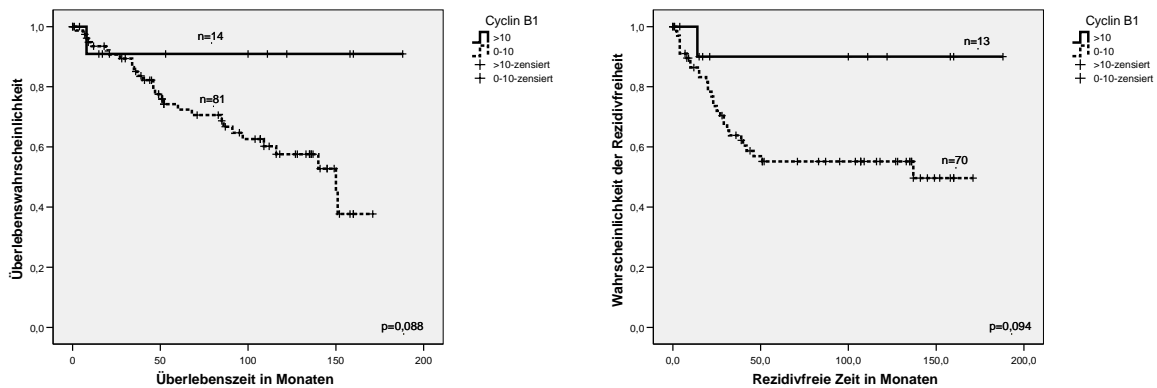


Abb. 49: Gesamtüberlebenszeit und Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Proteinexpression

3.2.1. Überlebensstatistik klassifiziert nach Histologie

Patientinnen mit serösen Tumoren weisen bei positiver Immunhistologie für Cyclin B₁ eine 5-JÜR von 100% auf, während sie bei negativer Immunhistologie bei 62% liegt (p=0,159).

Patientinnen mit endometrioiden Tumoren weisen bei positiver Cyclin B₁ Expression eine 5-JÜR von 80%, während sie bei negativer Expression bei 93% liegt (p=0,800).

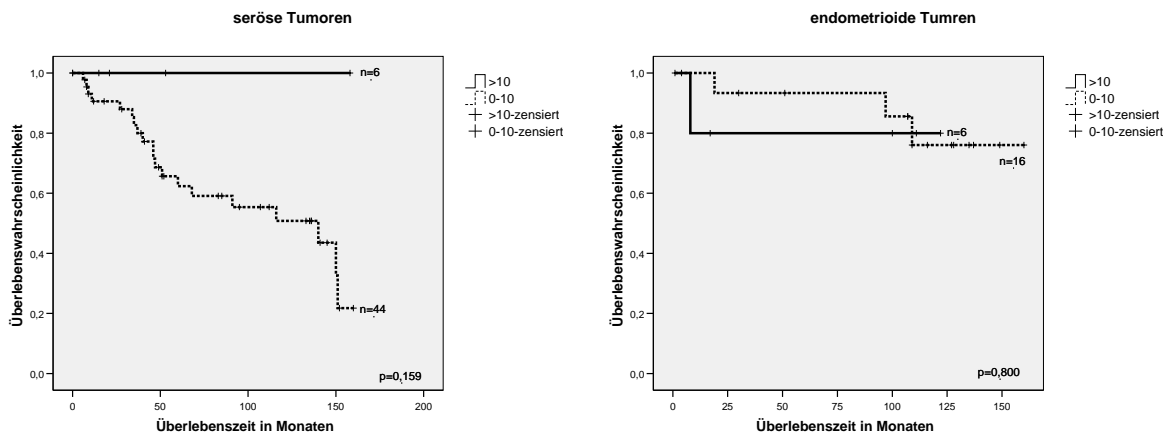


Abb. 50: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom der Histologie

Von den 6 Patientinnen mit serösen Tumoren und positiver Immunhistologie war bei 6 Rezidivstatus und Rezidivzeitpunkt bekannt. 1 erkrankte an einem Rezidiv, die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 75%. Von den 44 Patientinnen mit serösen Tumoren und negativer Immunhistologie lag die Zahl bei 36 mit 19 Rezidivkrankungen und einer 5-JÜR von 43% (p=0,519).

Bei den endometrioiden Tumoren mit Cyclin B₁ Überexpression war bei 5 von 6 Patientinnen Rezidivstatus und -zeitpunkt bekannt. Es kam in keinem Fall zur Rezidivkrankung. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 100%. In den Fällen mit negativer Immunhistologie lag die 5-JÜR bei 85% (p=0,423).

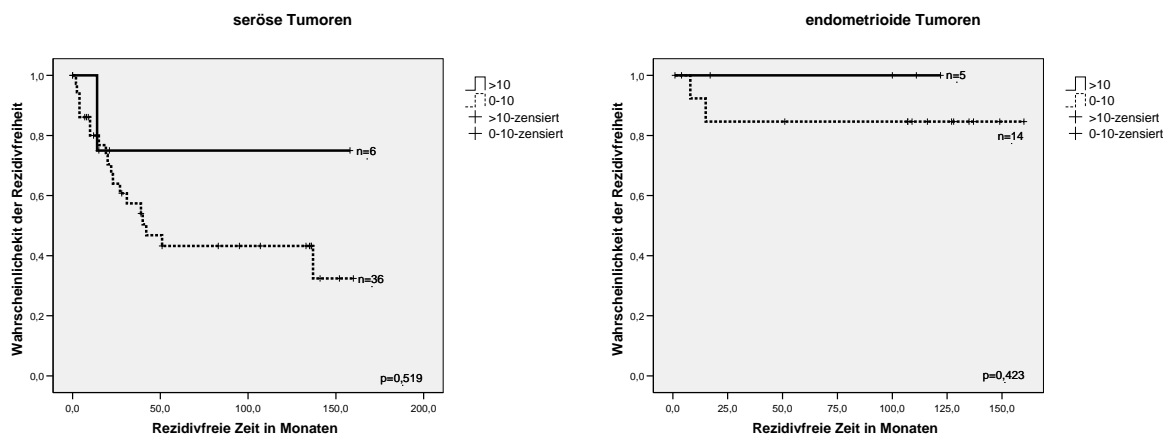


Abb. 51: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Histologie

3.2.2. Überlebensstatistik klassifiziert nach Grading

Betrachtet man die einzelnen Differenzierungsgrade ergibt sich im Hinblick auf die Gesamtüberlebenszeiten die gleiche Tendenz: Patientinnen deren Tumoren Cyclin B₁ überexprimieren haben eine höhere 5-JÜR.

Sie beträgt bei GI Tumoren und negativer Cyclin B₁-Expression 81% im Vergleich zu 100% bei Cyclin B₁ Überexpression (p=0,432).

Bei GII-Tumoren stehen 84% im Verhältnis zu 100% (p=0,080) und bei GIII-Tumoren 59% zu 83% (p=0,462).

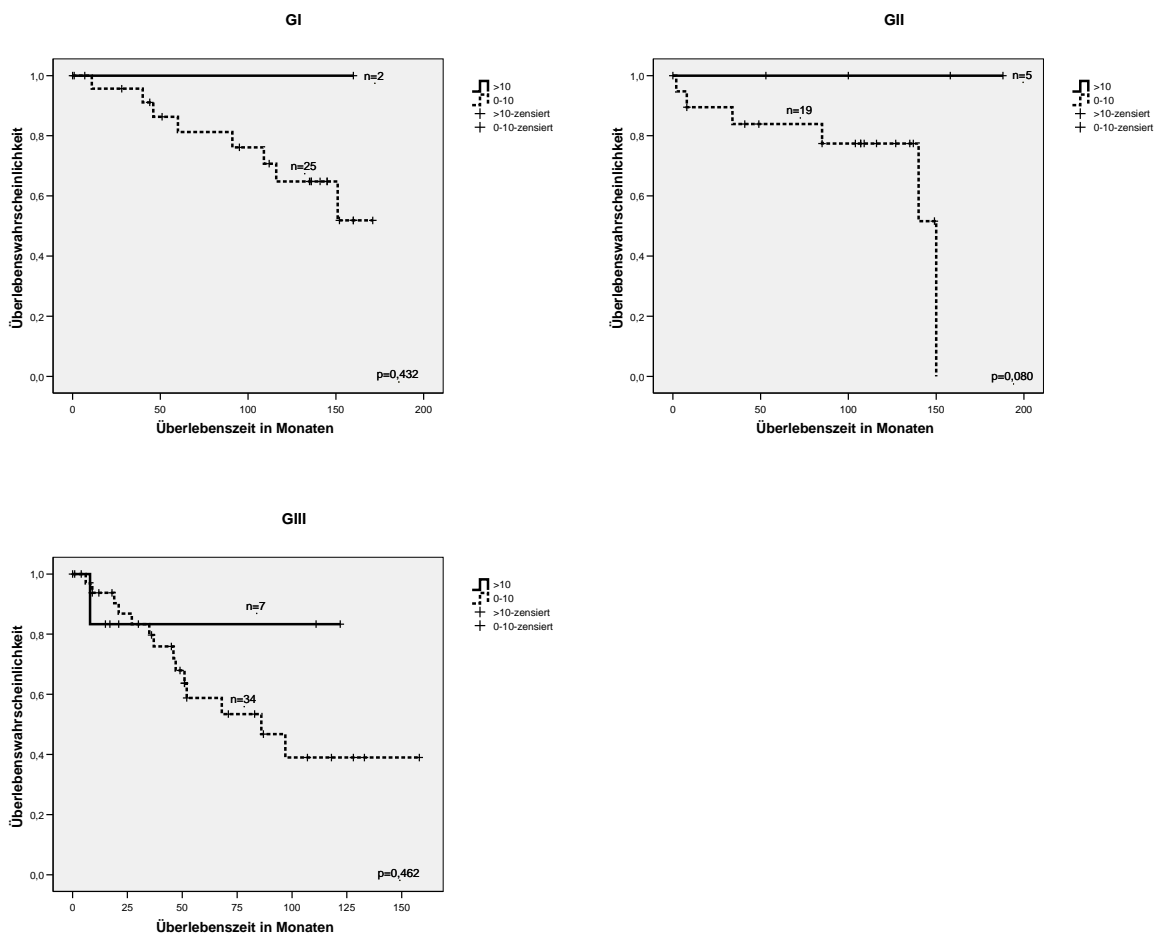


Abb. 52: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Grading

Vergleicht man die rezidivfreien 5-JÜR, zeigen sich die gleichen Tendenzen.

Gut differenzierte Tumoren haben eine 5-JÜR von 68%, wenn sie Cyclin B₁ negativ sind im Vergleich zu 100% bei Cyclin B₁ Überexpression (p=0,538).

Bei mäßig differenzierten Tumoren führt auch im Vergleich des rezidivfreien Überlebens die Cyclin B₁ Überexpression zu einer höheren 5-JÜR von 75% im Vergleich zu 67% bei normaler Cyclin B₁ Expression (p=0,553).

Schlecht differenzierte Tumoren führen bei Cyclin B₁ Überexpression zu einer besseren rezidivfreien 5-JÜR von 100%, wohingegen die Wahrscheinlichkeit der Patientinnen ohne Cyclin B₁ Überexpression die ersten 5 Jahre rezidivfrei überleben bei 43% liegt (p=0,105).

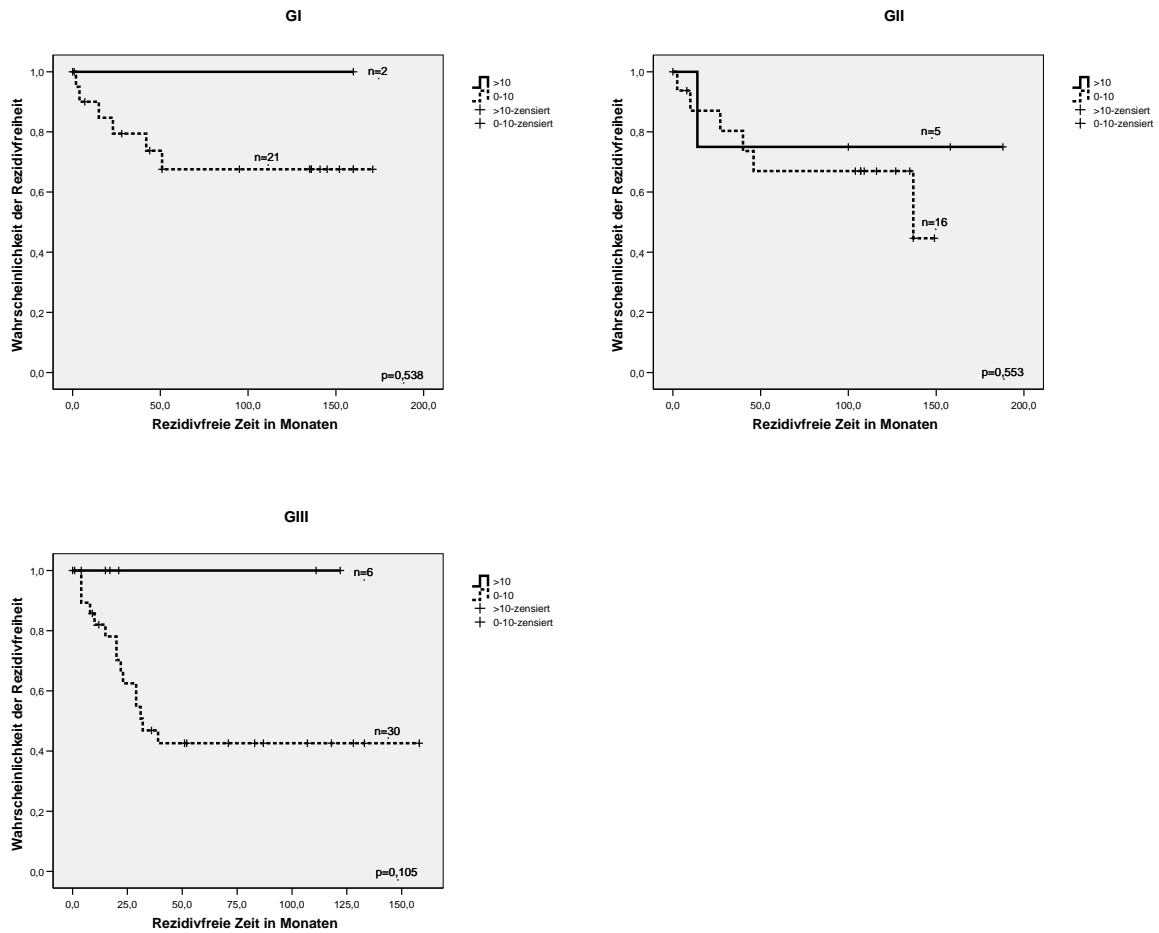


Abb. 53: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Grading

3.2.3. Überlebensstatistik klassifiziert nach pT

Im gesamten Kollektiv gab es keine Cyclin B₁ positiven Fälle der Tumorklassifikation pT2. Somit konnte hier keine Vergleichsanalyse erstellt werden.

Im Stadium pT1 liegt die 5-JÜR der Cyclin B₁ negativen Fälle bei 89% und die der Cyclin B₁ positiven Fälle bei 100%, da von den 8 Patientinnen im gesamten Beobachtungszeitraum keine verstorben ist (p=0,168).

Im Stadium pT2 gab es keine Fälle, die eine Cyclin B₁ Überexpression aufweisen. Bei den Cyclin B₁ negativen Fällen lag die 5-JÜR bei 71%.

Im Stadium pT3 lag die 5-JÜR der Cyclin B₁ negativen Fälle bei 59%, die der Cyclin B₁ positiven bei 80% (p=0,918).

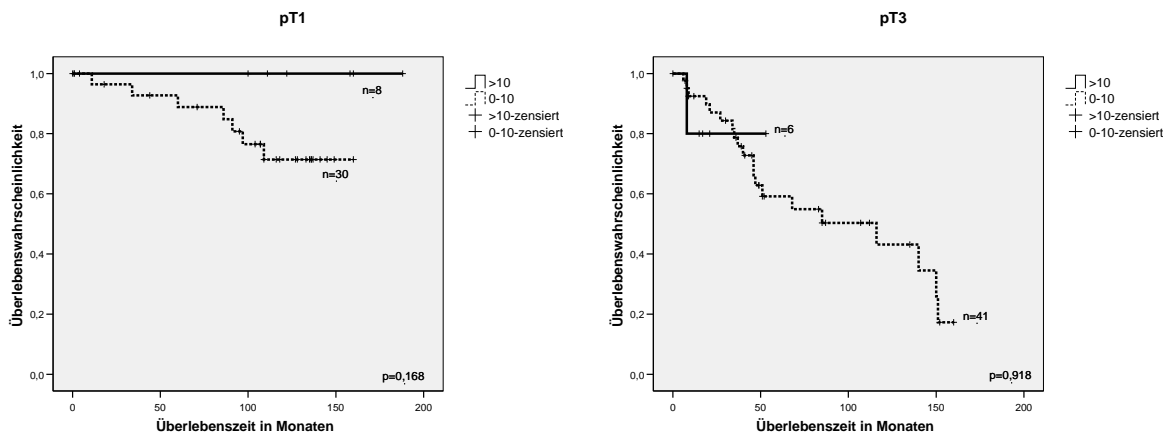


Abb. 54: Gesamtüberslebenszeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium

Im Stadium pT1 liegt die rezidivfreie 5-JÜR der Cyclin B₁ negativen Fälle bei 87% und die der Cyclin B₁-positiven Fälle bei 100%, da von den 8 Patientinnen im gesamten Beobachtungszeitraum keine an einem Rezidiv erkrankte (p=0,353).

Im Stadium pT2 gab es keine Fälle, die eine Cyclin B₁ Überexpression aufweisen. Bei den Cyclin B₁ negativen Fällen lag die 5-JÜR bei 73%.

Für das Stadium pT3 konnte bei einer Cyclin B₁ Expression zwischen 0 und 10% eine rezidivfreie 5-JÜR von 26% berechnet werden. Bei Cyclin B₁ Überexpression lag sie bei 75% (p=0,797).

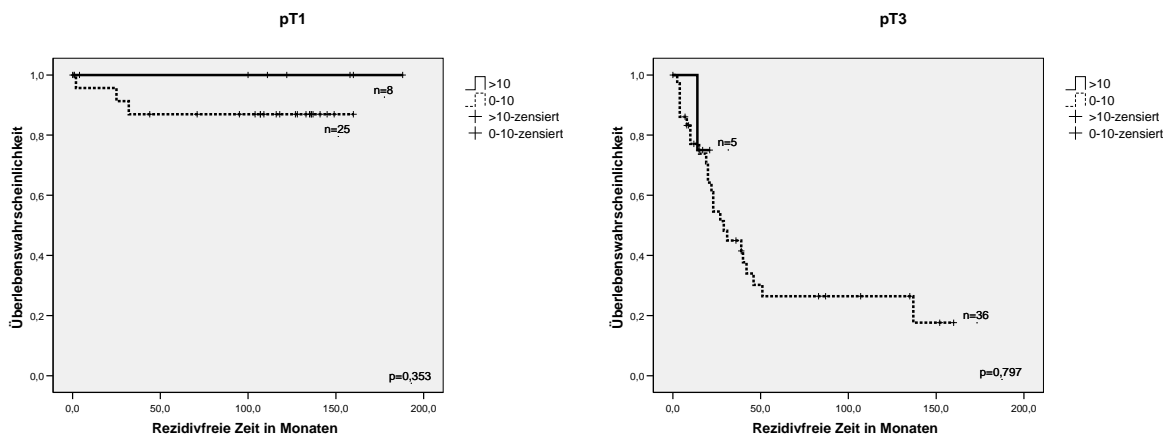


Abb. 55: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium

3.2.4. Überlebensstatistik klassifiziert nach FIGO

In Abhängigkeit von den unterschiedlichen FIGO-Stadien ergibt sich Folgendes für die jeweiligen Gesamtüberlebenszeiten:

Im Stadium FIGO I lag die 5-JÜR bei negativer Cyclin B₁ Expression bei 92% und bei Cyclin B₁ Überexpression bei 100% (p=0,235).

Im Stadium FIGO II gab es keinen Cyclin B₁ positiven Fall, somit konnte hier keine Vergleichsanalyse erstellt werden. Die 5-JÜR der 6 Fälle mit einer Expression zwischen 0 und 10% lag bei 40%.

Im Stadium FIGO III weisen Patientinnen mit negativer Cyclin B₁ Expression eine identische 5-JÜR wie Frauen mit einer Cyclin B₁ Überexpression auf. Sie liegt bei 67% (p=0,644).

Im FIGO-Stadium IV liegt die 5-JÜR der negativen Fälle bei 58%, wohingegen die 5-JÜR bei Cyclin B₁ Überexpression 100% beträgt (p=0,328).

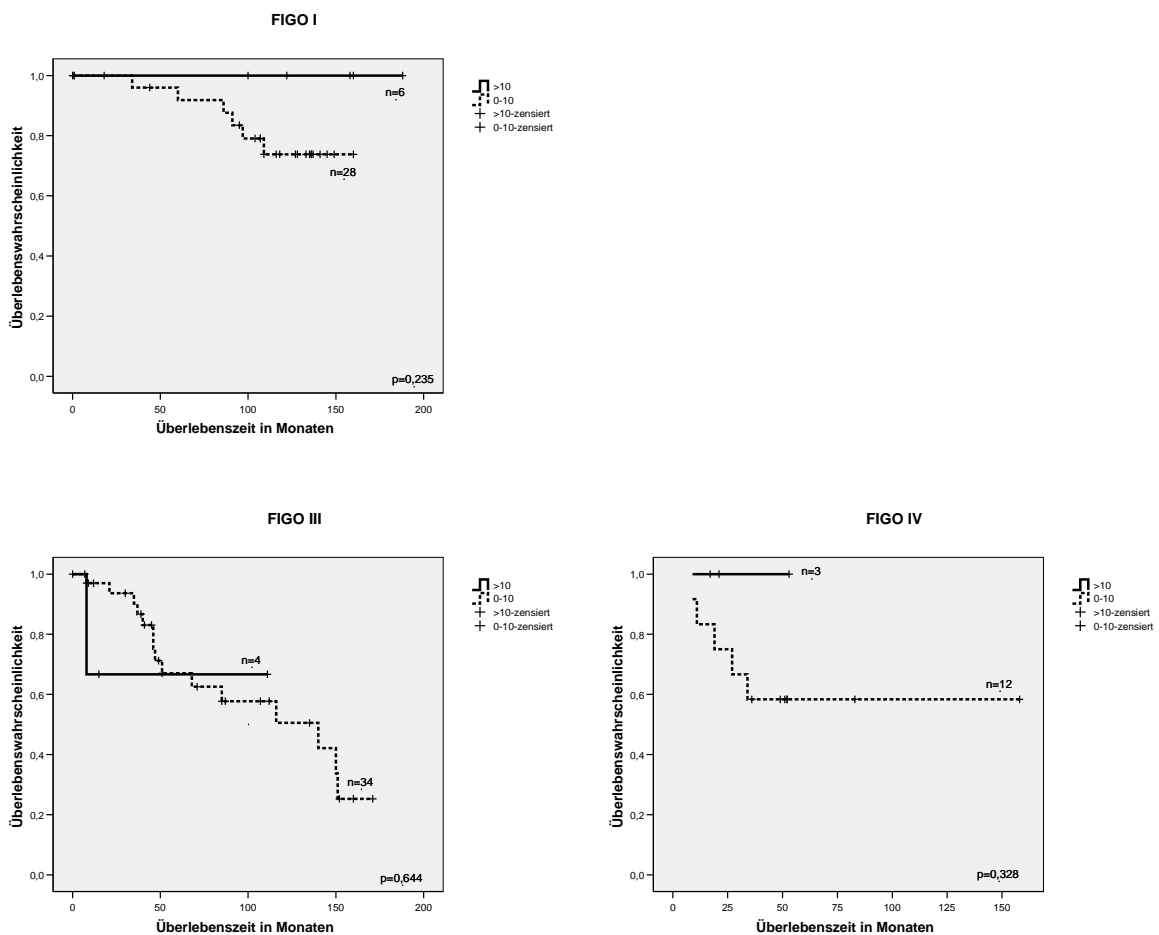


Abb. 56: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

Betrachtet man das rezidivfreie Überleben, ergeben sich im Stadium FIGO I für die Cyclin B₁ negativen Fälle ein 5-JÜR von 91% und für die Cyclin B₁ positiven Fälle von 100% (p=0,485).

Im Stadium FIGO II gab es keinen Cyclin B₁ positiven Fall. Die rezidivfreie 5-JÜR der Cyclin B₁ negativen Fälle lag bei 38%. Hier konnte keine Vergleichsanalyse erstellt werden.

Im Stadium FIGO III liegt die Wahrscheinlichkeit den Beobachtungszeitraum über 5 Jahre rezidivfrei zu überleben bei negativer Cyclin B₁ Expression bei 38% wohingegen Fälle mit Cyclin B₁ Überexpression hier eine 5-JÜR von 100% haben (p=0,290).

Im FIGO-Stadium IV liegt die 5-JÜR der negativen Fälle bei 36%, wohingegen die 5-JÜR bei Cyclin B₁ Überexpression 67% beträgt (p=0,770).

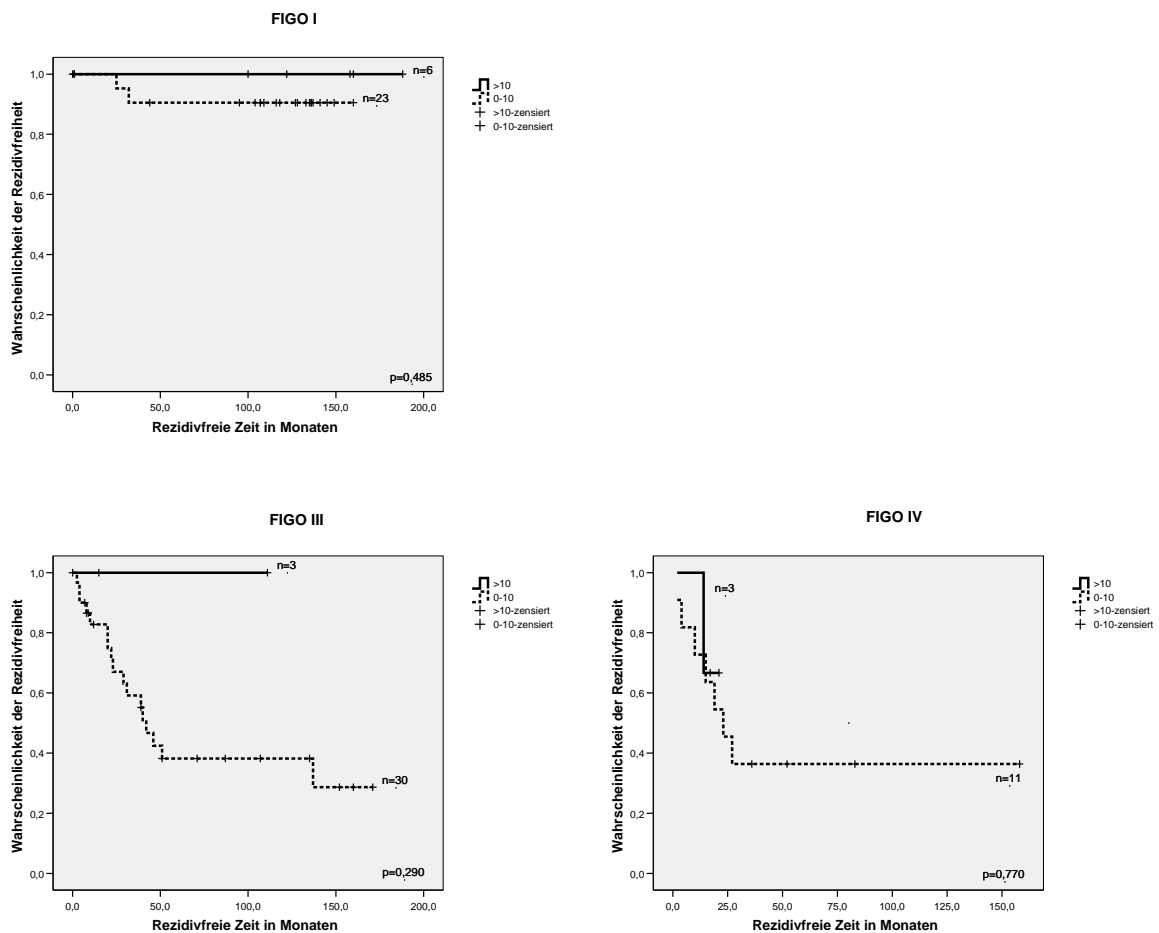


Abb. 57: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

3.2.5. Überlebensstatistik klassifiziert nach Lymphknotenstatus

Betrachtet man die Überlebensraten im Zusammenhang mit der Lymphknotenmetastasierung, kommt man zu folgendem Ergebnis:

Fand keine Lymphknotenmetastasierung statt beträgt die 5-JÜR 85% bei Cyclin B₁ negativen und 100% bei Cyclin B₁ positiven Fällen (p=0,115).

Fälle mit Lymphknotenmetastasen haben eine 5-JÜR von 60%, wenn Cyclin B₁ nicht überexprimiert ist und von 75% bei einer Cyclin B₁ Überexpression (p=0,815).

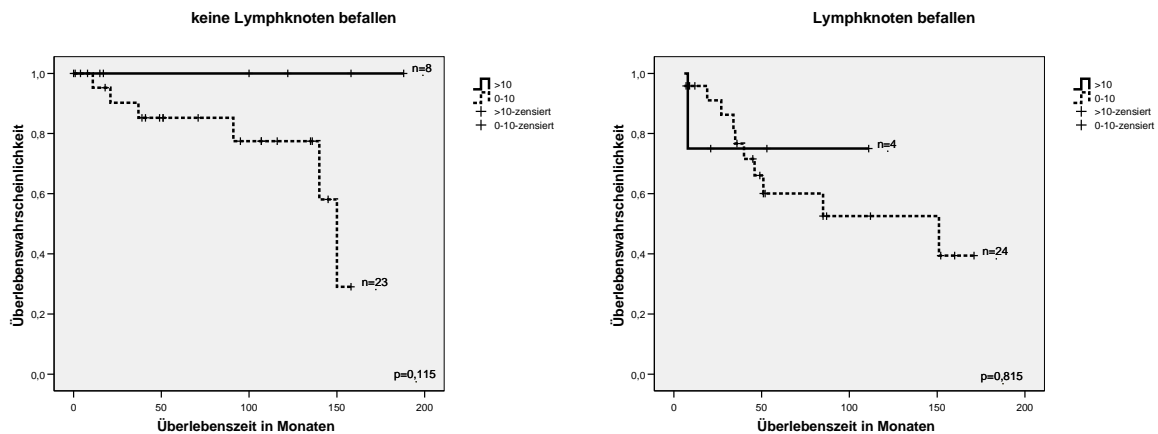


Abb. 58: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

Bezüglich der rezidivfreien Überlebenszeit ergibt sich für die Fälle ohne LK-Metastasen ebenfalls eine höhere 5-JÜR bei Cyclin B₁ Überexpression von 100% im Vergleich zu 67% bei negativem Cyclin B₁ (p=0,086).

Im Falle der stattgehabten Lymphknotenmetastasierung beträgt die rezidivfreie 5-JÜR 25%, wenn Cyclin B₁ nicht überexprimiert ist und 67% bei einer Cyclin B₁ Überexpression (p=0,529).

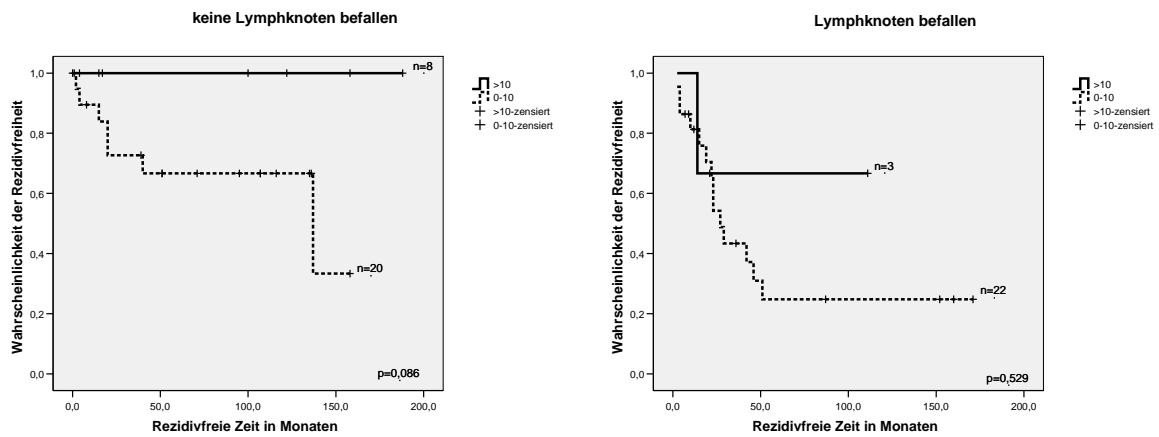


Abb. 59: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

3.2.6. Überlebensstatistik klassifiziert nach Fernmetastasen

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ließen sich bei 72 Patientinnen keine Fernmetastasen nachweisen. Deren Tumoren wiesen in 63 Fällen eine negative Immunhistologie für Cyclin B₁ auf. In 9 Fällen überexprimierten die Tumoren Cyclin B₁. Hier war die 5-JÜR mit 100% besser als bei den Cyclin B₁ negativen Tumoren, wo die 5-JÜR bei 76% lag (p=0,039). 12 Der Fälle, bei denen bereits Fernmetastasen vorlagen waren Cyclin B₁ negativ mit einer 5-JÜR von 58%. Die drei Cyclin B₁ positiven Fälle überlebten auch hier zu 100% (p=0,328).

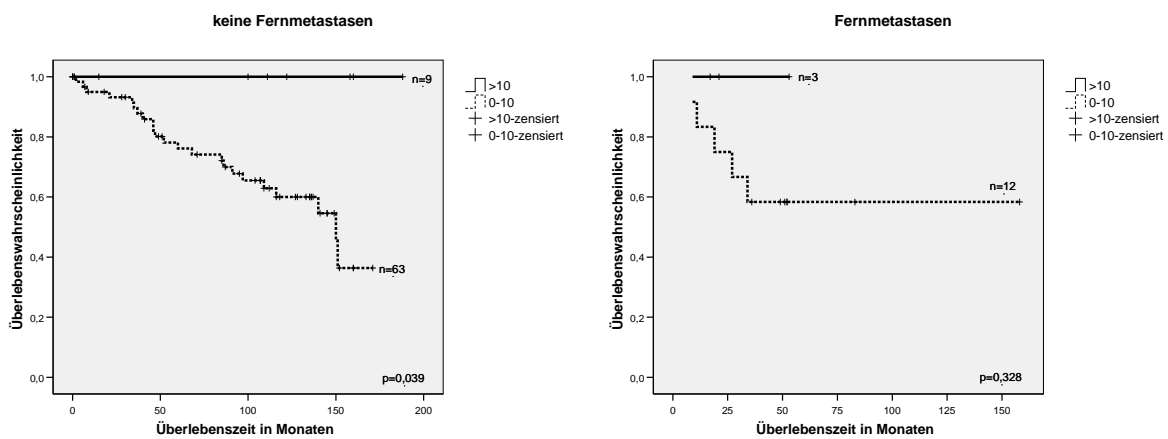


Abb. 60: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von der Metastasierung

In 63 Fällen ohne Fernmetastasen waren Rezidivstatus und -zeitpunkt bekannt. 54 Tumoren wiesen eine negative Cyclin B₁ Expression auf. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 59%.

9 Tumoren wiesen eine positive Cyclin B₁ Expression auf, bei einer 5-JÜR von 100%, da hier keine Patientin an einem Rezidiv erkrankte (p=0,056).

Im Falle der Fernmetastasierung lagen in 14 Fällen Angaben über Rezidivparameter vor. 11 Fälle waren Cyclin B₁ negativ, 3 Cyclin B₁ positiv. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 36 und 67% (p=0,770).

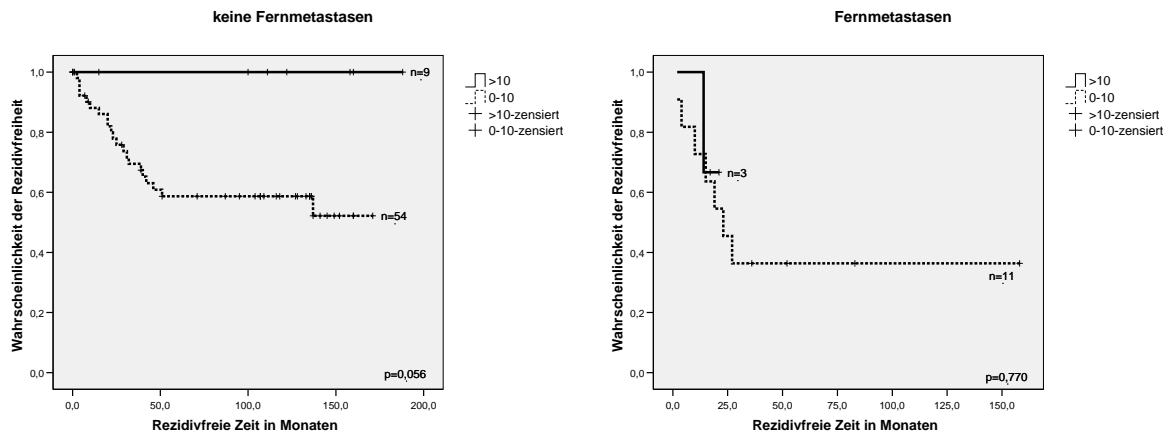


Abb. 61: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Metastasierung

3.2.7. Überlebensstatistik klassifiziert nach Tumorrest

In 59 Fällen wurde bei der Operation eine R₀-Resektion des Tumors erreicht. Davon waren 51 Fälle Cyclin B₁ negativ mit einer 5-JÜR von 88%. 8 Fälle wiesen eine positive Immunhistologie auf. Die 5-JÜR lag hier bei 100% (p=0,072).

In 4 Fällen gelang bei der Karzinomoperation eine R₁-Resektion (<2cm Tumorrest). Drei dieser Fälle waren Cyclin B₁ negativ, einer Cyclin B₁ positiv. Eine Überlebensanalyse mit Diagrammerstellung wurde wegen der geringen Fallzahlen nicht durchgeführt.

In 9 Fällen gelang nur eine subtotale R₂-Resektion (>2cm Tumorrest). 8 Tumoren waren Cyclin B₁ negativ mit einer 5-JÜR von 50%. Da die Patientin, deren Tumor eine positive Immunhistologie zeigte, nach 8 Monaten verstarb, liegt hier die 5-JÜR bei 0% (p=0,094).

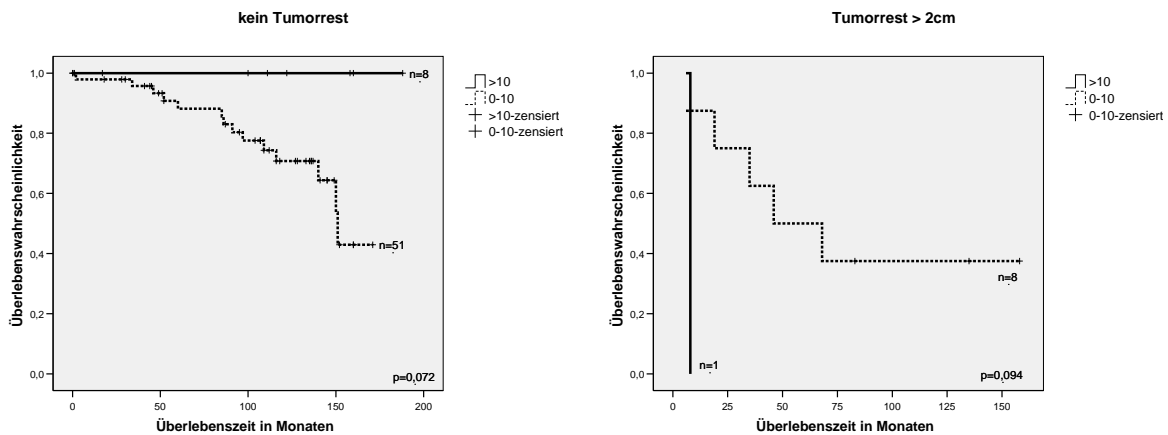


Abb. 62: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest

In 51 Fällen mit kompletter Tumorentfernung ließen sich Aussagen über Rezidivstatus und –zeitpunkt machen. 43 Fälle waren Cyclin B₁ negativ, 8 positiv. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 67% im Falle der negativen Immunhistologie und bei 100% bei Überexpression (p=0,094).

Die 4 Fälle, bei denen bei der Karzinomoperation eine R₁-Resektion (<2cm Tumorrest) gelang zeigten dreimal eine normale Cyclin B₁ Expression, ein Fall war Cyclin B₁ positiv. Eine Überlebensanalyse mit Diagrammerstellung wurde wegen der geringen Fallzahlen nicht durchgeführt.

Bei den 8 Tumoren mit negativer Immunhistologie und R₂-Resektion konnten Aussagen über Rezidivstatus und –zeitpunkt gemacht werden. Die 5-JÜR lag bei 38%. Da es hier keine Cyclin B₁ positiven Fälle gab, konnte keine Vergleichsanalyse durchgeführt werden.

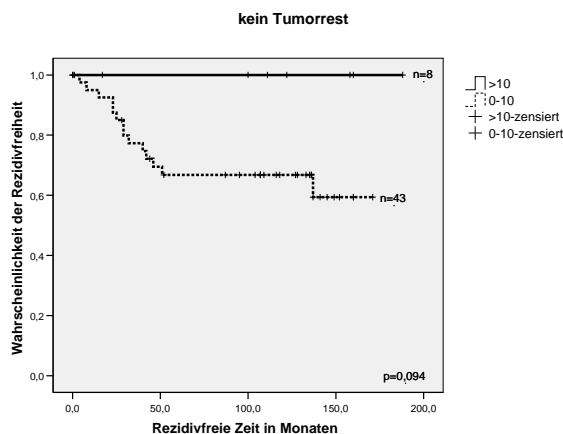


Abb. 63: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Tumorrest

4. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON p16 BEIM OVARIALKARZINOM

Insgesamt wurde 95 Fälle von Ovarialkarzinomen auf die immunhistochemische Überexpression von p16 untersucht.

Sui et al. untersuchte in einer Studie 103 Paraffinschnitte von Ovarialtumoren auf die Expression von p16. Er definierte eine p16 Expression als positiv, wenn sich mehr als 10% der Tumorzellkerne anfärbten (Sui et al. 2000).

In dieser Studie zeigten 51 (54%) Fälle eine Kernzellfärbung von 0-10% und wurden als p16-negativ gewertet, 44 (46%) Fälle zeigten eine Kernzellfärbung von mehr als 10% und wurden als p16-positiv gewertet.

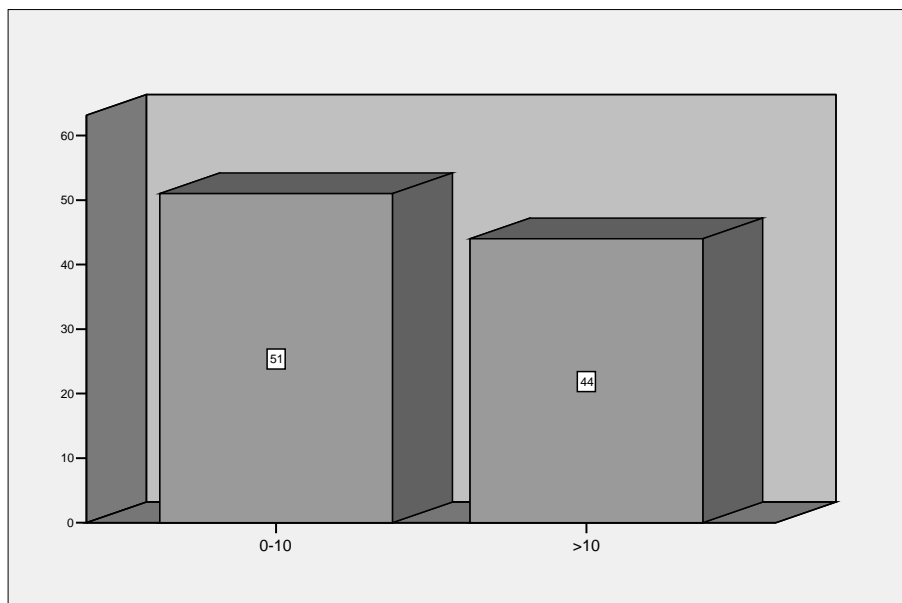


Abb. 64: Anzahl der Fälle mit prozentualem Anteil der positiv gefärbten Kerne

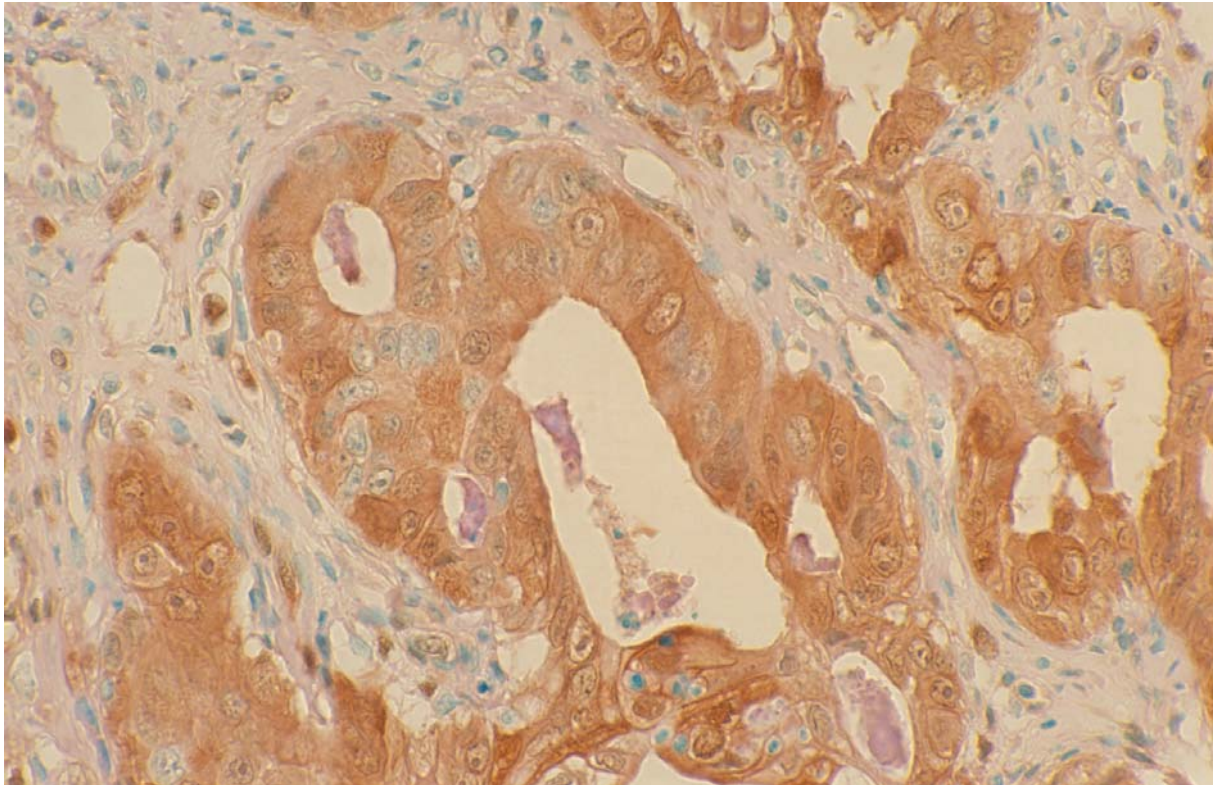


Abb. 65: Immunhistochemische Färbung von p16 an einem endometrioidem Ovarialkarzinom (Tumorzellen: 35% positive Kerne, starke Anfärbung des Plasmas; Bindegewebe: 5% positive Kerne, keine Anfärbung des Plasmas)

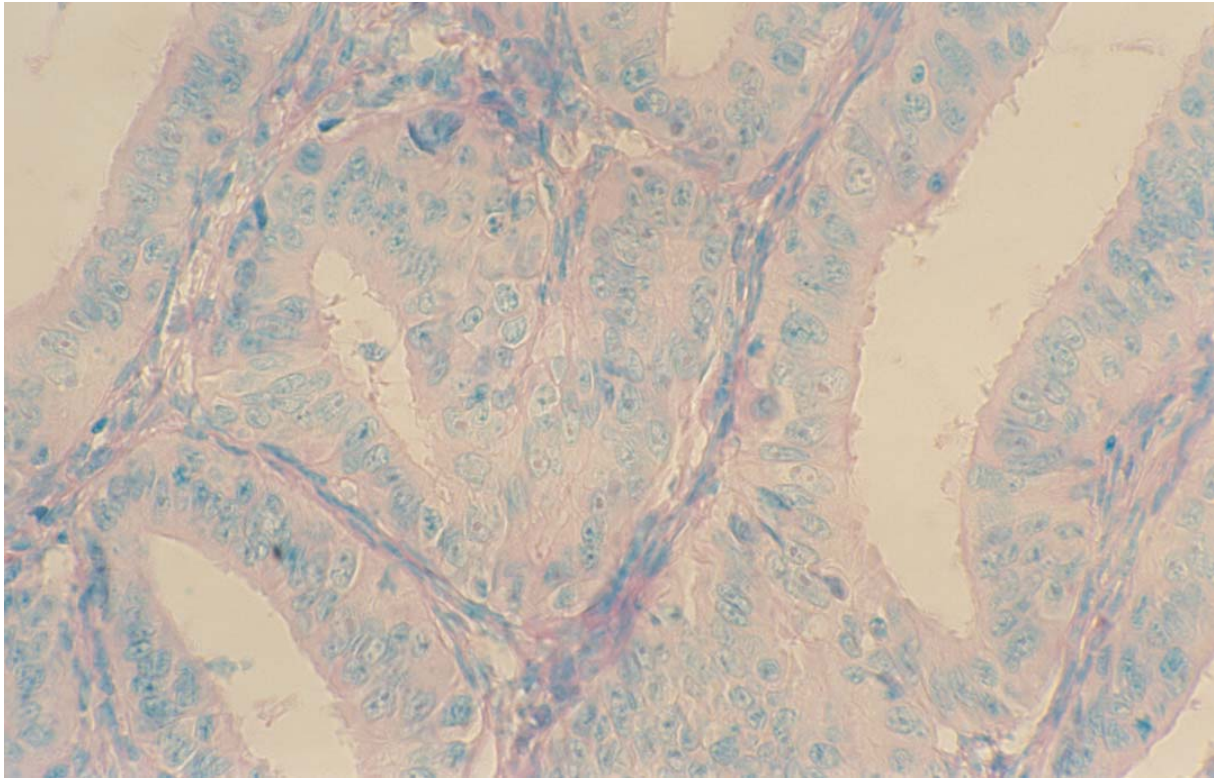


Abb. 66: Immunhistochemische Färbung von p16 an einem endometrioidem Ovarialkarzinom (Negativkontrolle gefärbt mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität)

4.1. Korrelation von p16 Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren

In der folgenden Tabelle sind die klinisch-histologischen Daten der 95 Ovarialkarzinome beschrieben, deren Tumorgewebe auf eine p16 Proteinüberexpression hin untersucht wurde.

	Anzahl		p16 Kerne positiv		p16 Kerne negativ		p-Wert
	n	%	n	%	n	%	
Histologie	95	100	44	46,3	51	53,7	
Serös	50	52,6	26	59,1	24	47,1	
Endometrioid	22	23,2	12	27,3	10	19,6	
Undifferenziert	09	09,5	03	06,8	06	11,8	
Muzinös	06	06,3	01	02,3	05	09,8	
Klarzellig	05	05,3	01	02,3	04	07,8	

Gemischt epithelial	03	03,2	01	02,3	02	03,9	
							0,383
Grading	92	100	43	46,7	49	53,3	
G1	27	29,3	10	23,3	17	34,7	
G2	24	26,1	13	30,2	11	22,4	
G3	41	44,6	20	46,5	21	42,9	
							0,474
pT	95	100	44	46,3	51	53,7	
T1	38	40,0	19	43,2	19	37,3	
T2	10	10,5	05	11,4	05	09,8	
T3	47	49,5	20	45,5	27	52,9	
							0,767
FIGO	93	100	44	47,3	49	52,7	
FIGO I	34	36,6	18	40,9	16	32,7	
FIGO II	06	06,5	04	09,1	02	04,1	
FIGO III	38	40,9	15	34,1	23	46,9	
FIGO IV	15	16,1	07	15,9	08	16,3	
							0,537
Lymphonodektomie	59	100	27	45,8	32	54,2	
LK positiv	28	47,5	09	33,3	19	59,4	
LK negativ	31	52,5	18	66,7	13	40,6	
							0,067
Fernmetastasen	87	100	43	49,4	44	50,6	
Keine Metastasen	72	82,8	36	83,7	36	81,8	
Metastasen	15	17,2	07	16,3	08	18,2	
							1,000
Tumorrest	72	100	33	45,8	39	54,2	
Kein Tumorrest	59	81,9	29	87,9	30	76,9	
Residualtumor < 2cm	04	05,6	00	00,0	04	10,3	
Residualtumor > 2cm	09	12,5	04	12,1	05	12,8	
							0,201

Tab. 5: p16 und klinisch-histologische Daten

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer negativen p16 Expression und einem der aufgeführten klinisch pathologischen Parameter besteht nicht. Der Zusammenhang zwischen einer negativen p16-Immunhistologie und vorhandenen Lymphknotenmetastasen kann als grenzwertig signifikant angesehen werden.

4.2. Überlebensstatistik

Von den 51 Patientinnen, deren Tumoren keine p16 Expression zeigten, verstarben 19. Bei den 44 mit positiver p16 Expression waren es 11. Dies führt zu einer 5-JÜR von 66% bei negativer p16 Expression und von 83% bei positiver Immunhistologie ($p=0,140$).

Bei 44 der Patientinnen mit negativer Immunhistologie können Aussagen über eine Rezidivkrankung gemacht werden. Es erkrankten in dieser Gruppe 18 Patientinnen zu einem bekannten Zeitpunkt an einem Rezidiv. Die entspricht einer rezidivfreien 5-JÜR von 52%. In der Gruppe der Tumoren mit positiver p16 Expression erkrankten von 39 Frauen 12 an einem Rezidiv und hatten eine Wahrscheinlichkeit von 67% die ersten 5 Jahre rezidivfrei zu überleben ($p=0,195$).

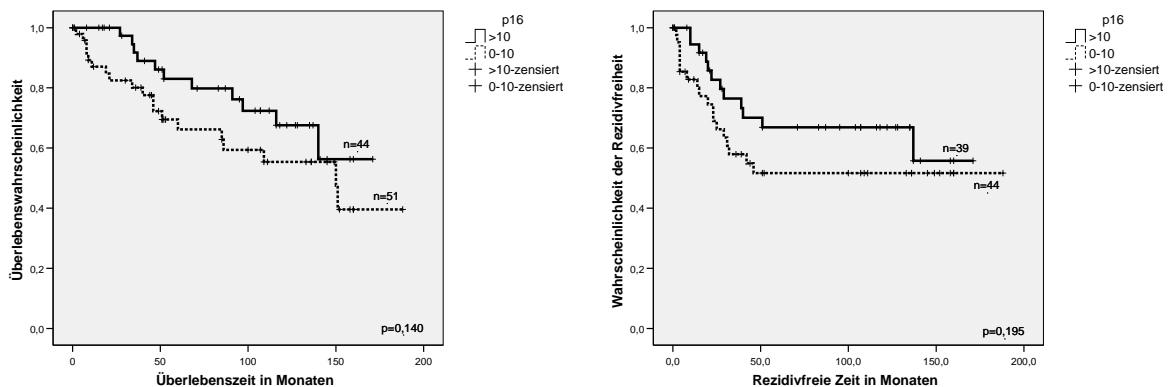


Abb. 67: Gesamtüberlebenszeit und Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Proteinexpression

4.2.1. Überlebensstatistik klassifiziert nach Histologie

Patientinnen mit serösen Tumoren weisen bei positiver Immunhistologie für p16 eine 5-JÜR von 75% auf, während sie bei negativer Immunhistologie bei 53% liegt ($p=0,604$).

Patientinnen mit endometrioiden Tumoren weisen bei positiver p16 Expression eine 5-JÜR von 100%, während sie bei negativer Expression bei 78% liegt ($p=0,172$).

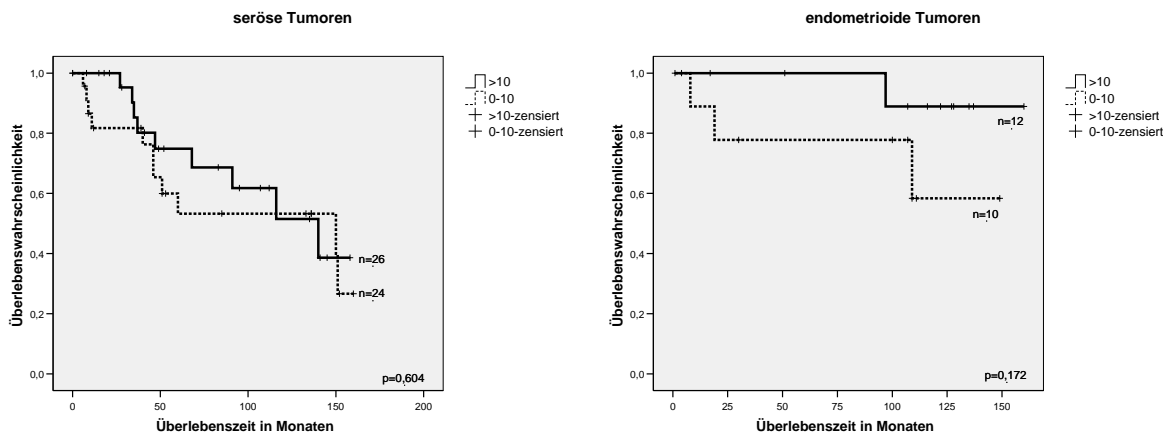


Abb. 68: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom der Histologie

Von den 26 Patientinnen mit serösen Tumoren und positiver Immunhistologie war bei 22 Rezidivstatus und Rezidivzeitpunkt bekannt. 11 erkrankten an einem Rezidiv, die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 44%. Von den 24 Patientinnen mit serösen Tumoren und negativer Immunhistologie lag die Zahl bei 20 mit 9 Rezidivkrankungen und einer 5-JÜR von 46% (p=0,826).

Bei den endometrioiden Tumoren mit positiver p16 Expression war bei 11 von 12 Patientinnen Rezidivstatus und -zeitpunkt bekannt. Es kam in keinem Fall zur Rezidivkrankung. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 100%. In den 8 Fällen mit negativer Immunhistologie lag die 5-JÜR bei 71% (p=0,079).

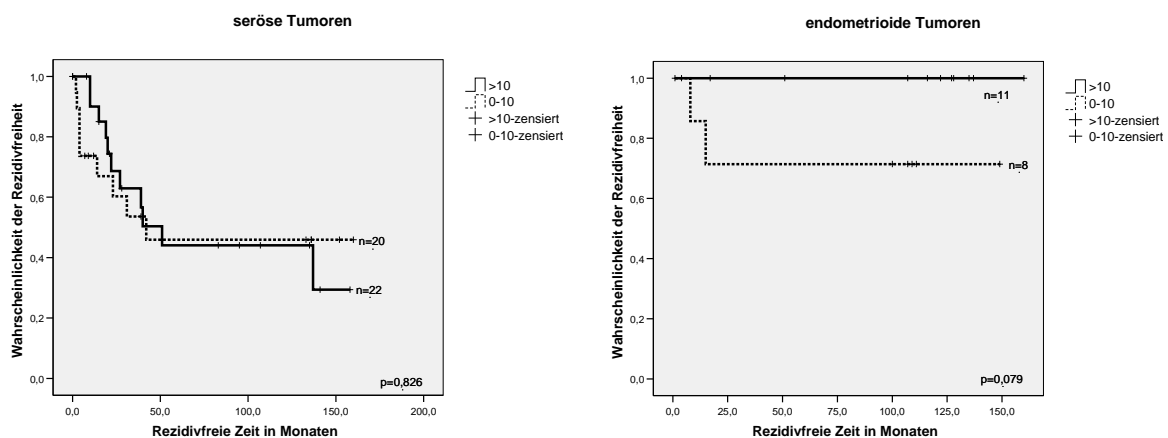


Abb. 69: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Histologie

4.2.2. Überlebensstatistik klassifiziert nach Grading

Beim Differenzierungsgrad GI betrug die 5-JÜR der 17 Patientinnen mit negativer Immunhistologie 69%, die der 10 Patientinnen mit positiver p16 Immunhistologie betrug 100% ($p=0,262$).

Bei mäßiger Differenzierung GII lag die 5-JÜR der 11 Fälle mit einer negativen Expression von p16 bei 82%. Sie erhöhte sich bei positiver p16 Expression auf 91% ($p=0,481$).

War bei schlechter Differenzierung des Tumors die p16 Expression negativ, lag die 5-JÜR der 21 Patientinnen bei 55%. Die der 20 Fälle mit p16-positiven Tumoren lag bei 66% ($p=0,379$).

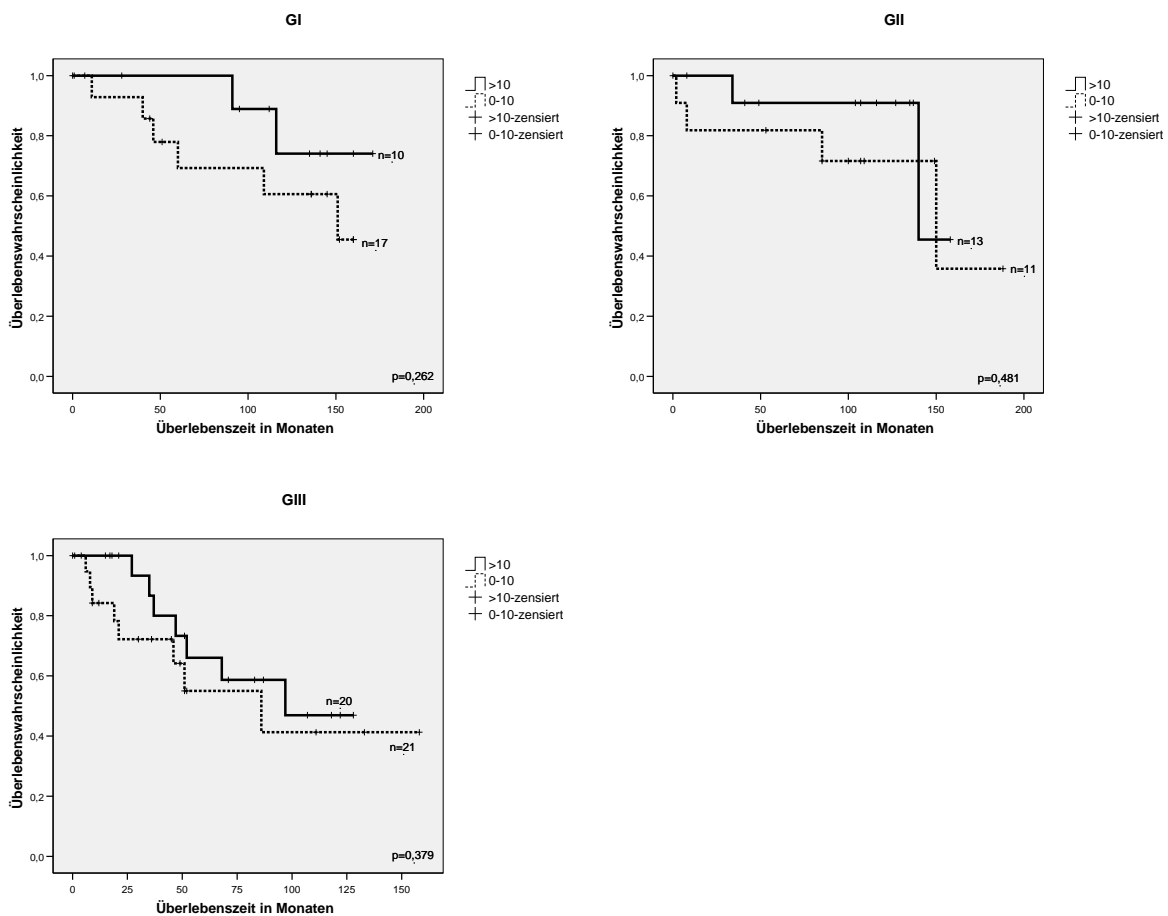


Abb. 70: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Grading

GI-Tumoren lagen bei 23 Frauen mit bekanntem Rezidivzeitpunkt und –status vor. Kombiniert mit negativer p16 Expression führte das zu einer 5-JÜR von 68% und von 73% bei positiver p16 Expression ($p=0,679$).

Von den 21 Frauen mit GII Tumoren und bekannten Faktoren der Rezidiverkrankungen hatten 8 p16 negative Tumoren. Hier betrug die 5-JÜR 68%. 13 Tumoren waren p16 positiv. Hier lag die 5-JÜR bei 73% ($p=0,880$).

36 Patientinnen mit bekanntem Rezidivstatus und –zeitpunkt hatten einen schlecht differenzierten GIII Tumor. 19 waren p16 negativ mit einer rezidivfreien 5-JÜR von 35%. 17 waren p16 positiv mit einer 5-JÜR von 63% ($p=0,084$).

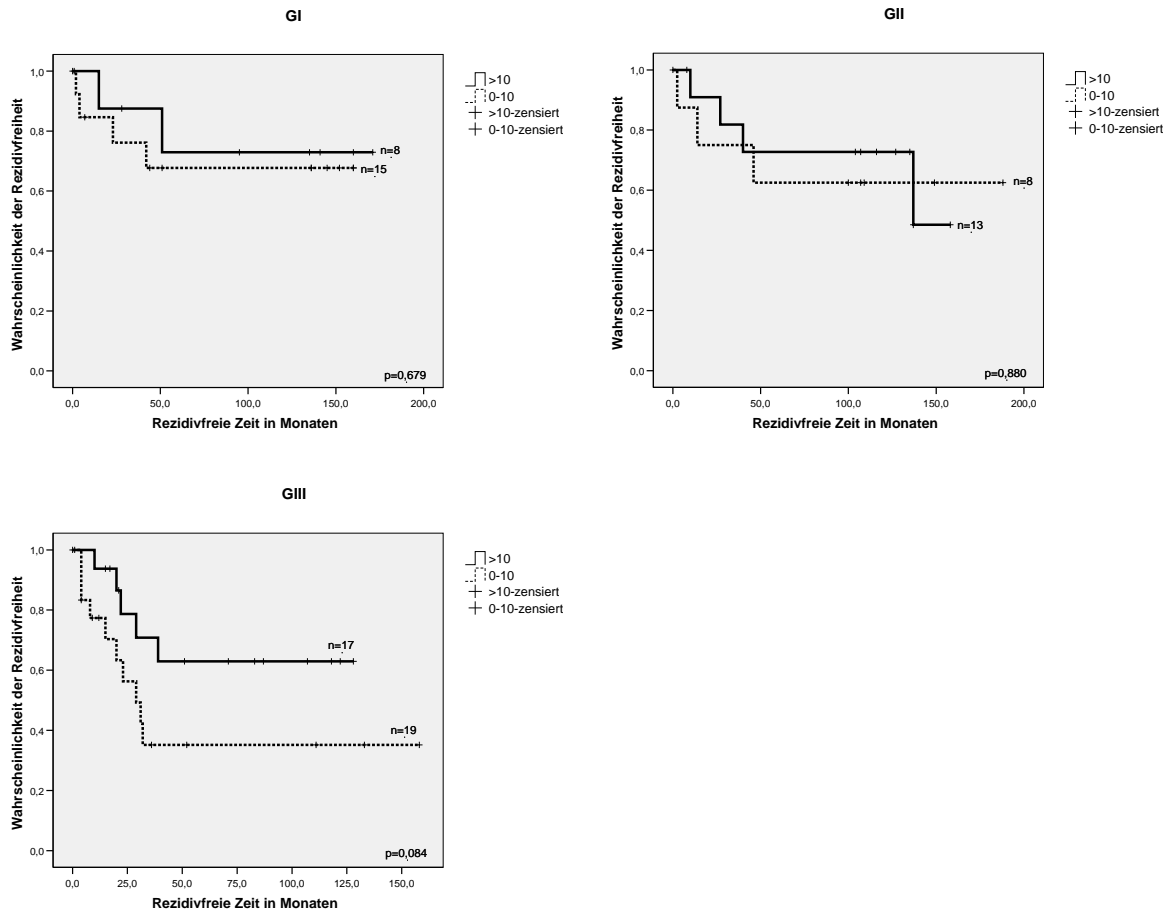


Abb. 71: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Grading

4.2.3. Überlebensstatistik klassifiziert nach pT

Im Stadium pT1 beträgt die 5-JÜR bei negativer Immunhistologie 82%, bei positiver p16 Expression liegt sie bei 100%, da hier die erste Patientin nach 91 Monaten verstarb ($p=0,213$). Im Stadium pT2 lag die 5-JÜR der Patientinnen mit p16-negativen Tumoren bei 75%. Bei den Fällen mit normaler Expression betrug sie 67% ($p=0,824$). Hier ist in mindestens einer Schicht nur ein einziger gültiger Wert für die Überlebensfunktion pro Gruppe vorhanden. Für diese Schichten kann kein Diagramm gezeichnet werden.

Im Stadium pT3 lag die Rate derer, die ersten 5 Jahre nach Diagnosestellung überlebten bei 52%, wenn die Immunhistologie negativ war und bei 68% bei positiver Immunhistologie ($p=0,707$).

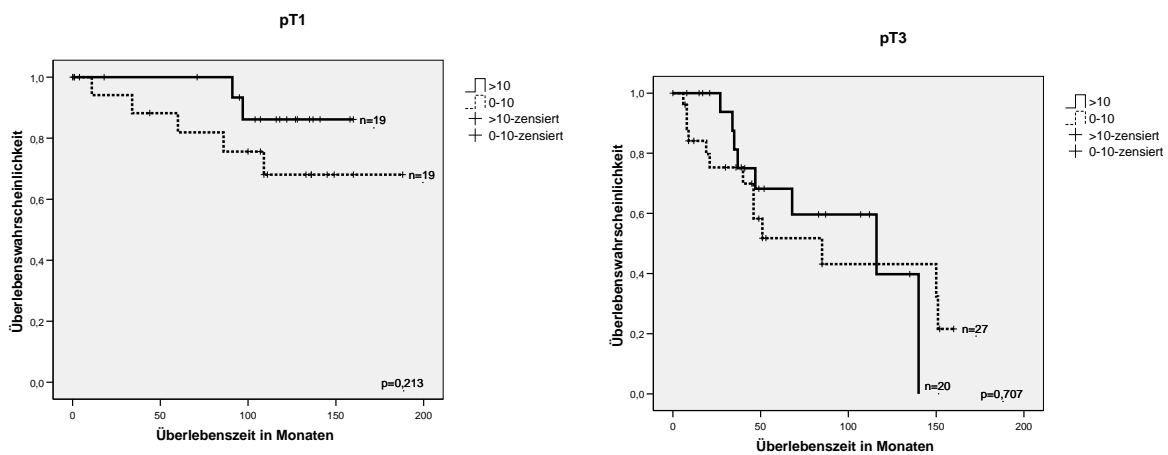


Abb. 72: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium

Im Stadium pT1 beträgt die rezidivfreie 5-JÜR bei negativer Immunhistologie 80%, bei positiver p16 Expression liegt sie bei 100%, da hier keine der 16 Patientinnen an einem Rezidiv erkrankte ($p=0,086$).

Im Stadium pT2 lag die rezidivfreie 5-JÜR der Patientinnen mit p16-negativen Tumoren bei 100% da hier keine der 4 Patientinnen an einem Rezidiv erkrankte. Bei den Fällen mit normaler Expression lag sie bei 53% ($p=0,209$).

Im Stadium pT3 lag die 5-JÜR bei 17%, wenn die Immunhistologie negativ war und bei 37% bei positiver Immunhistologie. Da hier die rezidivfreie Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit unter 50% lag, kann für die Fälle mit pT3 klassifizierten Tumoren eine mediane Gesamtüberlebenszeit von 23 Monaten bei p16 negativen Tumoren und von 40 Monaten bei p16 positiven Tumoren angegeben werden ($p=0,187$).

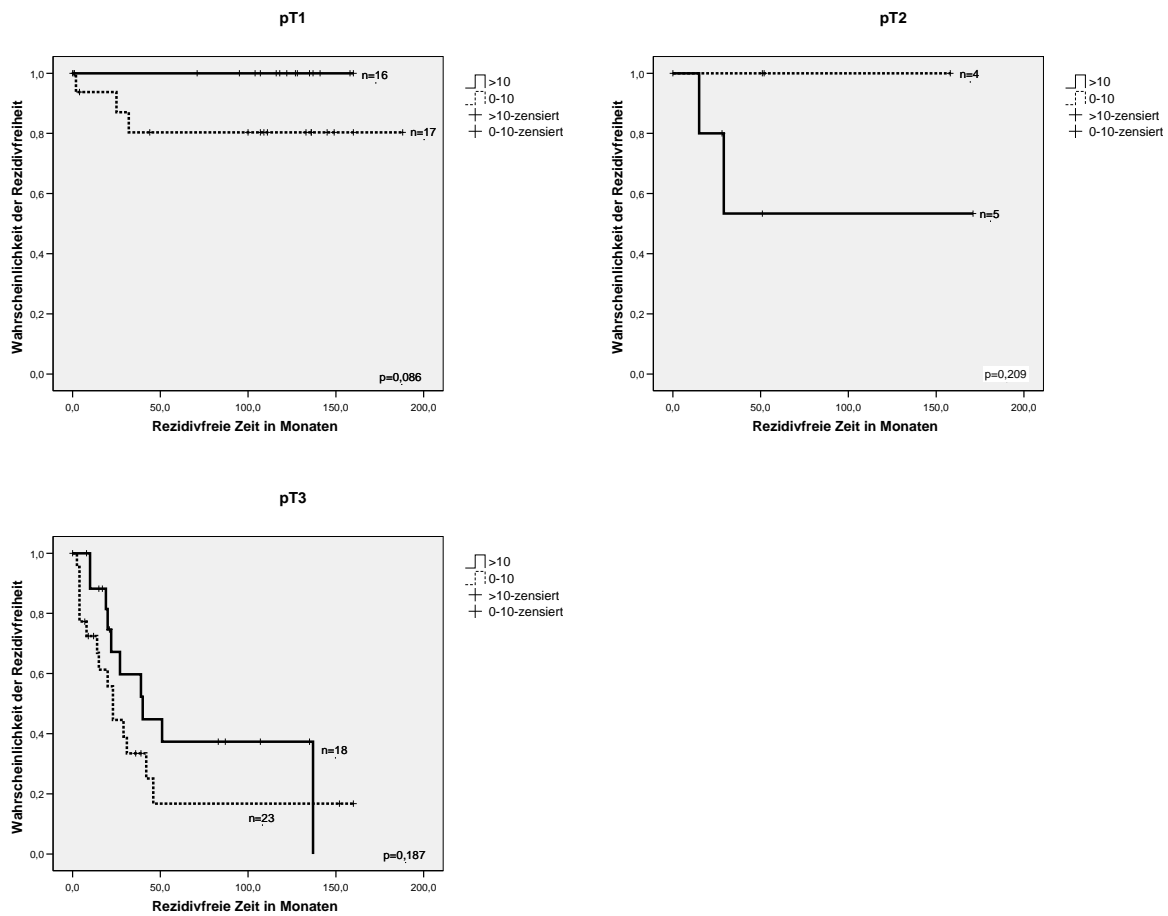


Abb. 73: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium

4.2.4. Überlebensstatistik klassifiziert nach FIGO

Von den 34 Frauen mit Tumoren im FIGO Stadium I wiesen 16 eine negative und 18 eine positive Immunhistologie für p16 auf. Die 5-JÜR für die p16 negativen Fälle betrug 86%, die der p16 positiven Fälle 100%, da die erste Patientin nach 91 Monaten verstarb (p=0,311).

Insgesamt 6 Tumoren wurden dem FIGO-Stadium II zugeordnet. Zwei davon waren p16 negativ. Die 5-JÜR betrug hier 0%, da eine Patientin nach 2 Monaten verstarb und es bei der anderen unmittelbar nach Operation zum Kontaktverlust kam. Bei den p16-positiven Fällen betrug die 5-JÜR 50% (p=0,046).

Im Stadium FIGO III lag die 5-JÜR der p16 negativen Fälle bei 59%. Patientinnen mit Tumoren normaler p16 Expression hatten eine 5-JÜR von 76% (p=0,653).

Im Stadium FIGO IV liegt die 5-JÜR für p16 negative Fälle bei 63% und für p16-positve Fälle bei 60% (p=0,713).

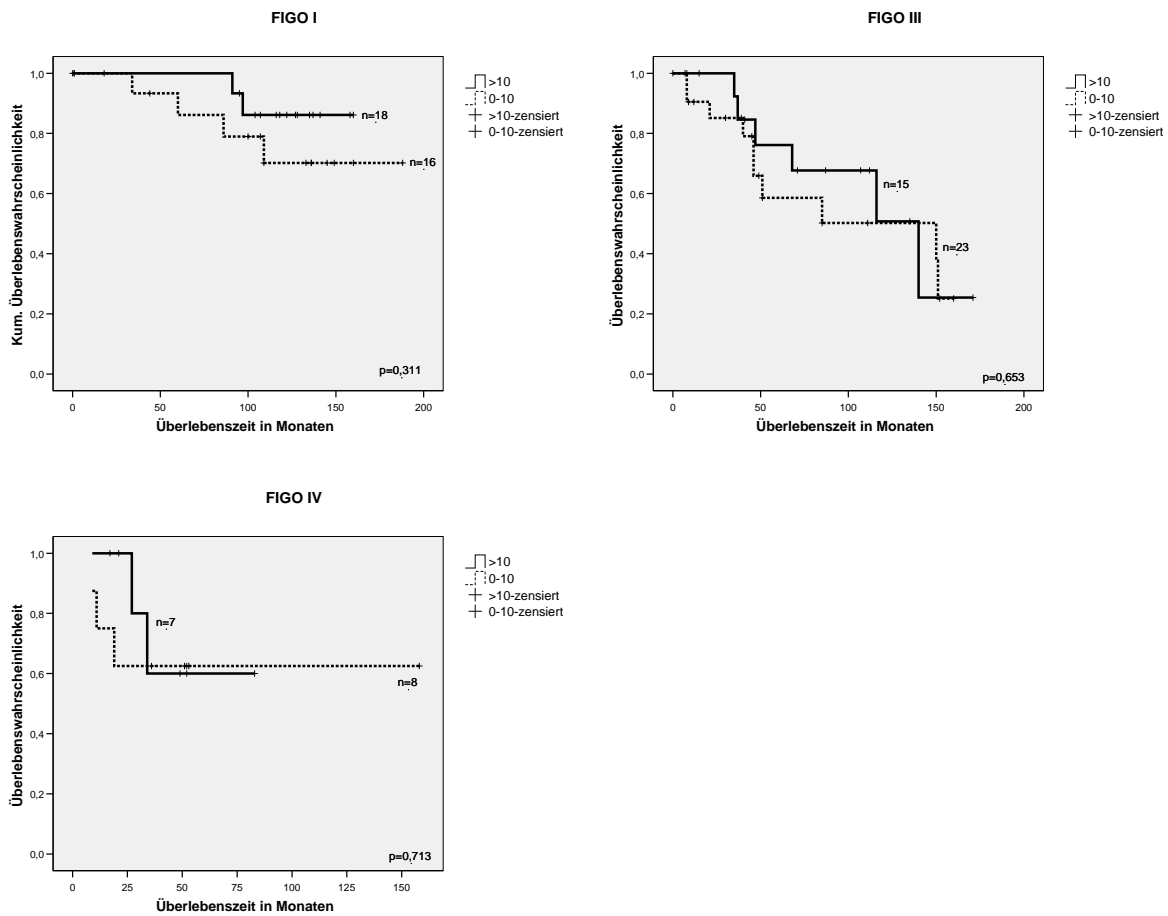


Abb. 74: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

Im Stadium FIGO I waren bei 14 Frauen mit p16 negativen Tumoren Rezidivstatus und –zeitpunkt bekannt. 2 von ihnen erkrankten innerhalb von 25 und 32 Monaten an einem Rezidiv, was zu einer 5-JÜR von 85% führt. Von den 15 Frauen mit p16 positiven Tumoren erkrankte keine an einem Rezidiv (p=0,149).

Im Stadium FIGO II und negativer p16 Expression gab es nur einen Fall, bei dem der Rezidivstatus bekannt war. Diese Patientin erkrankte nicht an einem Rezidiv. Bei den Fällen mit positiver p16 Expression betrug die 5-JÜR 38%.

Im Stadium FIGO III lag die rezidivfreie 5-JÜR der p16 negativen Fälle bei 33% und die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 31 Monaten, die der p16 positiven bei 50% und die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 137 Monaten (p=0,389).

Im Stadium IV liegt die 5-JÜR der p16 negativen Fälle bei 38% und die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 15 Monaten, die der p16 positiven bei 31% und die mediane Gesamtüberlebenszeit ohne Rezidiv bei 27 Monaten (p=0,679).

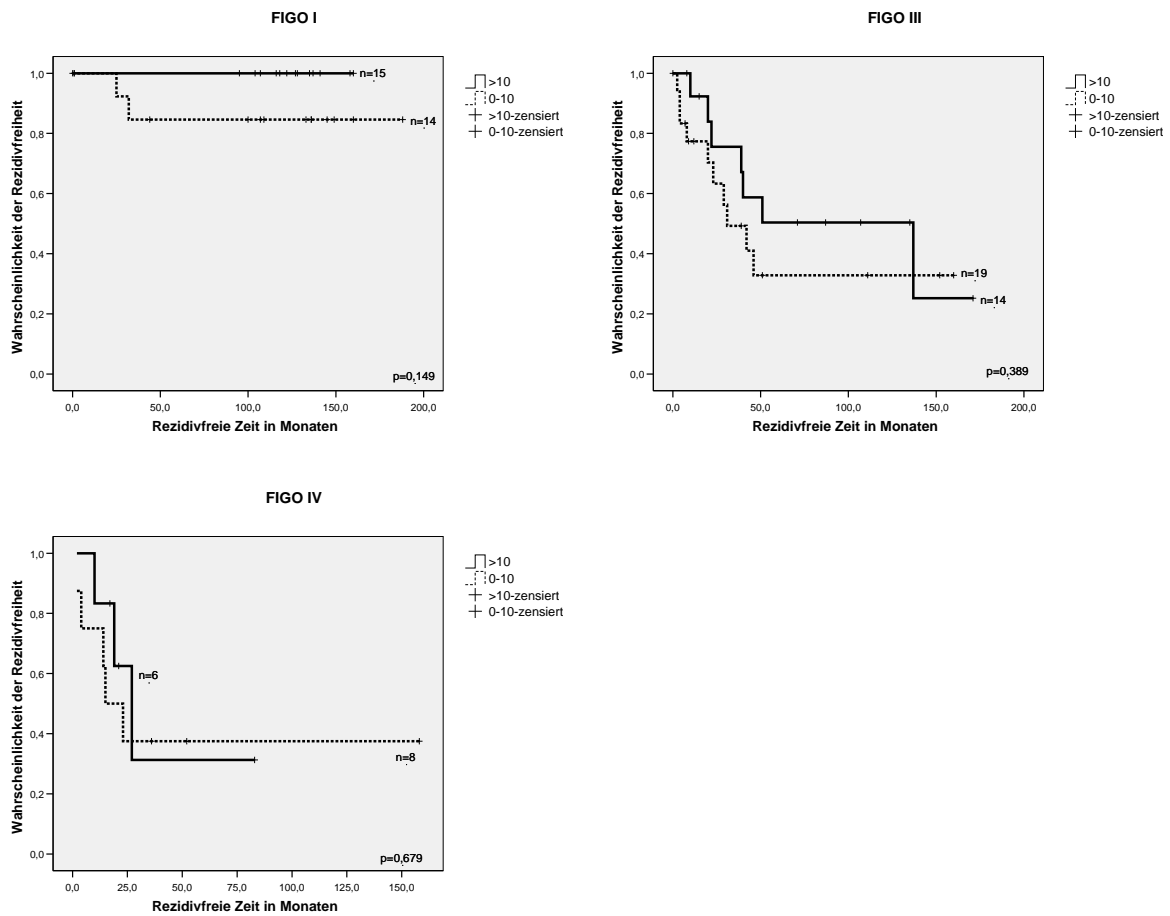


Abb. 75: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

4.2.5. Überlebensstatistik klassifiziert nach Lymphknotenstatus

31 Patientinnen waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung frei von Lymphknotenmetastasen. Davon waren 13 Fälle p16 negativ mit einer 5-JÜR von 80% und 18 Fälle p16 positiv mit einer 5-JÜR von 93% (p=0,803).

Bei 28 Patientinnen lagen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits Lymphknotenmetastasen vor. 19 davon wiesen eine negative p16 Immunhistologie auf und hatten eine 5-JÜR von 61%. Die 9 Fälle mit positiver p16 Immunhistologie hatten eine 5-JÜR von 62% (p=0,688).

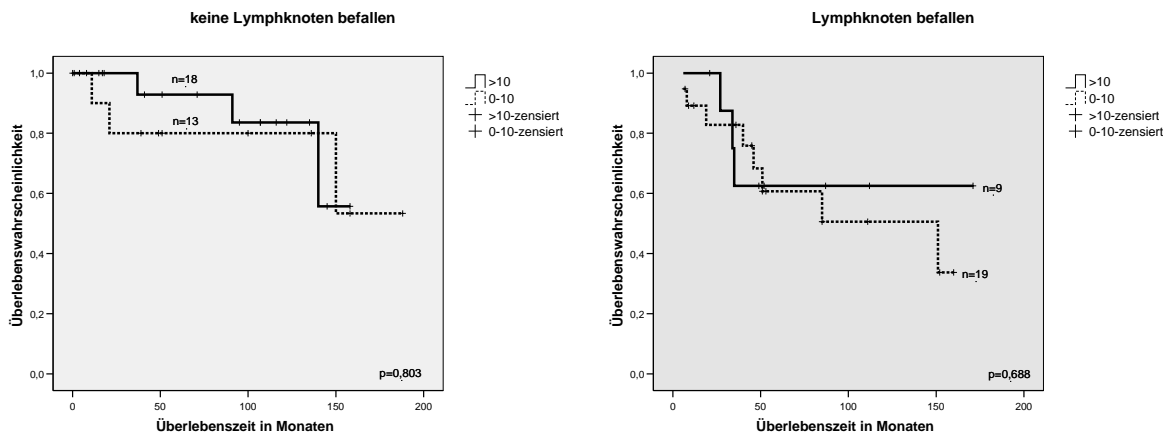


Abb. 76: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

Bei 28 der 31 Frauen ohne Lymphknotenmetastasen ließ sich Rezidivstatus und –zeitpunkt nachvollziehen. 12 von ihnen hatten p16 negative Tumoren und eine 5-JÜR von 69% bei insgesamt 3 Rezidivereignissen. 16 Patientinnen hatten p16 positive Tumoren. Die 5-JÜR verbesserte sich hier auf 78%. Es gab hier 4 Frauen mit Rezidiven (p=0,758).

Von 25 Frauen mit bekanntem Rezidivstatus und –zeitpunkt und befallenen Lymphknoten erkrankten 15 an einem Rezidiv. 17 hatten eine negative p16 Immunhistologie und eine rezidivfreie 5-JÜR von 27% bei 10 Rezidivereignissen.

8 Fälle hatten eine positive p16 Immunhistologie bei einer rezidivfreien 5-JÜR von 30% bei 5 Rezidivereignissen (p=0,759).

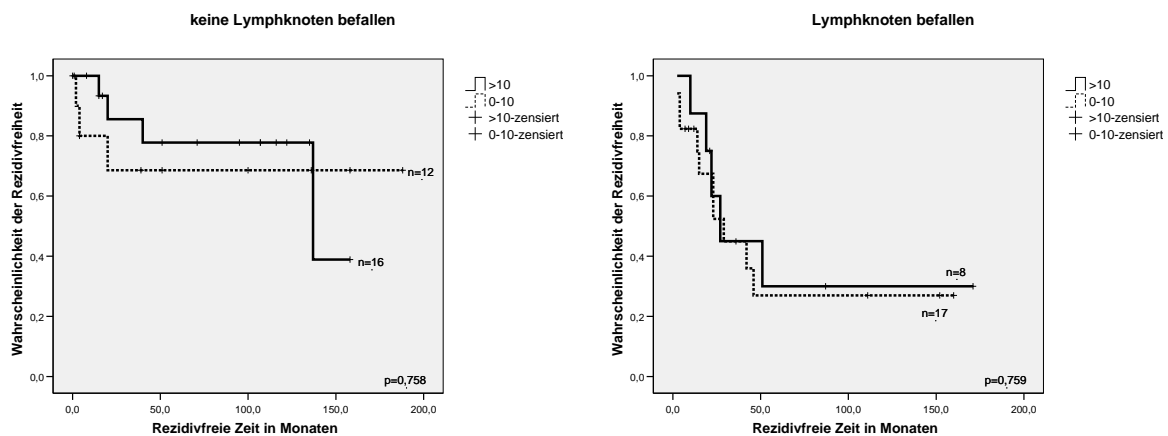


Abb. 77: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

4.2.6. Überlebensstatistik klassifiziert nach Fernmetastasen

Von den 72 Fällen ohne Fernmetastasierung waren 36 Fälle p16 negativ. 36 wiesen eine positive Immunhistologie auf. Die 5-JÜR lag bei 70% und 87% ($p=0,186$).

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung lagen in 15 Fällen bereits hämatogene Metastasen vor. 8 Tumoren waren p16 negativ, 7 p16 positiv. Die 5-JÜR bei negativer Immunhistologie betrug 63% und bei positiver p16 Expression 60% ($p=0,713$).

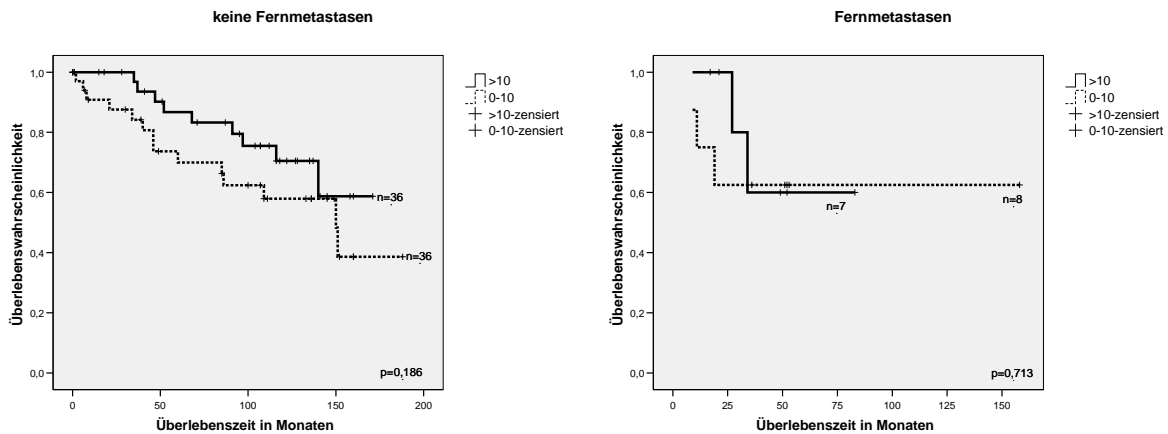


Abb. 78: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von der Metastasierung

In 63 Fällen ohne Fernmetastasen waren Rezidivstatus und -zeitpunkt bekannt. 31 Tumoren wiesen eine negative p16 Expression auf. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 54%.

32 Tumoren wiesen eine positive p16 Expression auf, bei einer 5-JÜR von 72% ($p=0,209$).

Im Falle der Fernmetastasierung lagen in 14 Fällen Angaben über Rezidivparameter vor. 8 Fälle waren p16 negativ, 6 p16 positiv. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 38 und 31%, die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 15 und 27 Monaten ($p=0,679$).

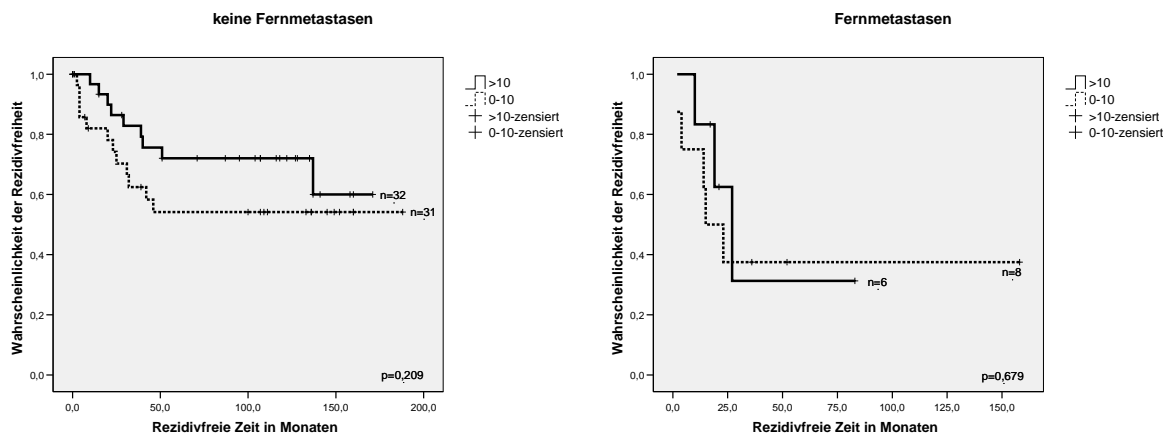


Abb. 79: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Metastasierung

4.2.7. Überlebensstatistik klassifiziert nach Tumorrest

Die 5-JÜR der 30 Patientinnen mit R₀ und negativer p16 Immunhistologie lag bei 84%, die der 29 Patientinnen mit positiver p16 Immunhistologie lag bei 96% (p=0,285).

Bei den R₁-Resezierten wiesen alle 4 Tumoren eine negative Immunhistologie aus. Eine Vergleichsanalyse konnte nicht durchgeführt werden.

5 Tumoren von Patientinnen mit R₂-Resektion waren p16 negativ, 4 p16 positiv. Die 5-JÜR lagen bei 20 und 75% (p=0,194).

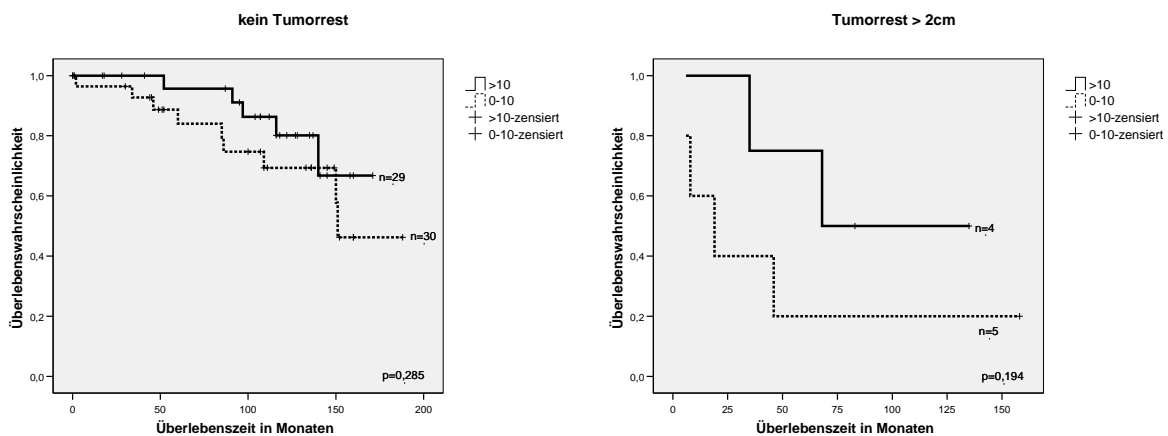


Abb. 80: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest

Die rezidivfreie 5-JÜR der 26 Patientinnen mit R₀-Resektion, bekannten Rezidivparametern und negativer Immunhistologie lag bei 62%, die der 25 Patientinnen mit positiver Immunhistologie lag bei 81% (p=0,242).

Bei den R₁-Resezierten wiesen alle 4 Tumoren eine negative Immunhistologie aus. Eine Vergleichsanalyse konnte nicht durchgeführt werden.

4 Tumoren von Patientinnen mit R₂-Resektion waren p16 negativ, 4 p16 positiv. Die 5-JÜR lagen bei 25 und 50% (p=0,309).

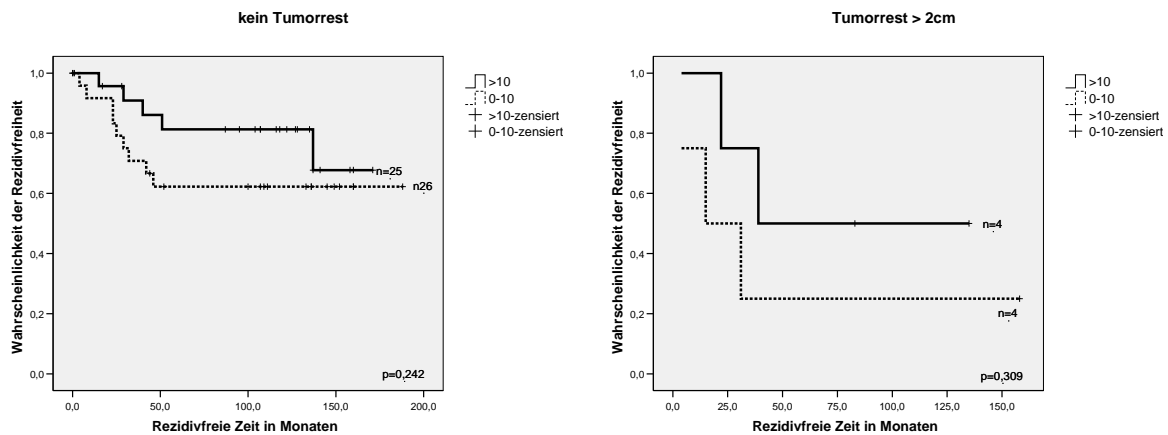


Abb. 81: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Tumorrest

5. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON cdk2 BEIM OVARIALKARZINOM

Insgesamt wurde 95 Fälle von Ovarialkarzinomen auf die immunhistochemische Überexpression von cdk 2 untersucht.

28 Fälle (29%) zeigten eine positive cdk2 Färbung, 67 Fälle (71%) waren immunhistochemisch cdk 2 negativ.

Nach Sui et al. (Sui et al. 2001) wurden die Fälle als positiv bewertet, wenn über 10% der Zellkerne angefärbt waren. Im Falle der positiven Kernfärbung, wurde die Fälle noch in zwei Kategorien eingeteilt: 10-50% (als positiv) und > 50% (als stark positiv). Da sich in dieser Arbeit nur ein einziger fall mit > 50% Kernfärbung nachweisen ließ, wird im Folgenden nur zwischen positiv und negativ unterschieden.

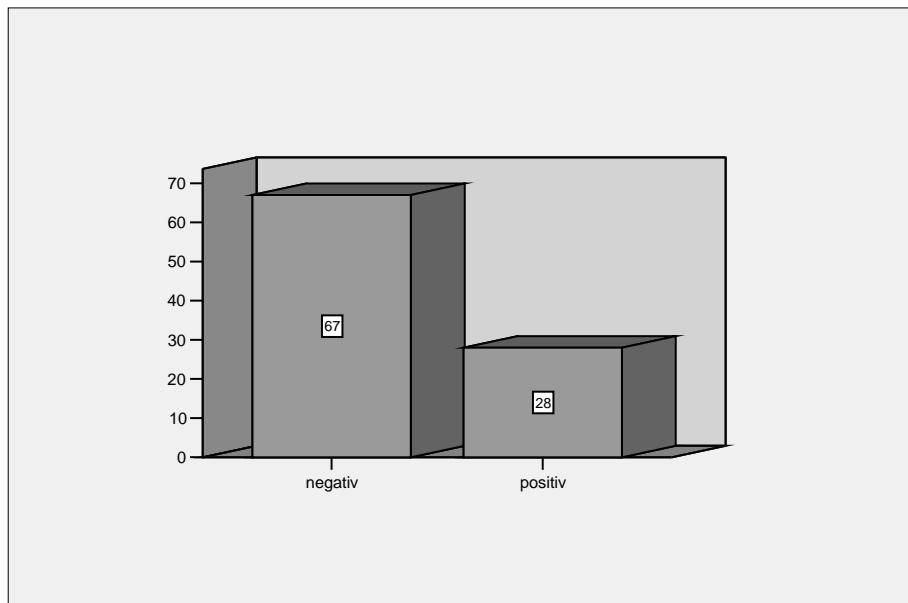


Abb. 82: Anzahl der Fälle mit prozentualem Anteil der positiv gefärbten Kerne

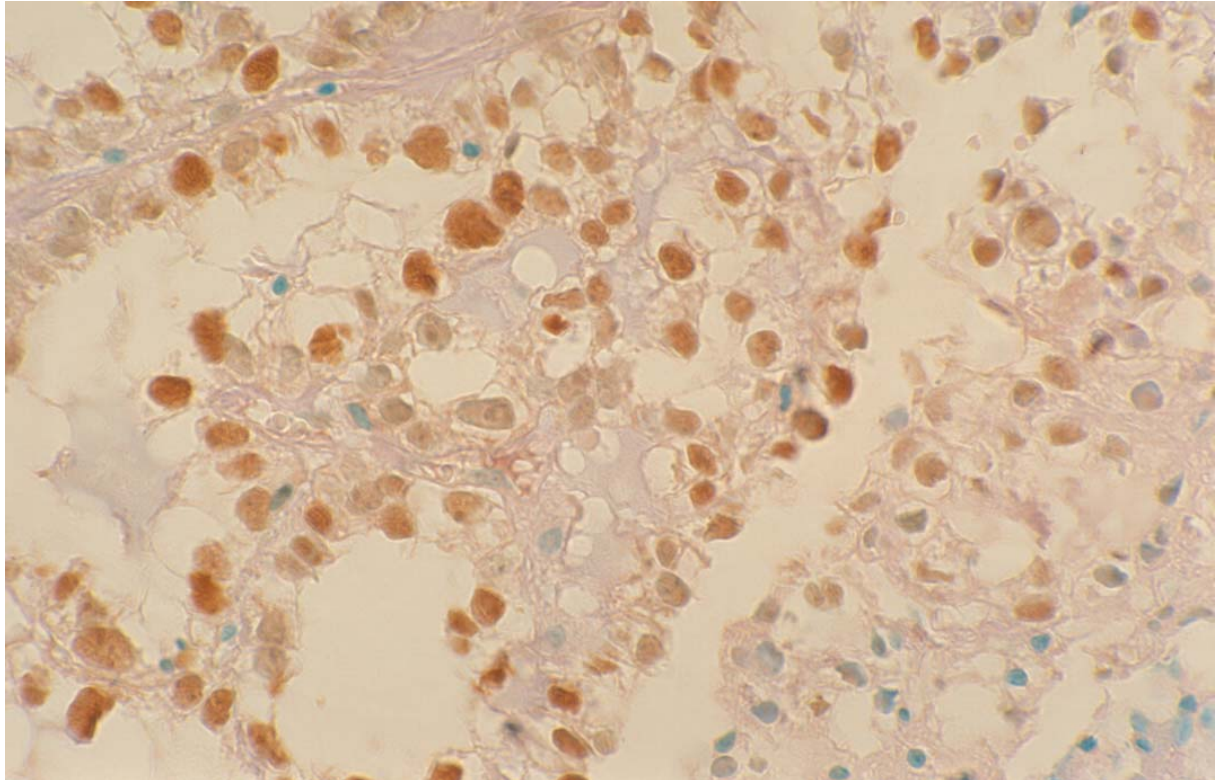


Abb. 83: Immunhistochemische Färbung von cdk 2 an einem klarzelligem Ovarialkarzinom (90% positive Kerne)

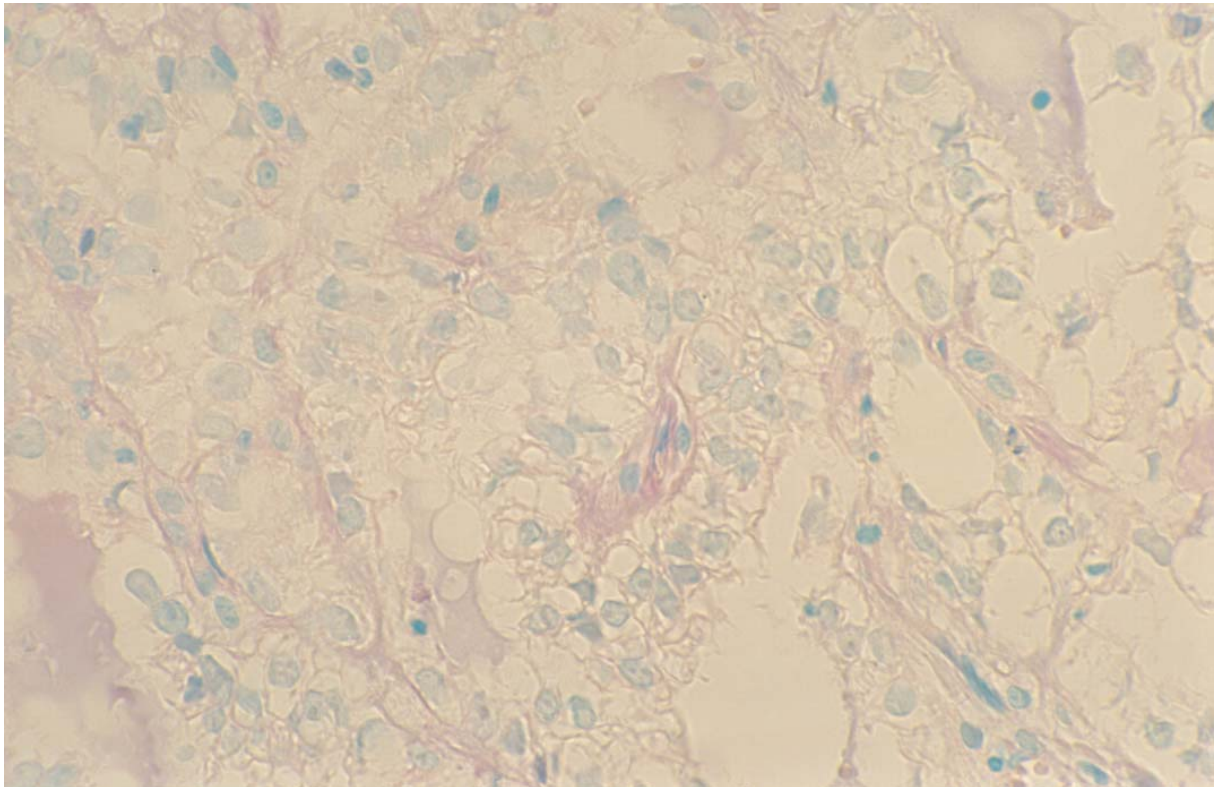


Abb. 84: Immunhistochemische Färbung von cdk 2 an einem klarzelligem Ovarialkarzinom (Negativkontrolle gefärbt mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität)

5.1. Korrelation von cdk2 Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren

In der folgenden Tabelle sind die klinisch-histologischen Daten der 95 Ovarialkarzinome beschrieben, deren Tumorgewebe auf eine cdk2 Proteinüberexpression hin untersucht wurde.

	Anzahl		Cdk 2 positiv		Cdk 2 negativ		p-Wert
	n	%	n	%	n	%	
Histologie	95	100	28	29,5	67	70,5	
Serös	50	52,6	15	53,6	35	52,2	
Endometrioid	22	23,2	05	17,9	17	25,4	
Undifferenziert	09	09,5	02	07,1	07	10,4	
Muzinös	06	06,3	02	07,1	04	06,0	
Klarzellig	05	05,3	03	10,7	02	03,0	
Gemischt epithelial	03	03,2	01	03,6	02	03,0	

							0,688
Grading	92	100	28	30,4	64	69,6	
G1	27	29,3	08	28,6	19	29,7	
G2	24	26,1	07	25,0	17	26,6	
G3	41	44,6	13	46,4	28	43,8	
							1,000
pT	95	100	28	29,5	67	70,5	
T1	38	40,0	12	42,9	26	38,8	
T2	10	10,5	03	10,7	07	10,4	
T3	47	49,5	13	46,4	34	50,7	
							0,945
FIGO	93	100	27	29,0	66	71,0	
FIGO I	34	36,6	12	44,4	22	33,3	
FIGO II	06	06,5	01	03,7	05	07,6	
FIGO III	38	40,9	10	37,0	28	42,4	
FIGO IV	15	16,1	04	14,8	11	16,7	
							0,807
Lymphonodektomie	59	100	17	28,8	42	71,2	
LK positiv	28	47,5	05	29,4	23	54,8	
LK negativ	31	52,5	12	70,6	19	45,2	
							0,092
Fernmetastasen	87	100	28	32,2	59	67,8	
Keine Metastasen	72	82,8	24	85,7	48	81,4	
Metastasen	15	17,2	04	14,3	11	18,6	
							0,765
Tumorrest	72	100	23	31,9	49	68,1	
Kein Tumorrest	59	81,9	17	73,9	42	85,7	
Residualtumor < 2cm	04	05,6	02	08,7	02	04,1	
Residualtumor > 2cm	09	12,5	04	17,4	05	10,2	
							0,476

Tab. 6: cdk2 und klinisch-histologische Daten

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer cdk2 Überexpression und einem der aufgeführten klinisch pathologischen Parameter besteht nicht.

5.2. Überlebensstatistik

Von den 67 Fällen mit einer negativen cdk2 Expression verstarben im Beobachtungszeitraum 22 Frauen. Es ergab sich eine 5-JÜR von 73%. Bei cdk2 Überexpression betrug die 5-JÜR 78% ($p=0,666$).

Von den 83 Patientinnen bei denen der Rezidivstatus bekannt war, hatten 30 im Laufe des Beobachtungszeitraum ein Rezidiv bei bekanntem Rezidivzeitpunkt. Hiervon waren 23 cdk2-negativ und 7 cdk2-positiv.

Die 5-JÜR betrug im Falle der cdk2 Negativität 56% und im Falle der cdk2-Überexpression 67% ($p=0,590$).

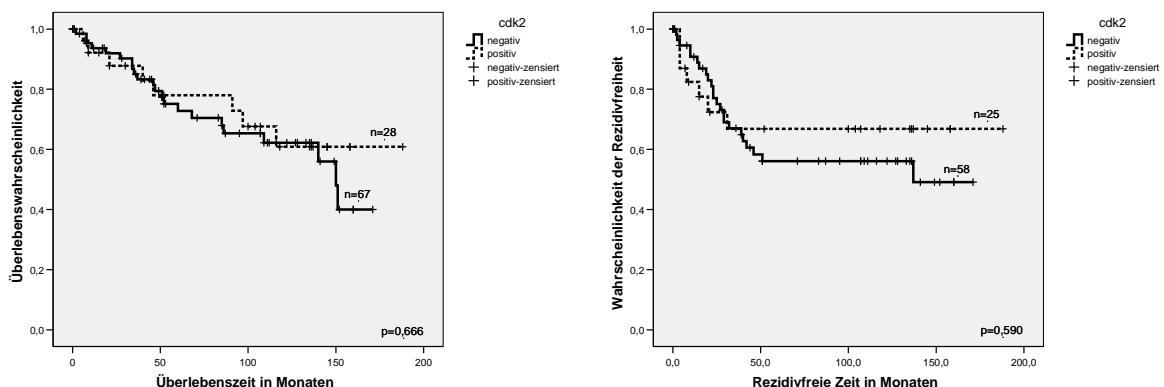


Abb. 85: Gesamtüberlebenszeit und Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Proteinexpression

5.2.1. Überlebensstatistik klassifiziert nach Histologie

Patientinnen mit serösen Tumoren weisen bei positiver Immunhistologie für cdk2 eine 5-JÜR von 64% auf, während sie bei negativer Immunhistologie bei 65% liegt ($p=0,656$).

Endometroide Tumoren weisen bei positiver cdk2 Expression eine 5-JÜR von 100%, während sie bei negativer Expression bei 86% liegt ($p=0,978$).

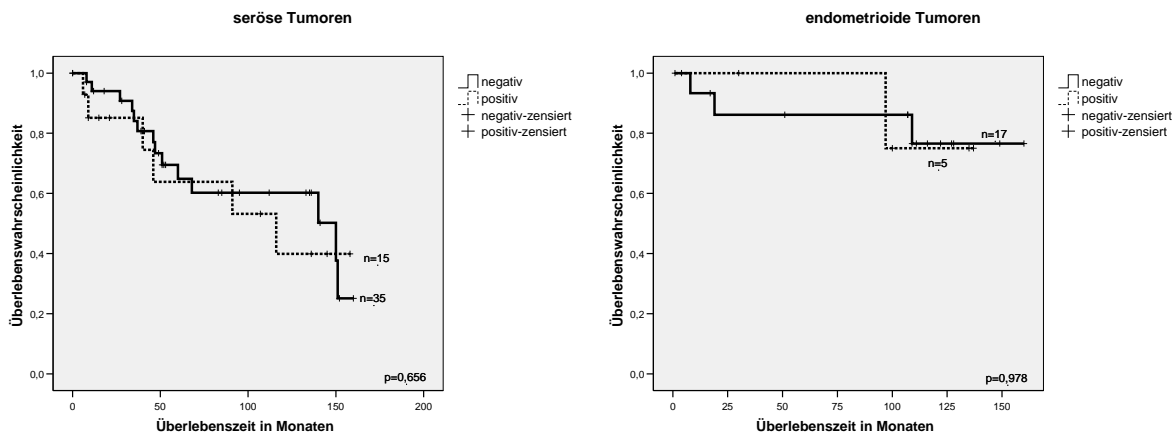


Abb. 86: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom der Histologie

Von den 15 Patientinnen mit serösen Tumoren und positiver Immunhistologie war bei 13 Rezidivstatus und Rezidivzeitpunkt bekannt. 5 erkrankten an einem Rezidiv, die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 48%. Von den Patientinnen mit 35 serösen Tumoren und negativer Immunhistologie lag die Zahl bei 29 mit 15 Rezidivkrankungen und einer 5-JÜR von 45% ($p=0,830$).

Bei den endometrioiden Tumoren mit cdk2 Überexpression war bei 4 von 5 Patientinnen Rezidivstatus und -zeitpunkt bekannt. Es kam in 1 Fall zur Rezidivkrankung. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 75%. In den Fällen mit negativer Immunhistologie lag die 5-JÜR bei 92% ($p=0,317$). Hier ist in mindestens einer Schicht nur ein einziger gültiger Wert für die Überlebensfunktion pro Gruppe vorhanden. Für diese Schichten kann kein Diagramm gezeichnet werden.

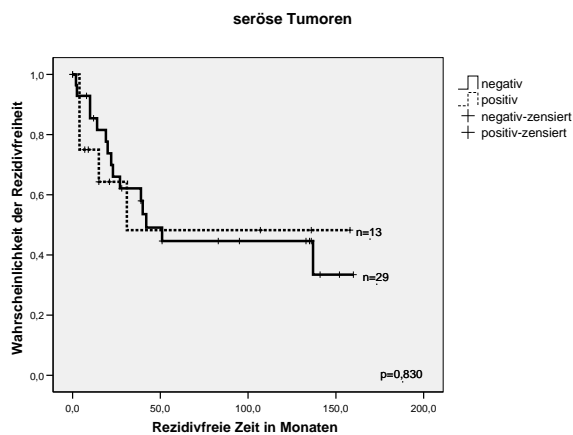


Abb. 87: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Histologie

5.2.2. Überlebensstatistik klassifiziert nach Grading

Von den 27 Patientinnen mit einem GI-Tumor verstarben innerhalb des Beobachtungszeitraumes 8 Frauen. Hierbei ergaben sich hinsichtlich der 5-JÜR in den beiden cdk2-Kategorien keine signifikanten Unterschiede. Sie lag bei 81% bei den cdk2 negativen Fällen und bei 83% bei den cdk2 positiven Fällen. ($p=0,359$).

Bei 23 dieser Patientinnen waren der Rezidivstatus und –zeitpunkt bekannt, 6 von ihnen erkrankten an einem Rezidiv. Die rezidivfreie 5-JÜR war im Falle der cdk2 Überexpression mit 53% niedriger als ohne cdk2 Überexpression (73%). Auch dieses Ergebnis war statistisch nicht signifikant ($p=0,310$).

24 Fälle wurden mit GII klassifiziert. Davon verstarben im Beobachtungszeitraum 6. Diese waren alle cdk2 negativ. Die 5-JÜR der cdk2 negativen Fälle beträgt 82%. Das Ergebnis war statistisch signifikant ($p=0,046$). Ähnlich sieht es bei den GII-Tumoren in Zusammenhang mit der Entstehung eines Rezidives aus. Von den 14 cdk2 negativen Fällen mit bekanntem Rezidivzeitpunkt entwickelten die Hälfte ein Rezidiv. Die rezidivfreie 5-JÜR beträgt 54%. Die 7 cdk2 positiven Fälle blieben rezidivfrei ($p=0,028$).

41 Patientinnen weisen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einen GIII-Tumor auf. 10 der 28 Patientinnen mit cdk2 negativen Tumoren versterben, während es bei den cdk2 positiven 5 von 13 sind.

Dies führt bei den cdk2 negativen Fällen zu einer 5-JÜR von 60% und bei den cdk2 positiven Fällen zu einer 5-JÜR von 62% ($p=0,877$).

Bei 36 der 41 Patientinnen ist der Rezidivstatus und –zeitpunkt bekannt: 10 von 24 Fällen mit einer cdk2 Expression $<10\%$ erkrankten an einem Rezidiv. Ebenso 5 der 12 Fälle mit einer cdk2 Expression $> 10\%$.

Dies ergibt eine rezidivfreie 5-JÜR von 48% bei cdk2 negativen Tumoren und eine rezidivfreien 5-JÜR von 51% bei cdk2 positiven ($p=0,797$).

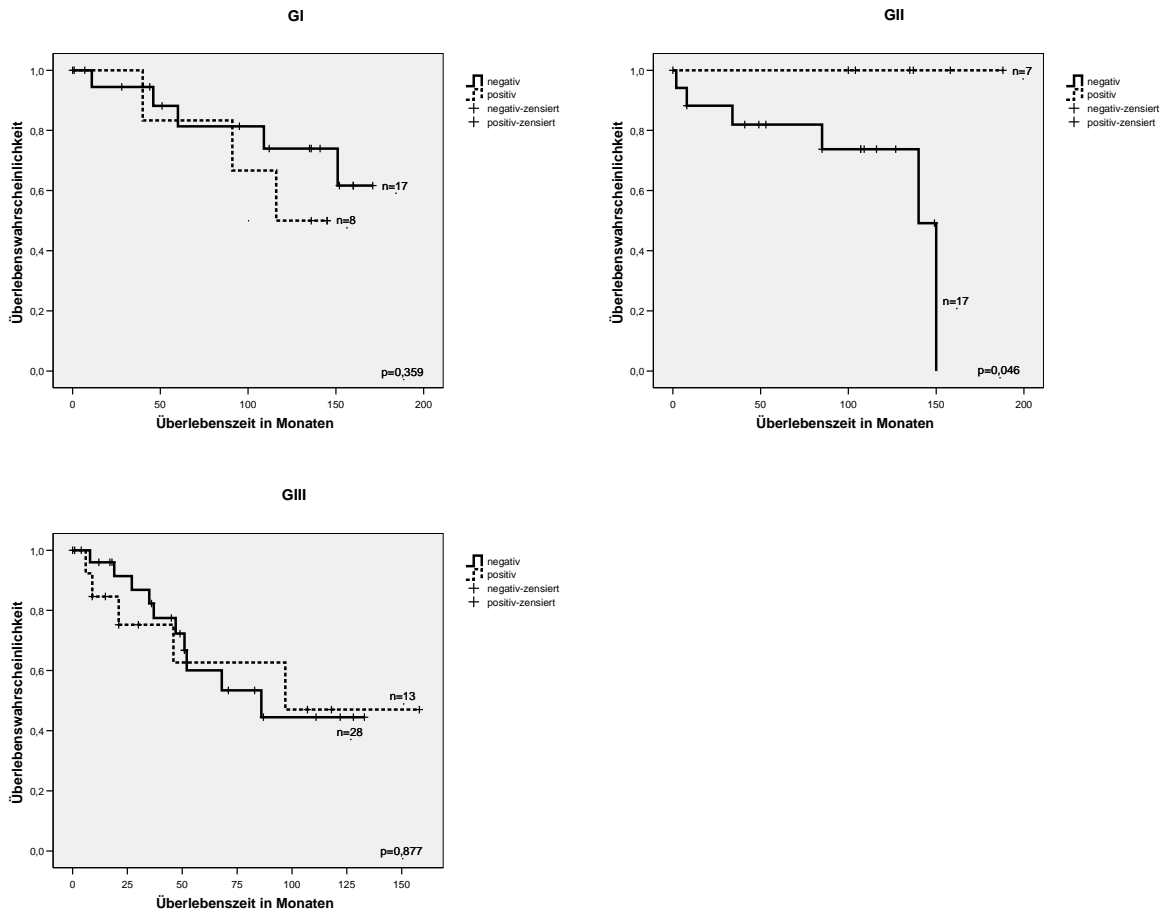


Abb. 88: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Grading

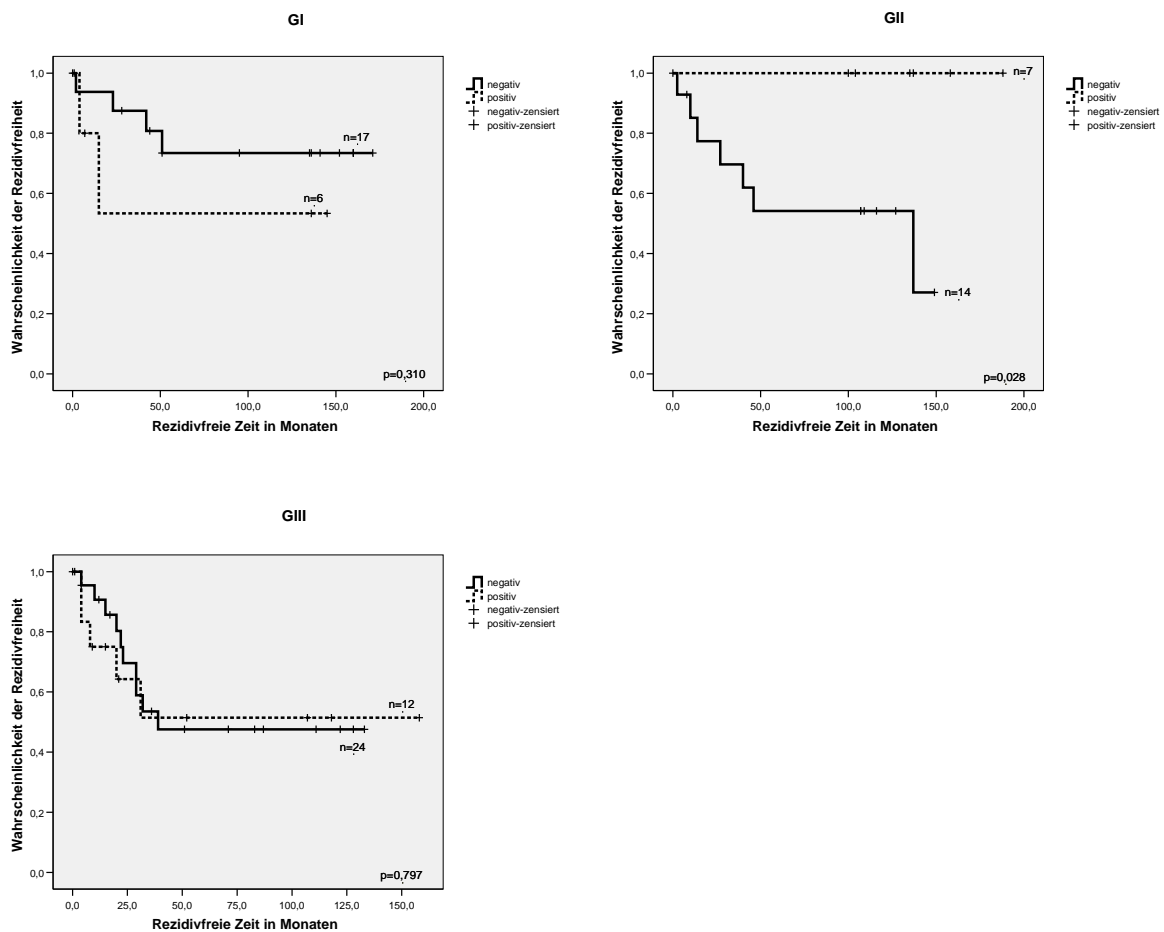


Abb. 89: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Grading

5.2.3. Überlebensstatistik klassifiziert nach pT

Im Stadium pT1 beträgt die 5-JÜR bei negativer Immunhistologie 87%, bei positiver cdk2 Expression liegt sie bei 100%, da hier die erste Patientin nach 91 Monaten verstarb (p=0,792).

Im Stadium pT2 lag die 5-JÜR der Patientinnen mit cdk2 negativen Tumoren bei 42%. Bei den Fällen mit Überexpression überlebten alle Patientinnen den Beobachtungszeitraum (p=0,170).

Im Stadium pT3 lag die Wahrscheinlichkeit die ersten 5 Jahre nach Diagnosestellung zu überleben bei 64%, wenn die Immunhistologie negativ war und bei 44% bei positiver Immunhistologie (p=0,197).

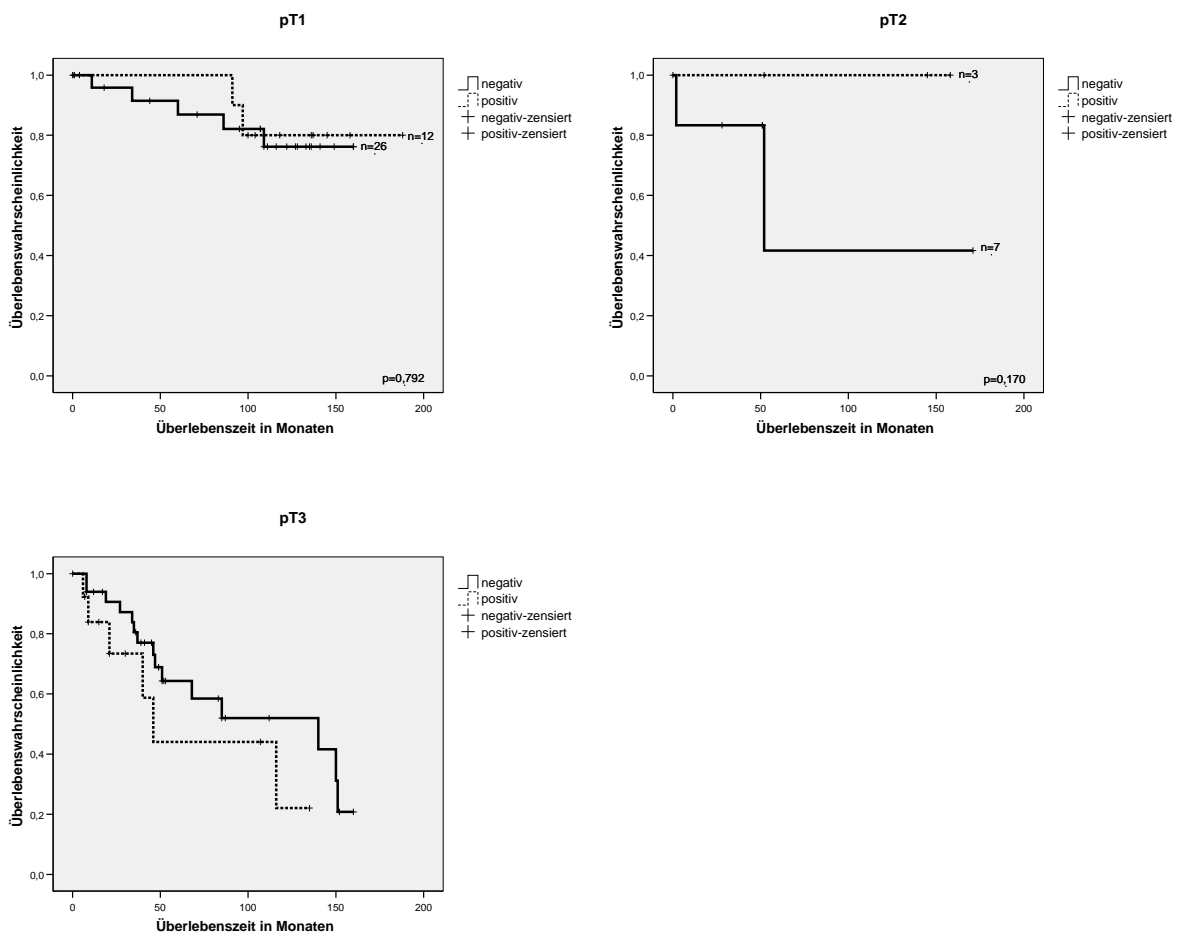


Abb. 90: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium

Im Stadium pT1 beträgt die rezidivfreie 5-JÜR bei negativer Immunhistologie 86%, bei positiver cdk2 Expression liegt sie bei 100%, da hier keine der Patientinnen an einem Rezidiv erkrankte (p=0,276).

Im Stadium pT2 lag die rezidivfreie 5-JÜR der Patientinnen mit cdk2 negativen Tumoren bei 75%. Bei den Fällen mit Überexpression lag sie bei 67% (p=0,666). Hier war wegen der geringen Fallzahl im Stadium pT2 in mindestens einer Schicht nur ein einziger gültiger Wert für die Überlebensfunktion vorhanden. Für diese Schichten kann kein Diagramm gezeichnet werden.

Im Stadium pT3 lag die Wahrscheinlichkeit die ersten 5 Jahre nach Diagnosestellung rezidivfrei zu überleben bei 25%, wenn die Immunhistologie negativ war und bei 35% bei positiver Immunhistologie. Da hier die rezidivfreie Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit unter 50% lag, kann für die Fälle mit pT3 klassifizierten Tumoren eine mediane

Gesamtüberlebenszeit von 29 Monaten bei cdk2 negativen Tumoren und von 31 Monaten bei cdk2 positiven Tumoren angegeben werden ($p=0,713$).

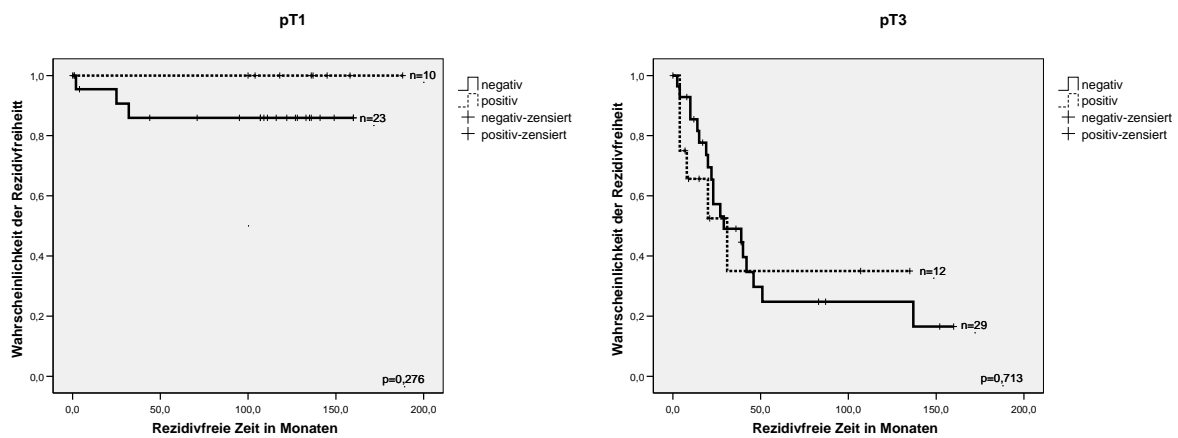


Abb. 91: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium

5.2.4. Überlebensstatistik klassifiziert nach FIGO

In Abhängigkeit von den unterschiedlichen FIGO-Stadien ergibt sich folgendes für die jeweiligen Gesamtüberlebenszeiten:

Die 5-JÜR im Stadium FIGO I beträgt bei cdk2 negativen Fällen 90% und bei cdk2 positiven Fällen 100%, da hier der erste Todesfall nach 91 Monaten auftritt. ($p=0,907$).

Im Stadium FIGO II beträgt die Gesamtüberlebenszeit des einen cdk2 positiven Falles 145 Monate, so dass auch hier die 5-JÜR bei 100% liegt, während bei den fünf cdk2 negativen Fällen die letzte Patientin nach 52 Monaten verstirbt, was einer 5-JÜR von 0% entspricht ($p=0,274$).

Bei den Fällen des Stadiums FIGO III beträgt die 5-JÜR der cdk2 negativen Fälle 70%, die der cdk2 positiven 51%. Die mediane Gesamtüberlebenszeit liegt bei 140 Monaten bei den cdk2 negativen Fällen und bei 116 Monaten im Falle der Überexpression ($p=0,339$).

Im Stadium FIGO IV liegt die 5-JÜR für cdk2 negative Fälle bei 61% und für cdk2-positive Fälle bei 75% ($p=0,871$).

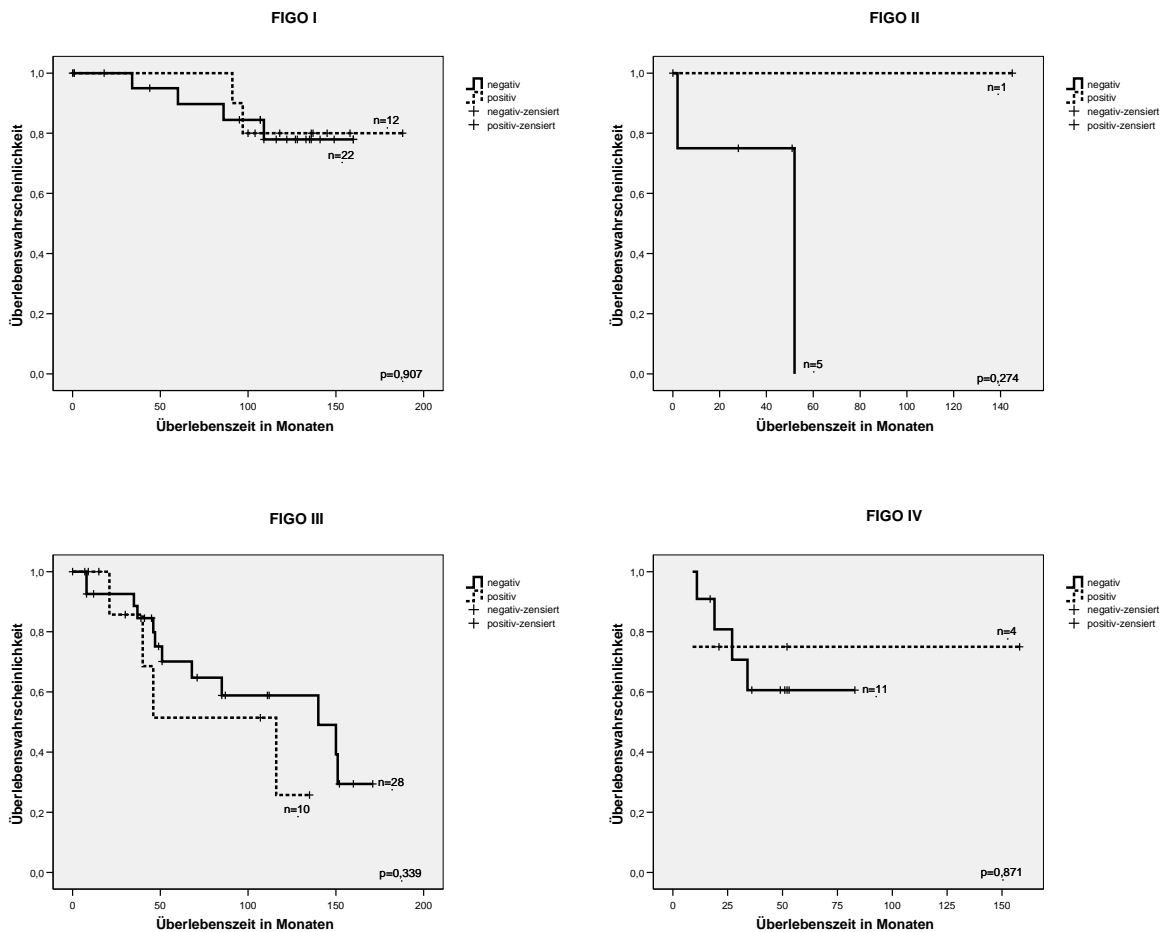


Abb. 92: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

Betrachtet man das rezidivfreie Überleben, ergeben sich folgende 5-JÜR:

Im FIGO Stadium I liegt die 5-JÜR der cdk2 negativen Fälle bei 89%, die der cdk2 positiven bei 100%, da es hier keine Rezidivverkrankung gab ($p=0,339$).

Im Stadium FIGO II liegt die 5-JÜR der cdk2 negativen Fälle bei 50%, die der cdk2 positiven bei 0% (es gab hier nur einen Fall mit bekanntem Rezidivzeitpunkt, der bei 15 Monaten nach Erstdiagnose lag). Daraus ergibt sich eine mediane Gesamtüberlebenszeit von 15 Monaten, während die der cdk2-negativen Fälle bei 29 Monaten liegt ($p=0,083$).

Hier war wegen der geringen Fallzahl im Stadium FIGO II in mindestens einer Schicht nur ein einziger gültiger Wert für die Überlebensfunktion vorhanden. Für diese Schichten kann kein Diagramm gezeichnet werden

Im Stadium FIGO III lag die 5-JÜR der cdk2 negativen Fälle bei 42% und die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 46 Monaten, die der cdk2 positiven bei 38% und die mediane Gesamtüberlebenszeit bei 31 Monaten ($p=0,562$).

Im Stadium IV liegt die 5-JÜR der cdk2 negativen Fälle bei 24%, die der cdk2 positiven bei 75% ($p=0,244$).

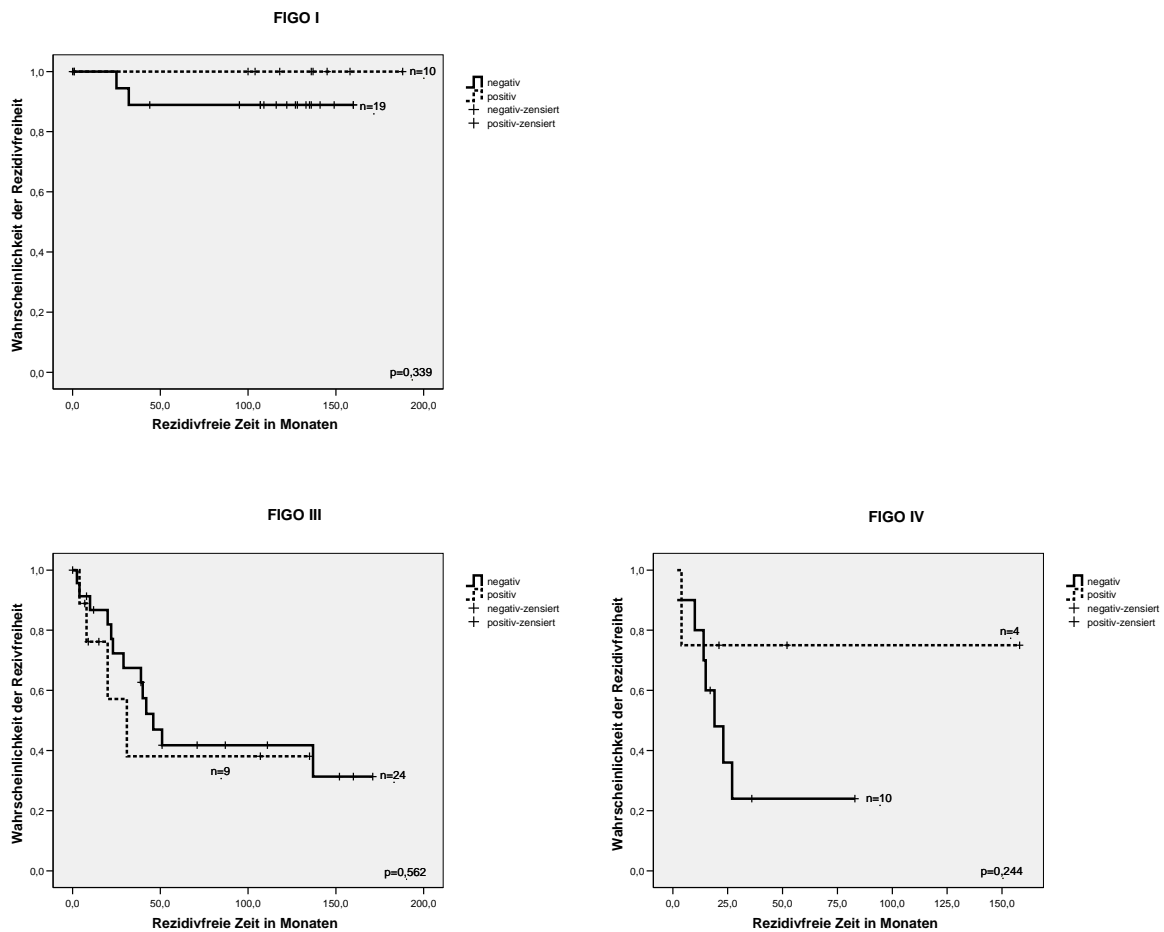


Abb. 93: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium

5.2.5. Überlebensstatistik klassifiziert nach Lymphknotenstatus

Ohne Lymphknotenbefall beträgt die 5-JÜR der negativen Fälle 87% und die der positiven 90% ($p=0,280$).

Zeigte sich bei der Lymphonodektomie ein Befall der Lymphknoten, betrug die mediane Überlebenszeit der cdk2 negativen Fälle 151 Monate, die der cdk2 positiven Fälle 40 Monate. Dies fällt zusammen mit einer 5-JÜR von 67% bei cdk2 negativen und 0% bei cdk2 positiven Fällen ($p=0,052$).

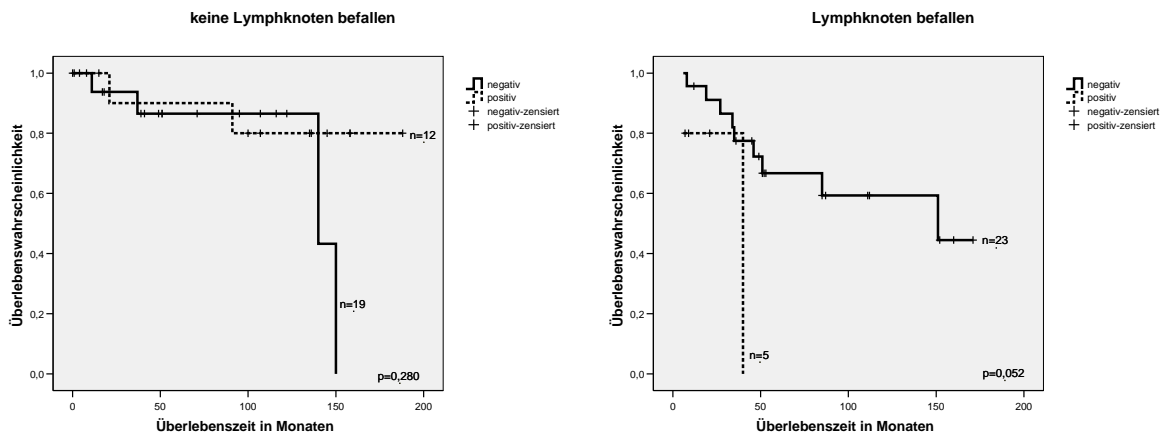


Abb. 94: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

Die rezidivfreie 5-JÜR lag ohne Lymphknotenbefall bei den cdk2 negativen Fällen bei 71%, bei den cdk2 positiven Fällen bei 79% (p=0,319).

Zeigte sich bei die Lymphonodektomie ein Befall der Lymphknoten, lag die Wahrscheinlichkeit die ersten 5 Jahren rezidivfrei zu überleben bei 30% im Zusammenhang mit einer negativen cdk2 Immunhistologie und bei 60% im Zusammenhang mit einer positiven cdk2 Immunhistologie (p=0,164).

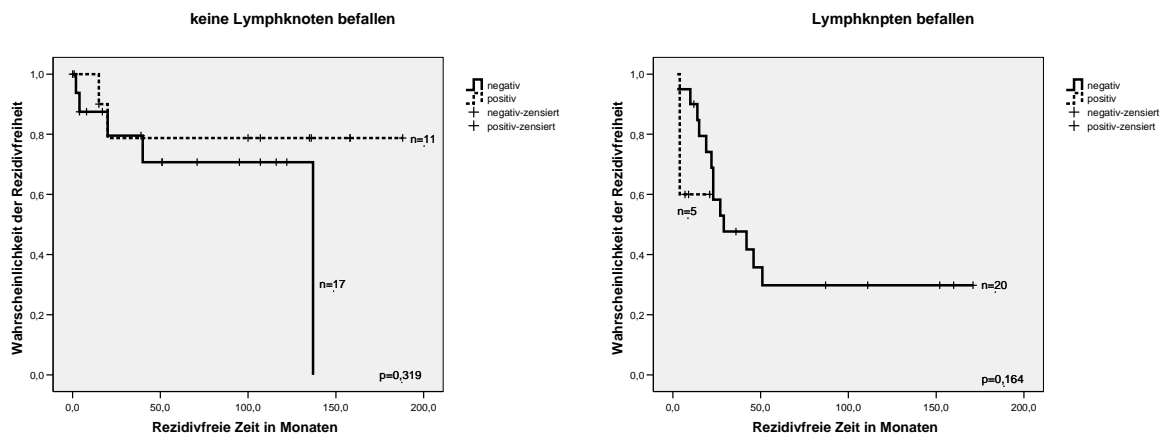


Abb. 95: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

5.2.6. Überlebensstatistik klassifiziert nach Fernmetastasen

48 Patientinnen ohne Fernmetastasierung hatten Tumoren mit negativer cdk2 Immunhistologie. 16 davon verstarben im Beobachtungszeitraum, was zu einer 5-JÜR von 78% führt.

24 Tumoren waren cdk2 positiv. In dieser Gruppe verstarben 7, was zu einer 5-JÜR von 79% führt ($p=0,979$).

Bei den Patientinnen mit Fernmetastasierung, waren 11 Tumoren cdk2 negativ und 4 cdk2 positiv. Die 5-JÜR lagen bei 61 und 75% ($p=0,871$).

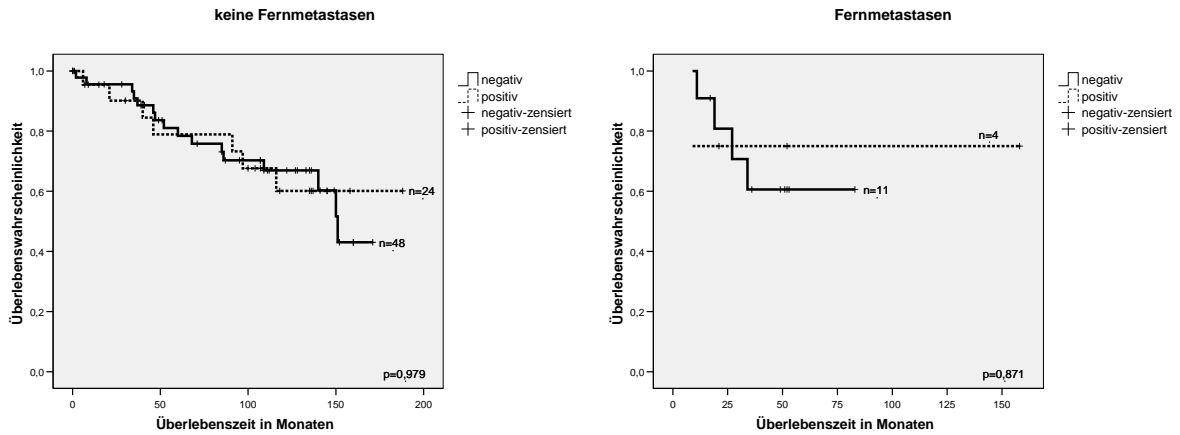


Abb. 96: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von der Metastasierung

In 63 Fällen ohne Fernmetastasen waren Rezidivstatus und -zeitpunkt bekannt. 42 Tumoren wiesen eine negative cdk2 Expression auf. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 63%.

21 Tumoren wiesen eine positive cdk2 Expression auf, bei einer 5-JÜR von 65% ($p=0,967$).

Im Falle der Fernmetastasierung lagen in 14 Fällen Angaben über Rezidivparameter vor. 10 Fälle waren cdk2 negativ, 4 cdk2 positiv. Die rezidivfreie 5-JÜR lag bei 24 und 75% ($p=0,244$).

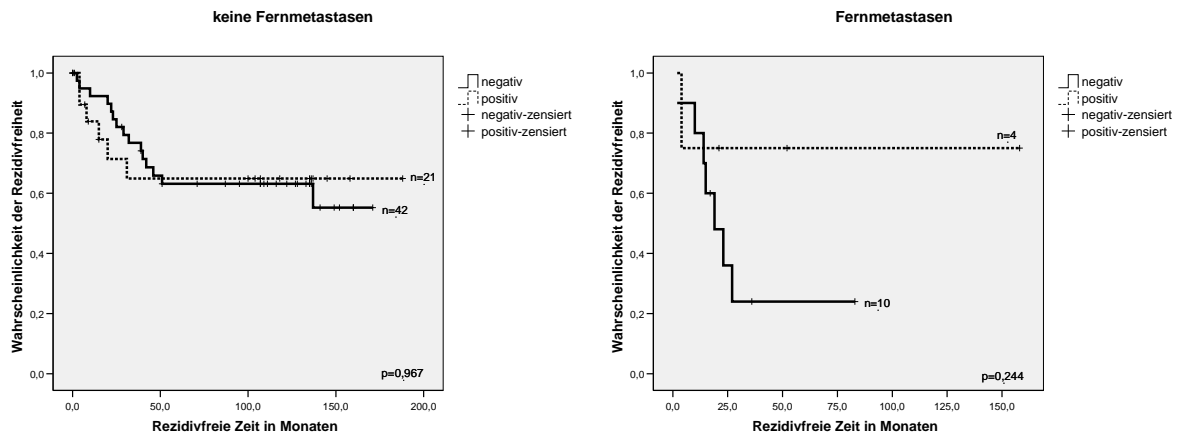


Abb. 97: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Metastasierung

5.2.7. Überlebensstatistik klassifiziert nach Tumorrest

In 59 Fällen wurde bei der Operation eine R₀-Resektion des Tumors erreicht. Davon waren 42 Fälle cdk2 negativ mit einer 5-JÜR von 86%. 17 Fälle wiesen eine positive Immunhistologie auf. Die 5-JÜR lag hier bei 100%, da der erste Todesfall nach 91 Monaten auftrat (p=0,481).

In 4 Fällen gelang bei der Karzinomoperation eine R₁-Resektion (<2cm Tumorrest). Hier waren je zwei Fälle cdk2 negativ und positiv (p=0,317). Eine Überlebensanalyse mit Diagrammerstellung wurde wegen der geringen Fallzahlen nicht durchgeführt.

Die 9 Fällen der R₂-Resektion (>2cm Tumorrest) wiesen 5 Mal eine negative cdk2 Expression und 4 Mal eine positive cdk2 Expression auf. Die 5-JÜR lagen bei 40 und 50% (p=0,484).

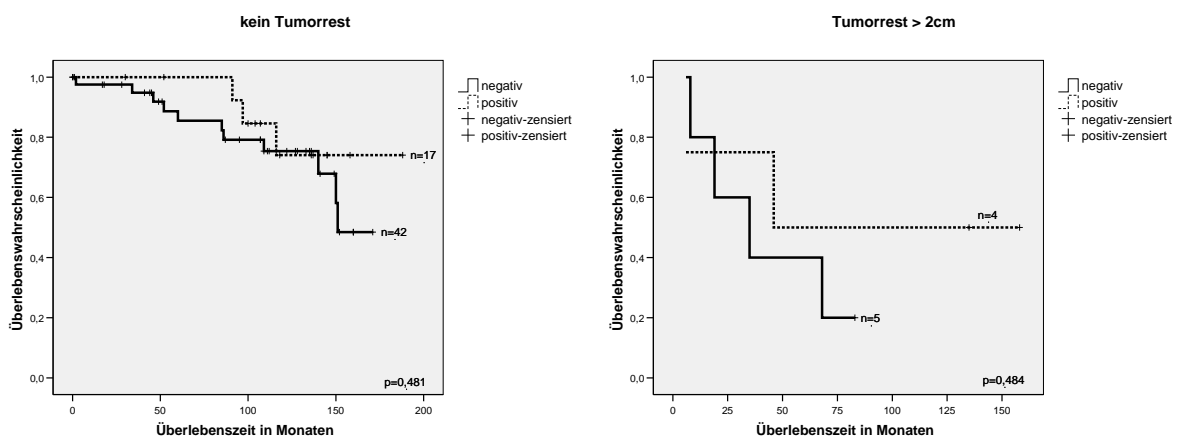


Abb. 98: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest

Die rezidivfreie 5-JÜR der 37 Patientinnen mit R₀-Resektion, bekannten Rezidivparametern und negativer Immunhistologie lag bei 67%, die der 14 Patientinnen mit positiver Immunhistologie lag bei 83% (p=0,285).

Bei den R₁-Resezierten wiesen 2 Tumoren eine negative Immunhistologie und 2 eine positive Immunhistologie auf (p=0,157). Eine Überlebensanalyse mit Diagrammerstellung wurde wegen der geringen Fallzahlen nicht durchgeführt.

4 Tumoren von Patientinnen mit R₂-Resektion waren cdk2 negativ, 4 cdk2 positiv. Die rezidivfreie 5-JÜR lagen bei 25 und 50% (p=0,634).

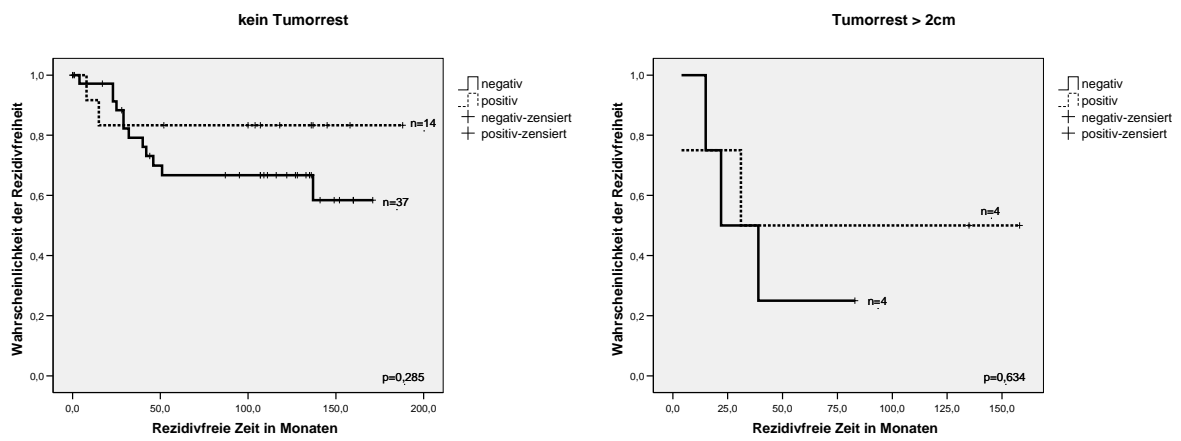


Abb. 99: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Tumorrest

IV. DISKUSSION

1. KLINISCHE UND HISTOLOGISCHE DATEN

1.1. Histologie

Die in früheren Studien publizierte bessere Prognose in Hinblick auf das Gesamtüberleben des endometrioiden Karzinoms im Vergleich zum serösen Karzinom (Makar et al. 1995; Brun et al. 2000) liess sich hier bestätigen. Die 5-Jahresüberlebensrate (5-JÜR) lag bei serösen Ovarialkarzinomen bei 65 % wohingegen die 5-JÜR bei den endometrioiden Karzinomen 90% betrug ($p = 0,071$). Betrachtet man das rezidivfreie Überleben zeigte sich hier eine signifikant bessere Prognose für endometroide Karzinome im Vergleich zu serösen Karzinomen ($p=0,005$).

1.2. Grading

Der Einfluss des Differenzierungsgrades (Makar et al. 1995) konnte in dieser Studie bestätigt werden, allerdings ohne statistische Signifikanz zu erreichen. Mäßige und schlechte Differenzierung ist mit kürzerem Gesamtüberleben ($p=0,054$) und kürzerem rezidivfreiem Überleben ($p=0,22$) assoziiert.

1.3. FIGO

Ein niedriges FIGO-Stadium ließ sich, als Marker für die Tumorausbreitung, als günstiger Prognosefaktor in zahlreichen Studien bestätigen (Tortolero-Luna et al. 1994).

In Hinblick auf die Stadien FIGO I, FIGO III und FIGO IV lässt sich dies sowohl im Gesamtüberleben als Tendenz ($p=0,024$) als auch im rezidivfreien Überleben als statistisch hoch signifikant ($p<0,0001$) nachweisen.

Das Stadium FIGO II zeigt sich in dieser Arbeit als das FIGO Stadium mit der schlechtesten Prognose, was sich mit den geringen Fallzahlen in dieser Gruppe erklären lässt.

1.4. pTN

Ein weiterer Marker für die Tumorausbreitung ist das pTNM-Stadium (Tortolero-Luna et al. 1994; Yoo et al. 2007). Hier hat sich ebenfalls ein niedriges Stadium als günstiger Prognosefaktor bezüglich des Gesamtüberleben ($p=0,001$) als auch des rezidivfreien Überleben ($p<0,001$) gezeigt.

1.5. Lymphknotenstatus

Ein Befall der Lymphknoten im Lymphabflussgebiet gilt auch im Falle des Ovarialkarzinoms als ungünstiger Prognosefaktor (Kosary 1994). Eine Verkürzung des Gesamtüberleben lässt sich tendenziell ($p = 0,216$), die des rezidivfreien Überleben statistisch signifikant ($p=0,006$) nachweisen, wenn zum Zeitpunkt der Diagnosestellung die pelvinen und paraaortalen Lymphknoten befallen sind.

1.6. Fernmetastasen

Liegen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung Fernmetastasen vor, verkürzt sich das Gesamtüberleben ($p=0,221$) und das rezidivfreie Überleben ($p=0,022$).

1.7. Tumorrest

Patientinnen deren Tumorausbreitung eine optimale chirurgische Versorgung, also R0-Resektion, erlaubt, haben eine höhere Überlebenschancen als Patientinnen mit R1-Resektion (Brun et al. 2000). Dies ließ sich in unserer Studie mit statistischer Signifikanz belegen ($p<0,0001$).

1.8. Alter zum OP-Zeitpunkt

Je älter die Patientinnen zum Diagnosezeitpunkt, desto schlechter die Prognose (Makar et al. 1995; Brun et al. 2000). Dies lässt sich mit unseren Daten belegen. Patientinnen unter 50 Jahre hatten eine höhere Gesamtüberlebenschancen als über 50 jährige ($p=0,014$) und eine geringere Wahrscheinlichkeit an einem Rezidiv zu erkranken ($p=0,148$).

2. BEDEUTUNG DES ONKOGENS CYCLIN A

Von 95 Fällen war bei 59% eine Cyclin A Überexpression festgestellt worden. Dieses Ergebnis liegt etwas höher als in anderen Publikationen. Florenes et al. (2001) stellte in einer Untersuchung an malignen Melanomen eine Überexpression in 50% der Fälle fest.

In dieser Studie wurde die gleiche Grenze von 5% Zellkernfärbung für als positiv zu wertende Fälle gewählt. Ito et al. (2000) setzten die Grenze mit 10% Zellkernfärbung etwas höher und wiesen beim hepatozellulären Karzinom in 45% eine Cyclin A Überexpression nach.

2.1. Korrelation von Cyclin A Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren

Die Cyclin A Überexpression konnte bei allen **Histologien** festgestellt werden. Tumoren mit Cyclin A Überexpression sind häufiger seröse als endometrioiden Tumoren, es besteht aber kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Cyclin A Expression und Histologie ($p=0,18$).

Eine signifikante Assoziation zwischen Cyclin A Überexpression und schlechter **Zelldifferenzierung** stellten Ito et al. (2000) in einer Studie an 110 Patienten mit hepatozellulären Karzinomen fest ($p<0,001$). Auch in unserer Untersuchung wurde eine Cyclin A Überexpression signifikant häufiger bei G3 Tumoren nachgewiesen ($p=0,003$). Dies lässt sich mit der Rolle, die Cyclin A während der Zelldifferenzierung als Regulator des Überganges von der G2- in die M-Phase und Promotor der DNA-Replikation spielt, erklären (Walker and Maller 1991; Pagano et al. 1992; Rosenblatt et al. 1992).

Im späten Stadium der Tumorklassifikation **pTNM** (T3) ließ sich eine Cyclin A Überexpression häufiger nachweisen als im frühen Stadium T1. Ito et al. (2000) stellten in ihrer Studie eine direkte Korrelation von Cyclin A Überexpression und fortgeschrittenem Tumorstadium fest ($p=0,038$). Auch diese Assoziation ist verständlich, da Cyclin A das Wachstum von Tumoren beschleunigen kann und ein Zusammenhang mit einem weiter fortgeschrittenen Tumorstadium zu erwarten ist.

Das Ergebnis unserer Studie ist allerdings wegen der geringen Fallzahlen, besonders im Stadium T2, nicht signifikant ($p=0,429$).

Ähnlich sieht es bei der Tumorklassifikation durch **FIGO** aus. Hier waren die meisten Tumoren mit Cyclin A Überexpression in den späteren Stadien FIGO III und IV ($p=0,872$).

Untersuchungen an größeren Kollektiven sind notwendig, um diese Tendenz mit statistischer Signifikanz zu belegen.

Bei Ovarialkarzinomen mit Cyclin A Überexpression waren sowohl **Lymphknotenmetastasen** als auch **Fernmetastasen** seltener. Diese Zusammenhänge sind allerdings statistisch nicht signifikant ($p=0,291$ bzw. $p=0,773$).

Eine inkomplette **Tumorentfernung** (Residualtumor > 2cm) lag signifikant häufiger bei Cyclin A überexprimierenden Tumoren vor ($p=0,011$). Dies wurde auch in der Studie von Yoon et al. (2008) an 46 Patientinnen mit epithelialen Ovarialkarzinomen festgestellt ($p=0,043$).

Es kann angenommen werden, dass durch die wachstumssteigernde Wirkung des Cyclins eine radikale Tumorentfernung erschwert wird.

2.2. Prognostische Bedeutung

Steigende Konzentrationen von Cyclin A regulieren im Zellzyklus durch Bindung an cdk1 die Progression von der G2 zur M-Phase. In der S-Phase des Zellzyklus geht Cyclin A eine Bindung mit cdk2 ein, was zur DNA-Replikation führt (Walker and Maller 1991; Pagano et al. 1992; Rosenblatt et al. 1992). Somit ist Cyclin A entscheidend für die Zellteilung. Eine Überexpression des Proteins kann zur unkontrollierten Wachstumssteigerung führen. Es gibt Hinweise, dass die Expression von Cyclin A bei Tumoren verändert und mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist. Beispielsweise war die erhöhte Expression von Cyclin A in Leiomyosarkomen signifikant mit einem schlechteren Überleben assoziiert (Zhai et al. 1999).

Auch Burkholm et al. (2001) stellten in einer Studie an 170 Patientinnen mit Mammakarzinom eine statistisch signifikante Assoziation zwischen einer Cyclin A Überexpression und einer frühen Rezidivkrankung ($p=0,001$ univariate Analyse, $p=0,006$ multivariate Analyse) sowie einer schlechten Überlebensprognose ($p<0,0001$) fest.

In unserer Studie zeigten sich ähnliche Tendenzen. Patientinnen mit einer Cyclin A Überexpression hatten insgesamt eine schlechtere 5-JÜR von 69% im Gegensatz zu 81% bei negativer Cyclin A Expression. Dieses Ergebnis war allerdings statistisch nicht signifikant

($p=0,298$). Die Tendenz zur früheren Rezidivkrankung bestätigte sich ebenfalls ohne statistische Signifikanz ($p=0,306$).

Auch die Assoziation mit negativen prognostischen Markern wie schlechtem Differenzierungsgrad und makroskopischem Tumorrest unterstreicht die Rolle als negativer prognostischer Faktor.

In der Überlebensstudie wiesen schlecht differenzierte Tumoren mit Cyclin A Überexpression sowohl ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben ($p=0,045$) als auch ein grenzwertig signifikant schlechteres rezidivfreies Überleben auf ($p=0,072$).

Bei gut differenzierten Tumoren ließ sich dies nur im Trend nachweisen ($p=0,153$ bzw. $p=0,239$).

Bei mäßig differenzierten Tumoren weisen die Cyclin A negativen Tumoren sogar ein deutlich schlechteres Überleben als die Cyclin A positiven Tumoren auf ($p=0,018$).

3. BEDEUTUNG DES ONKOGENS CYCLIN B₁

Cyclin B₁ ist in der Rolle als Koordinator der Mitose sowohl im Zellkern- als auch im Zytoplasma zu finden. In früheren Untersuchungen, wie zum Beispiel an Karzinomen des Ösophagus (Murakami et al. 1999) und des Mundbodens (Kushner et al. 1999) ließ sich eine Cyclin B₁ Expression hauptsächlich in den Kernen der Tumorzellen nachweisen. Andere Untersuchungen zeigten die Lokalisation im Zytoplasma (Hassan et al. 2001; Milde-Langosch et al. 2001; Winters et al. 2001). Letztere sogar mit statistischer Signifikanz ($p=0,0001$). Angesichts der Tatsache, dass Cyclin B₁ in der G₂-Phase im Zytoplasma das Maximum der Expression erreicht hat während es in der Mitose, also zum Zeitpunkt der Einschleusung in den Zellkern, bereits abgebaut wird, erscheint eine Zytoplasmafärbung sinnvoll.

Von 95 Fällen zeigten 14 Fälle (15%) mit einer Plasmafärbung von >10% eine Cyclin B₁ Überexpression.

Dies ist etwas geringer als in anderen Studien. Hassan et al. (2001) wiesen bei 41 Patienten mit SCC (Squamos Cell Carcinoma) der Zunge eine Überexpression in 37% der Fälle auf. Soria et al. (2000) untersuchten 77 nicht-kleinzellige Bronchialkarzinome und stellten bei 22% eine Cyclin B₁ Überexpression fest.

Diese Unterschiede können mit der Wahl des verwendeten Primärantikörpers zusammenhängen, deren Sensitivität stark variiert (Press et al. 1994).

Bei einer Untersuchung an 219 Patienten mit Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC) wurde eine Cyclin-B₁-Überexpression sogar nur in 10 Fällen (4,6%) nachgewiesen (Yoo et al. 2007).

3.1. Korrelation von Cyclin B₁ Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren

In unserer Studie verteilte sich die Cyclin B₁ Überexpression im Wesentlichen auf Tumoren mit seröser und endometrioider **Histologie**. Diese Korrelation war statistisch nicht signifikant ($p=0,147$).

In einer Studie an 41 Patientinnen mit Endometriumkarzinom korrelierte eine starke Cyclin B₁ Expression signifikant ($p=0,008$) mit einem schlechteren **Grading** (G3-4) (Milde-Langosch et al. 2001).

Diese Tendenz zeigte sich auch in unserem Patientenkollektiv, allerdings ohne statistische Signifikanz ($p=0,372$).

Wie auch in der Studie von Yoo et al. (2007) an 219 NSCLC konnte weder ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem T-Stadium der **pTNM**-Klassifikation ($p=0,291$) noch dem klinischem Stadium (bei uns **FIGO** ($p=0,609$)) und einer CyclinB₁ Überexpression festgestellt werden. Dies mag in beiden Fällen an der geringen Anzahl der Cyclin B₁ positiven Fälle gelegen haben.

In einer Studie an Nierenzellkarzinomen (Ikuerowo et al. 2006) konnte eine statistisch signifikante Korrelation ($p<0,01$) zwischen Tumorstadium und positiver Immunhistologie gezeigt werden.

Tendenziell sind in unserem Kollektiv bei den Ovarialkarzinomen mit Cyclin B₁ Überexpression sowohl **Lymphknotenmetastasen** als auch **Fernmetastasen** seltener. Diese Zusammenhänge sind allerdings statistisch nicht signifikant ($p=0,342$ bzw. $p=0,427$). Diese Tendenz zeigte sich auch bei Yoo et al. (2007) ebenfalls ohne statistische Signifikanz ($p=0,948$).

Ikuerowo et al. (2006) wiederum konnten einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen Cyclin B₁ Überexpression und Lymphknotenstatus ($p<0,01$) und Fernmetastasen ($p=0,01$) beweisen.

Die komplette **Tumorentfernung** gelang in fast allen Fällen mit Cyclin B₁Überexpression, allerdings ohne statistische Aussagekraft ($p=0,789$).

3.2. Prognostische Bedeutung

Da Cyclin B₁ einen direkten Effekt auf die Mitose hat, könnte eine Überexpression zur unkontrollierten Zellproliferation führen. Cyclin B₁ Überexpressionen sind in Mamma-, Kolon-, Prostata und Bronchialkarzinomen beschrieben worden (Mashal et al. 1996; Kawamoto et al. 1997; Wang et al. 1997; Soria et al. 2000).

Hinweise auf eine direkte Assoziation der veränderten Expression bei Tumoren auf die Prognose ergaben sich in zahlreichen Studien.

Sowohl bei Patienten mit Mammakarzinom (Winters et al. 2001), als auch bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der Zunge (Hassan et al. 2001) war eine starke Expression des Cyclin B₁ mit einer schlechten Prognose assoziiert.

Bei Soria et al. (2000) hatten Patienten, deren Nicht-kleinzellige Bronchialkarzinome Cyclin B₁ überexprimierten eine signifikant kürzere Gesamtüberlebenszeit als Patienten ohne Cyclin B₁ Überexpression ($p=0,02$).

In unserer Studie konnte Cyclin B₁ nicht in den Zusammenhang mit einem schlechteren Gesamtüberleben gebracht werden. Sowohl die 5-JÜR als auch das rezidivfreie Überleben waren bei den Cyclin B₁ negativen Fällen mit 72 bzw. 55% schlechter als bei den Fällen mit Überexpression (91 bzw. 90%). Dieses Ergebnis erreichte keine statistische Signifikanz ($p=0,088$ bzw. $p=0,094$).

Auch die Assoziation von Überlebenszeit mit negativ prognostischen Markern lies sich nicht nachweisen.

Lediglich Patientinnen mit endometrioiden Tumoren weisen bei positiver Cyclin B₁ Expression eine niedrigere 5-JÜR (80%) auf als Patientinnen mit negativer Expression (93%). Dieses Ergebnis war statistisch jedoch nicht signifikant ($p=0,800$).

Bei der Analyse aller anderen bekannten Prognosefaktoren zeigten Tumoren mit Cyclin B₁ Überexpression regelmäßig bessere Gesamtüberlebenszeiten und längere rezidivfreie Überlebenszeiten. Statistisch signifikant war das jedoch nur bei den Patientinnen ohne

Fernmetastasen. Hier war die 5-JÜR bei Cyclin B₁ Überexpression mit 100% besser als bei den Cyclin B₁ negativen Tumoren, wo die 5-JÜR bei 76% lag (p=0,039).

Insgesamt ist dies mit der kleinen Fallzahl von Tumoren mit Cyclin B₁ Überexpression (14) im Vergleich zu denen mit negativer Immunhistologie (81) zu erklären.

4. BEDEUTUNG DES TUMORSUPPRESSORGENS P16

Die Inaktivierung oder Herunterregulierung des Zellzyklusinhibitors p16 ist an der Entstehung zahlreicher menschlicher Karzinome beteiligt (Kamb et al. 1994) und ist mit biologisch aggressiveren Karzinomen assoziiert (Reed et al. 1995).

Sui et al. (2000) untersuchten in einer Studie 103 Ovarialkarzinome histologisch auf die Expression von p16. Es zeigte sich, dass maligne Tumoren p16 weniger stark exprimieren als benigne (40% der malignen Tumoren waren p16-positiv, im Vergleich zu 70 % der benignen Tumoren) (p=0,033).

Dies entspricht in etwa den Zahlen unserer Studie, wo 46% der Fälle eine Kernzellfärbung von mehr als 10% zeigten und als p16-positiv gewertet wurden.

Orientierend an den Studien von Sui et al. (2000), Saegusa et al. (2001) und Maitra et al. (2001) zählten auch wir nur die Zellen mit angefärbten Zellkern als positiv. Hintergrund- und zytoplasmatische Färbungen wurden nicht gezählt, da diese von vielen Betrachtern unspezifisch angesehen wird (Reed et al. 1995; Talve et al. 1997).

4.1. Korrelation von p16 Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren

Im Gegensatz zu Sui et al. (2000) konnte in unserer Studie keine statistische Tendenz im Zusammenhang von p16 Expression und den einzelnen **Histologien** festgestellt werden. In dessen Arbeit zeigte sich eine p16 Expression tendenziell häufiger bei muzinösen Karzinomen (p=0,085).

Gleichzeitig war der Verlust der p16-Expression mit niedrigen **Differenzierungsgraden** assoziiert (p=0,036) (Sui et al. 2000). 73% der G₂ und G₃ Tumoren waren p16 negativ, während es bei den G₁ Tumoren nur 43% waren.

In unserer Studie war das Verhältnis 65% (G₂ und G₃) zu 35% (G₁), jedoch ohne statistische Signifikanz (P=0,474).

In einer Studie an 219 Patienten mit Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC) wurden signifikante Unterschiede im T-Stadium der **pTNM**-Klassifikation und im klinischen Stadium zwischen p16 negativen und p16 positiven Patienten gefunden. Eine normale p16 Expression war bei Patienten im Stadium T1 häufiger als in den Stadien T2-3 ($p=0,049$) ebenso wie bei Patienten im klinischen Stadium I als in den Stadien II-III ($p=0,038$) (Yoo et al. 2007).

In unserer Studie zeigten sich ähnliche Tendenzen bei den Karzinomen mit verringerter Expression von p16. Hier waren die höheren Stadien (T2-3) mit 62,9% häufiger als das frühe pathologische Tumorstadium (T1) mit 37,3% ($p=0,767$).

Auch die klinischen Stadien **FIGO** III-IV wiesen häufiger p16 negative Tumoren auf als die Stadien FIGO I-II (63,2% versus 36,8%) ($p=0,537$).

Der Zusammenhang zwischen der p16 Immunhistologie und **Lymphknotenmetastasen** zeigte sich in unserer Studie als grenzwertig signifikant ($p=0,067$). Eine positive p16 Expression war mit metastasenfremen Lymphknoten, eine negative p16 Expression mit bereits vorhandenen Lymphknotenmetastasen tendenziell assoziiert.

Zu gleichen Ergebnissen kamen Sui et al. (2000) und Yoo et al. (2007) jedoch ohne statistische Signifikanz.

Das Auftreten von **Fernmetastatsen** war bei positiven und negativen p16 Immunhistologien gleich verteilt ($p=1,000$).

Bei p16 positiven Tumoren gelang in 88% der Fälle eine komplette Tumorentfernung, bei 12% verblieb ein **Tumorrest** ($p=0,201$).

4.2. Prognostische Bedeutung

p16 als Mitglied der INK4 Familie formt direkt Komplexe mit cdk4 und cdk6, wodurch diese inaktiviert werden (Sherr 1994; Sherr and Roberts 1995). Eine Komplexbildung von Cyclin D₁ und cdk4 und damit der Durchgang durch die G₁ Phase des Zellzyklus, einer kritischen Phase der Zellproliferation, wird somit reguliert. Fortschritte in der Zellzyklusforschung haben gezeigt, dass ein Verlust der G₁ Phasen Regulierung maßgeblich an der malignen Transformation von Zellen beteiligt ist (Sherr 1994). Umgekehrt wurde allen cdkIs als

Tumorsuppressoren die Eigenschaft zugesprochen, den Zellzyklus zu stoppen und das unregulierte Wachstum von malignen Zellen zu unterbinden (Sui et al. 2000).

Verschiedene Ovarialkarzinomstudien konnten einen Zusammenhang zwischen hoher p16 Expression und schlechter Prognose belegen (Dong et al. 1997; Fujita et al. 1997).

Andere Studien zeigten ein konträres Ergebnis. Sui et al. (2000) beobachteten eine tendenzielle Korrelation zwischen p16 Expression und längerer Gesamtüberlebenszeit ($p=0,081$). In einer Studie an 73 Proben von Ovarialkarzinomen von Surowiak et al. (2008) wurde bewiesen, dass eine verringerte p16 Expression charakteristisch für Fälle mit kürzerer Gesamtüberlebenszeit war.

Mögliche Erklärungen für diese unterschiedlichen Ergebnisse können in den technischen Methoden, den Auswertungskriterien, und der Patientenauswahl liegen. Außerdem könnten die Unterschiede zwischen den zahlreichen zur Auswahl stehenden Primärantkörpern, deren Verdünnung, Inkubationszeit und Inkubationstemperatur eine wichtige Rolle spielen (Sui et al. 2000).

In unserer Studie hatten Patientinnen deren Tumoren p16 expremierten eine höhere Gesamtüberlebenszeit als Patientinnen, deren Tumoren p16 negativ waren ($p=0,140$).

Auch die rezidivfreie Zeit war bei Tumoren mit positiver Immunhistologie länger ($p=0,195$).

Eine Tendenz in der Assoziation von bekannten Prognosefaktoren zur p16 Expression konnte in der Überlebensstudie teilweise nachgewiesen werden.

Bei den endometrioiden Tumoren mit positiver p16 Expression kam es in keinem Fall zur Rezidivkrankung. Damit lag die rezidivfreie 5-JÜR höher als bei den Fällen mit negativer Immunhistologie ($p=0,079$).

In der Gruppe der schlecht differenzierten Tumoren (GIII) war die rezidivfreie 5-JÜR ebenfalls höher, wenn die Tumoren p16 positiv waren ($p=0,084$).

Im Stadium pT1 beträgt die rezidivfreie 5-JÜR bei negativer Immunhistologie 80%, bei positiver p16 Expression liegt sie bei 100%, da hier keine der 16 Patientinnen an einem Rezidiv erkrankte ($p=0,086$).

Eine statistisch signifikante Korrelation von Gesamtüberlebenszeit und p16 Expression konnte bei den Tumoren im FIGO-Stadium II nachgewiesen werden. Die 5-JÜR war bei den p16 positiven Tumoren höher als bei den Fällen mit verminderter p16 Expression ($p=0,046$).

5. BEDEUTUNG DES ONKOGENS CYCLIN CDK2

In unserer Studie zeigten (29%) der Fälle eine positive cdk2 Färbung, 71% waren immunhistochemisch cdk 2 negativ.

Dieses Ergebnis unterscheidet sich von anderen Studien in denen eine cdk2 Überexpression in 58% (Sui et al. 2001) bzw. 61% (Al-Aynati et al. 2004) der Fälle nachgewiesen werden.

Bei Sui et al. (2001) könnten sich bei identischem Versuchsprotokoll die Unterschiede durch die Anzahl der untersuchten Tumoren ergeben. Da hier benigne, borderline und maligne Tumoren untersucht wurden, lag die Zahl der Karzinome mit 47 deutlich unter der Zahl in unserer Studie.

Al-Aynati (2004) wählten den Grenzwert für positive Immunhistologie mit 5% kleiner als wir, so dass damit eine höhere Zahl positiver Fälle erklärt werden könnte.

5.1. Korrelation von cdk2 Proteinüberexpression mit klinischen und histologischen Daten/Prognosefaktoren

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen cdk2-Überexpression und den verschiedenen **Histologien** konnte nicht gefunden werden ($p=0,688$).

Auch wenn die meisten Tumoren mit cdk2 Überexpression schlecht differenziert (G3) waren, ist auch hier keine signifikante Aussage bezüglich des Zusammenhanges zwischen cdk2 Expression und **Differenzierungsgrad** möglich ($p=1,000$).

Ebenfalls bestand keine Korrelation zwischen cdk2 Expression und fortgeschrittenen **pTNM-** oder **FIGO-**Tumorstadien ($p=0,945$ bzw. $p=0,807$).

Auch die restlichen bekannten Prognosefaktoren wie **Lymphknotenmetastasen**, **Fernmetastasen** und postoperativer **Tumorrest** konnten nicht in Zusammenhang mit erhöhter cdk2Expression gebracht werden ($p=0,092$; $p=0,765$; $p=0,475$)

Insgesamt entsprechen diese Aussagen den Ergebnissen vorhergehender Studien.

Weder Sui et al. (2001) noch Marone et al. (1998) konnten eine signifikante Korrelation zwischen cdk2 Überexpression und klinisch-pathologischen Parametern nachweisen.

5.2. Prognostische Bedeutung

Auch die Aktivität der Cyclin-abhängige-Kinase 2 unterliegt zyklischen Veränderungen. In der späten G₁- Phase bzw. der frühen S-Phase lässt sich ein Aktivitätsanstieg feststellen. Aktiviertes cdk2 geht in dieser Zeit eine Komplexbildung mit Cyclin E (G₁) und Cyclin A (S) ein, was in beiden Fällen den Zellzyklus stimuliert (Rosenblatt et al. 1992).

In einer Studie an 103 Ovarialtumorpatientinnen untersuchten Sui et al. (2001) den Zusammenhang zwischen cdk2-Expression und der Malignität der Ovarialtumoren. Dabei stellten sie fest, dass die Expression von cdk2 von benignen über Borderline- bis zu malignen Tumoren zunimmt. In diesem Zusammenhang war das Ergebnis signifikant ($p < 0,0001$). Patientinnen mit erhöhter cdk2 Expression zeigten tendenziell eine kürzere Gesamtüberlebensrate ($p = 0,079$).

Diese Korrelation konnte in unserer Studie nicht nachgewiesen werden.

In der Überlebensanalyse zeigte sich bei den GII-Tumoren für die Tumoren mit cdk2 Überexpression eine höhere 5-JÜR als für Tumoren mit negativer cdk2 Expression ($p = 0,046$). Ähnlich sieht es bei den GII-Tumoren in Zusammenhang mit der Entstehung eines Rezidives aus. Hier blieben die cdk2 positiven Fälle rezidivfrei während die rezidivfreie 5-JÜR der cdk2 negativen Tumoren 54% beträgt ($p = 0,028$).

Das zu erwartende Ergebnis einer günstigeren Überlebensrate durch niedrige cdk2-Expression trat mit statistischer Signifikanz nicht ein. Dies mag sicher mit der geringen Fallzahl und der ungleichen Verteilung auf die jeweiligen Gruppen (mehr als die Hälfte der Fälle waren cdk2 negativ) zusammenhängen.

Im Stadium FIGO II konnte eine Assoziation zwischen cdk2 Überexpression und schlechterer rezidivfreier Überlebensprognose in der Tendenz nachgewiesen werden. Sowohl die 5-JÜR als auch die mediane rezidivfreie Gesamtüberlebenszeit lag hier niedriger als bei den cdk2-negativen Fälle ($p = 0,083$).

Waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits Lymphknotenmetastasen vorhanden, betrug die mediane Überlebenszeit der cdk2 negativen Fälle 151 Monate, die der cdk2 positiven Fälle 40 Monate. Dies fällt zusammen mit einer 5-JÜR von 67% bei cdk2 negativen und 0% bei cdk2 positiven Fällen. Damit konnte in unserer Studie der Zusammenhang zwischen cdk2 Überexpression und dem negativ prognostischem Marker der Lymphknotenmetastasierung in der Tendenz aufgezeigt werden ($p=0,052$).

V. ZUSAMMENFASSUNG

Weltweit ist das Ovarialkarzinom der sechsthäufigste maligne Tumor der Frau. Mit etwa 9000 Neuerkrankungen pro Jahr allein in Deutschland wird das Ovarialkarzinom in westlichen Industrieländern zur führenden Todesursache bei den Genitalmalignomen.

Hinzu kommt, dass die meisten Erkrankungen wegen der fehlenden Frühsymptome und Screeningmöglichkeiten erst im fortgeschrittenem Tumorstadium diagnostiziert werden. Die Langzeitprognose ist folglich schlecht, obwohl mittlerweile weltweit eine 5-Jahres-Überlebensrate von 46,4% erreicht wird.

Das Ziel dieser Arbeit liegt in der Untersuchung der Zellzyklusregulatorproteine Cyclin A, Cyclin B₁, p16 und cdk2 beim Ovarialkarzinom.

Es soll ermittelt werden ob die Überexpression der vier Proteine im Zusammenhang mit den bereits bekannten Prognosefaktoren Histologie, Grading, Stadium und Tumorrest steht und Einfluss auf das Gesamtüberleben und das rezidivfreie Überleben hat.

Im Patientenkollektiv konnte der bereits bekannte Einfluss von klinischen Prognosefaktoren auf das Überleben fast ausschließlich statistisch signifikant nachgewiesen werden.

Seröse Karzinome zeigten tendentiell schlechtere Überlebensraten als endometrioide Tumoren ($p = 0,071$) und ein signifikant schlechteres rezidivfreies Überleben ($p = 0,005$).

Mäßige und schlechte Differenzierung ist mit kürzerem Gesamtüberleben ($p = 0,054$) und kürzerem rezidivfreiem Überleben ($p = 0,22$) assoziiert.

Ein niedriges FIGO-Stadium ließ sich als günstiger Prognosefaktor bestätigen. In Hinblick auf die Stadien FIGO I, FIGO III und FIGO IV lässt sich dies sowohl im Gesamtüberleben als Tendenz ($p = 0,024$) als auch im rezidivfreien Überleben als statistisch hoch signifikant ($p < 0,0001$) nachweisen.

Auch bei der pTNM-Klassifikation hat sich ein niedriges Stadium als günstiger Prognosefaktor bezüglich des Gesamtüberleben ($p = 0,001$) als auch des rezidivfreien Überleben ($p < 0,001$) gezeigt.

Eine Verkürzung des rezidivfreien Überleben lässt sich statistisch signifikant ($p = 0,006$) nachweisen, wenn zum Zeitpunkt der Diagnosestellung die pelvinen und paraaortalen Lymphknoten befallen sind.

Liegen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung Fernmetastasen vor, verkürzt sich das rezidivfreie Überleben ($p=0,022$).

Patientinnen deren Tumorausbreitung eine optimale chirurgische Versorgung, also R0-Resektion, erlaubt, haben eine höhere Überlebenschancen als Patientinnen mit R1-Resektion ($p<0,0001$).

Je älter die Patientinnen zum Diagnosezeitpunkt, desto schlechter die Prognose. Patientinnen unter 50 Jahre hatten eine höhere Gesamtüberlebenschancen als über 50 jährige ($p=0,014$).

Cyclin A ist in seiner Rolle als Onkogen entscheidend für die Progression des Zellzyklus und die Zellteilung. Eine Überexpression des Proteins kann zur unkontrollierten Wachstumssteigerung führen und damit zur Karzinogenese führen und muss als prognostisch ungünstig angesehen werden.

Eine Assoziation mit bekannten ungünstigen Prognosefaktoren ließ sich in unserer Studie belegen. So wurde eine Cyclin A Überexpression signifikant häufiger bei G3 Tumoren ($p=0,003$) und inkomplett entfernten Tumoren (Residualtumor > 2cm) ($p=0,011$) nachgewiesen.

In der Überlebensstudie wiesen schlecht differenzierte Tumoren mit Cyclin A Überexpression sowohl ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben ($p=0,045$) als auch ein grenzwertig signifikant schlechteres rezidivfreies Überleben auf ($p=0,072$).

Cyclin B₁ stellt im Zellzyklus den Übergang von der G₂- in die M-Phase sicher. Mit der Bewegung zwischen Zytoplasma und Zellkern scheint Cyclin B₁ eine große Rolle in der Koordination der Mitose zu spielen.

Eine negativ prognostische Bedeutung des Onkogens Cyclin B₁ konnte in unserer Studie weder im Zusammenhang mit den bereits bekannten Prognosefaktoren noch im Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben oder dem rezidivfreien Überleben bewiesen werden.

P16 hat als Mitglied der INK4-Familie die Funktion den Zellzyklus in der G1-Phase zu unterbrechen. Der Eintritt in die Synthese-Phase wird damit verhindert. Da so das unregulierte Wachstum von malignen Zellen gestoppt werden kann, agiert p16 als Tumorsuppressoren. Eine Überexpression wird als prognostisch günstig angesehen.

Eine Assoziation mit bekannten Prognosefaktoren konnte in unserer Studie gezeigt werden. So war eine p16 Überexpression tendentiell mit metastasenfremen Lymphknoten ($p=0,067$) assoziiert.

In der Überlebensstudie lag bei bekannter p16 Überexpression die rezidivfreie 5-JÜR bei den endometrioiden Tumoren ($p=0,079$), in der Gruppe der schlecht differenzierten Tumoren ($p=0,084$) und im Stadium pT1 ($p=0,086$) in der Tendenz höher als bei den jeweiligen Tumoren ohne p16 Überexpression.

Eine statistisch signifikante Korrelation von Gesamtüberlebenszeit und p16 Expression konnte bei den Tumoren im FIGO-Stadium II nachgewiesen werden. Die 5-JÜR war bei den p16 positiven Tumoren höher als bei den Fällen mit verminderter p16 Expression ($p=0,046$).

Cdk2 stimuliert durch seine Komplexbildung mit den Cyclinen E und A den Zellzyklus. Es agiert somit ebenfalls als Onkogen und kann bei Überexpression zur Karzinogenese führen.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer cdk Überexpression und ungünstigen klinischen Prognosefaktoren konnte in unserer Studie nicht belegt werden.

In der Überlebensstudie konnte eine Assoziation zwischen cdk2 Überexpression und schlechterer rezidivfreier Überlebensprognose im Stadium FIGO II in der Tendenz nachgewiesen werden ($p=0,083$).

Auch der Zusammenhang zwischen cdk2-Überexpression und dem negativ prognostischem Marker der Lymphknotenmetastasierung konnte in der Überlebensanalyse in der Tendenz aufgezeigt werden ($p=0,052$).

LITERATURVERZEICHNIS

- Al-Aynati, M. M., N. Radulovich, J. Ho and M. S. Tsao (2004). "Overexpression of G1-S cyclins and cyclin-dependent kinases during multistage human pancreatic duct cell carcinogenesis." *Clin Cancer Res* 10(19): 6598-605.
- Antoniou A., Pharoah PD., Narod S., et al. (2003). "Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies". *Am J Hum Genet* 72: 1117–1130.
- Aunoble, B., R. Sanches, E. Didier and Y. J. Bignon (2000). "Major oncogenes and tumor suppressor genes involved in epithelial ovarian cancer (review)." *Int J Oncol* 16(3): 567-576.
- Berchuck, A., M. F. Kohler and R. C. Bast, Jr. (1992). "Oncogenes in ovarian cancer." *Hematol Oncol Clin North Am* 6(4): 813-827.
- Berek, J. S., K. Bertelsen, A. du Bois, et al. (1999). "Advanced epithelial ovarian cancer: 1998 consensus statements." *Ann Oncol* 10 Suppl 1: 87-92.
- Bischoff, J., St. Braun, N. Harbeck (2001). "Hormontherapie, Gentherapie, Immuntherapie." *Manual Maligne Ovarialtumoren Tumorzentrum München (6.Auflage): 46-48.*
- Bishop, J. M. (1991). "Molecular themes in oncogenesis." *Cell* 64(2): 235-248.
- Blanquet, V., J. A. Wang, X. Chenivresse, et al. (1990). "Assignment of a human cyclin A gene to 4q26-q27." *Genomics* 8(3): 595-597.
- Braly, P. S. and R. R. Klevecz (1993). "Flow cytometric evaluation of ovarian cancer." *Cancer* 71(4 Suppl): 1621-1628.
- Bristow R.E., Tomacruz R.S., Armstrong D.K., Trimble E.L., Montz F.J. (2002) "Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis". *J Clin Oncol* 20: 1248–1259
- Brun, J. L., A. Feyler, G. Chene, et al. (2000). "Long-term results and prognostic factors in patients with epithelial ovarian cancer." *Gynecol Oncol* 78(1): 21-27.
- Burges, A., Harbeck, N., Janni, W. et al. (2007). "Molekularbiologische Therapieansätze". *Manual Maligne Ovarialtumoren Tumorzentrum München (8.Auflage): 68-72.*
- Bukholm, I. R., G. Bukholm and J. M. Nesland (2001). "Over-expression of cyclin A is highly associated with early relapse and reduced survival in patients with primary breast carcinomas." *Int J Cancer* 93(2): 283-287.

- Cannistra S.A., Matulonis U., Penson R. et al. (2006). "Bevacizumab in patients with advanced platinum-resistant ovarian cancer". *J Clin Oncol* 24 (Suppl), 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I: abstract 5006
- Craanen, M. E., P. Blok, G. J. Offerhaus and G. N. Tytgat (1996). "Recent developments in hereditary nonpolyposis colorectal cancer." *Scand J Gastroenterol Suppl* 218: 92-97.
- Dembo, A. J., M. Davy, A. E. Stenwig, et al. (1990). "Prognostic factors in patients with stage I epithelial ovarian cancer." *Obstet Gynecol* 75(2): 263-273.
- Demetrick, D. J., H. Zhang and D. H. Beach (1994). "Chromosomal mapping of human CDK2, CDK4, and CDK5 cell cycle kinase genes." *Cytogenet Cell Genet* 66(1): 72-74.
- Dong, Y., M. D. Walsh, M. A. McGuckin, et al. (1997). "Increased expression of cyclin-dependent kinase inhibitor 2 (CDKN2A) gene product P16INK4A in ovarian cancer is associated with progression and unfavourable prognosis." *Int J Cancer* 74(1): 57-63.
- du Bois, A., J. P. Neijt and J. T. Thigpen (1999). "First line chemotherapy with carboplatin plus paclitaxel in advanced ovarian cancer--a new standard of care?" *Ann Oncol* 10 Suppl 1: 35-41.
- Elledge, S. J. (1996). "Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis." *Science* 274(5293): 1664-1672.
- Evans, T., E. T. Rosenthal, J. Youngblom, D. Distel and T. Hunt (1983). "Cyclin: a protein specified by maternal mRNA in sea urchin eggs that is destroyed at each cleavage division." *Cell* 33(2): 389-396.
- Fajac, A., J. Benard, C. Lhomme, et al. (1995). "c-erbB2 gene amplification and protein expression in ovarian epithelial tumors: evaluation of their respective prognostic significance by multivariate analysis." *Int J Cancer* 64(2): 146-151.
- Fathalla, M. F. (1971). "Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia?" *Lancet* 2(7716): 163.
- Florenes, V. A., G. M. Maelandsmo, R. Faye, J. M. Nesland and R. Holm (2001). "Cyclin A expression in superficial spreading malignant melanomas correlates with clinical outcome." *J Pathol* 195(5): 530-536.
- Ford, D. and D. F. Easton (1995). "The genetics of breast and ovarian cancer." *Br J Cancer* 72(4): 805-812.
- Fujita, M., T. Enomoto, T. Haba, et al. (1997). "Alteration of p16 and p15 genes in common epithelial ovarian tumors." *Int J Cancer* 74(2): 148-55.
- Gajewski, W. H., A. F. Fuller, Jr., C. Pastel-Ley, T. J. Flotte and D. A. Bell (1994). "Prognostic significance of DNA content in epithelial ovarian cancer." *Gynecol Oncol* 53(1): 5-12.

- Gallion, H. H., M. Pieretti, P. D. DePriest and J. R. van Nagell, Jr. (1995). "The molecular basis of ovarian cancer." *Cancer* 76(10 Suppl): 1992-1997.
- Geisler, J. P., H. E. Geisler, G. A. Miller, et al. (2000). "p53 and bcl-2 in epithelial ovarian carcinoma: their value as prognostic indicators at a median follow-up of 60 months." *Gynecol Oncol* 77(2): 278-282.
- Godwin, A. K., J. R. Testa, L. M. Handel, et al. (1992). "Spontaneous transformation of rat ovarian surface epithelial cells: association with cytogenetic changes and implications of repeated ovulation in the etiology of ovarian cancer." *J Natl Cancer Inst* 84(8): 592-601.
- Harris, C. C. and M. Hollstein (1993). "Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene." *N Engl J Med* 329(18): 1318-1327.
- Hassan, K. A., A. K. El-Naggar, J. C. Soria, et al. (2001). "Clinical significance of cyclin B1 protein expression in squamous cell carcinoma of the tongue." *Clin Cancer Res* 7(8): 2458-2462.
- Heintz, A. P., F. Odicino, P. Maisonneuve, et al. (2003). "Carcinoma of the ovary." *Int J Gynaecol Obstet* 83 Suppl 1: 135-166.
- Henshall, S. M., D. I. Quinn, C. S. Lee, et al. (2001). "Overexpression of the cell cycle inhibitor p16INK4A in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia predicts early relapse in prostate cancer patients." *Clin Cancer Res* 7(3): 544-550.
- Hinds, P. W. and R. A. Weinberg (1994). "Tumor suppressor genes." *Curr Opin Genet Dev* 4(1): 135-141.
- Hsu, S. M. and L. Raine (1981). "Protein A, avidin, and biotin in immunohistochemistry." *J Histochem Cytochem* 29(11): 1349-1353.
- Hunter, T. (1991). "Cooperation between oncogenes." *Cell* 64(2): 249-270.
- Ikurowo, S. O., M. A. Kuczyk, M. Mengel, et al. (2006). "Alteration of subcellular and cellular expression patterns of cyclin B1 in renal cell carcinoma is significantly related to clinical progression and survival of patients." *Int J Cancer* 119(4): 867-874.
- Ito, Y., T. Takeda, M. Sakon, et al. (2000). "Expression and prognostic role of cyclin-dependent kinase 1 (cdc2) in hepatocellular carcinoma." *Oncology* 59(1): 68-74.
- Kamb, A., N. A. Gruis, J. Weaver-Feldhaus, et al. (1994). "A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types." *Science* 264(5157): 436-40.
- Kamb, A., D. Shattuck-Eidens, R. Eeles, et al. (1994). "Analysis of the p16 gene (CDKN2) as a candidate for the chromosome 9p melanoma susceptibility locus." *Nat Genet* 8(1): 23-26.

- Kawamoto, H., H. Koizumi and T. Uchikoshi (1997). "Expression of the G2-M checkpoint regulators cyclin B1 and cdc2 in nonmalignant and malignant human breast lesions: immunocytochemical and quantitative image analyses." *Am J Pathol* 150(1): 15-23.
- Kosary, C. L. (1994). "FIGO stage, histology, histologic grade, age and race as prognostic factors in determining survival for cancers of the female gynecological system: an analysis of 1973-87 SEER cases of cancers of the endometrium, cervix, ovary, vulva, and vagina." *Semin Surg Oncol* 10(1): 31-46.
- Kuerbitz, S. J., B. S. Plunkett, W. V. Walsh and M. B. Kastan (1992). "Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation." *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(16): 7491-7495.
- Kuhn, W., F. Janicke, L. Pache, et al. (1993). "Developments in the therapy of advanced FIGO III ovarian cancer." *Geburtshilfe Frauenheilkd* 53(5): 293-302.
- Kuhn, W., B. Schmalfeldt, U. Reuning, et al. (1999). "Prognostic significance of urokinase (uPA) and its inhibitor PAI-1 for survival in advanced ovarian carcinoma stage FIGO IIIc." *Br J Cancer* 79(11-12): 1746-1751.
- Kushner, J., G. Bradley, B. Young and R. C. Jordan (1999). "Aberrant expression of cyclin A and cyclin B1 proteins in oral carcinoma." *J Oral Pathol Med* 28(2): 77-81.
- Leoncini, L., C. Bellan, A. Cossu, et al. (1999). "Retinoblastoma-related p107 and pRb2/p130 proteins in malignant lymphomas: distinct mechanisms of cell growth control." *Clin Cancer Res* 5(12): 4065-4072.
- Levine, A. J., M. E. Perry, A. Chang, et al. (1994). "The 1993 Walter Hubert Lecture: the role of the p53 tumour-suppressor gene in tumorigenesis." *Br J Cancer* 69(3): 409-416.
- Li, J., A. N. Meyer and D. J. Donoghue (1997). "Nuclear localization of cyclin B1 mediates its biological activity and is regulated by phosphorylation." *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(2): 502-507.
- Lowe, S. W., H. E. Ruley, T. Jacks and D. E. Housman (1993). "p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents." *Cell* 74(6): 957-967.
- Lukas, C., C. S. Sorensen, E. Kramer, et al. (1999). "Accumulation of cyclin B1 requires E2F and cyclin-A-dependent rearrangement of the anaphase-promoting complex." *Nature* 401(6755): 815-818.
- Lutz, L., W. Kuhn, K. Späthe (2001). "Chemotherapie". *Manual Maligne Ovarialtumoren Tumorzentrum München* (6.Auflage): 32-42.

- Lynch, H. T., T. C. Smyrk, P. Watson, et al. (1993). "Genetics, natural history, tumor spectrum, and pathology of hereditary nonpolyposis colorectal cancer: an updated review." *Gastroenterology* 104(5): 1535-1549.
- Maitra, A., H. Roberts, A. G. Weinberg and J. Geradts (2001). "Loss of p16(INK4a) expression correlates with decreased survival in pediatric osteosarcomas." *Int J Cancer* 95(1): 34-38.
- Makar, A. P., M. Baekelandt, C. G. Trope and G. B. Kristensen (1995). "The prognostic significance of residual disease, FIGO substage, tumor histology, and grade in patients with FIGO stage III ovarian cancer." *Gynecol Oncol* 56(2): 175-180.
- Marone, M., G. Scambia, C. Giannitelli, et al. (1998). "Analysis of cyclin E and CDK2 in ovarian cancer: gene amplification and RNA overexpression." *Int J Cancer* 75(1): 34-9.
- Marx, D., H. Meden, T. Brune, et al. (1997). "Mib-1 evaluated proliferative activity in ovarian cancer with respect to prognostic significance." *Anticancer Res* 17(1B): 775-780.
- Marx, J. (1993). "How p53 suppresses cell growth." *Science* 262(5140): 1644-1645.
- Mashal, R. D., S. Lester, C. Corless, et al. (1996). "Expression of cell cycle-regulated proteins in prostate cancer." *Cancer Res* 56(18): 4159-4163.
- McGuire, W. P., W. J. Hoskins, M. F. Brady, et al. (1996). "Cyclophosphamide and cisplatin compared with paclitaxel and cisplatin in patients with stage III and stage IV ovarian cancer." *N Engl J Med* 334(1): 1-6.
- Meden, H. and W. Kuhn (1997). "Overexpression of the oncogene c-erbB-2 (HER2/neu) in ovarian cancer: a new prognostic factor." *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 71(2): 173-179.
- Meerpohl, H. (2006). "Epitheliale Ovarialkarzinome - Therapie der Frühstadien." *Praktische Gynäkologie* 11: 270-282.
- Meier, W. (1997). "Sinnvoller Einsatz der Tumormarker beim Ovarialkarzinom." *Gynäkologe* 30: 133-140.
- Milde-Langosch, K., A. M. Bamberger, C. Goemann, et al. (2001). "Expression of cell-cycle regulatory proteins in endometrial carcinomas: correlations with hormone receptor status and clinicopathologic parameters." *J Cancer Res Clin Oncol* 127(9): 537-544.
- Murakami, H., M. Furihata, Y. Ohtsuki and S. Ogoshi (1999). "Determination of the prognostic significance of cyclin B1 overexpression in patients with esophageal squamous cell carcinoma." *Virchows Arch* 434(2): 153-158.
- Nguyen, H. N., H. E. Averette and M. Janicek (1994). "Ovarian carcinoma. A review of the significance of familial risk factors and the role of prophylactic oophorectomy in cancer prevention." *Cancer* 74(2): 545-555.

- ODell, W. (2000). Cyclins and Cell Cycle Regulation. http://www.biocarta.com/pathfiles/h_cellcyclePathway.asp (14.05.2008)
- Okuda, T., S. A. Shurtleff, M. B. Valentine, et al. (1995). "Frequent deletion of p16INK4a/MTS1 and p15INK4b/MTS2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia." *Blood* 85(9): 2321-2330.
- Olson, S. H., L. Mignone, C. Nakraseive, et al. (2001). "Symptoms of ovarian cancer." *Obstet Gynecol* 98(2): 212-217.
- Pagano, M., R. Pepperkok, F. Verde, W. Ansorge and G. Draetta (1992). "Cyclin A is required at two points in the human cell cycle." *Embo J* 11(3): 961-971.
- Petricoin, E. F., A. M. Ardekani, B. A. Hitt, et al. (2002). "Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer." *Lancet* 359(9306): 572-577.
- Pfisterer, J. and A. du Bois (2002). "Das Ovarialkarzinom." Thieme-Verlag.
- Piccart, M. J., K. Bertelsen, K. James, et al. (2000). "Randomized intergroup trial of cisplatin-paclitaxel versus cisplatin-cyclophosphamide in women with advanced epithelial ovarian cancer: three-year results." *J Natl Cancer Inst* 92(9): 699-708.
- Pines, J. and T. Hunter (1989). "Isolation of a human cyclin cDNA: evidence for cyclin mRNA and protein regulation in the cell cycle and for interaction with p34cdc2." *Cell* 58(5): 833-846.
- Pisani, P., D. M. Parkin and J. Ferlay (1993). "Estimates of the worldwide mortality from eighteen major cancers in 1985. Implications for prevention and projections of future burden." *Int J Cancer* 55(6): 891-903.
- Press, M. F., G. Hung, W. Godolphin and D. J. Slamon (1994). "Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue samples: potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression." *Cancer Res* 54(10): 2771-2777.
- Reed, J. A., F. Loganzo, Jr., C. R. Shea, et al. (1995). "Loss of expression of the p16/cyclin-dependent kinase inhibitor 2 tumor suppressor gene in melanocytic lesions correlates with invasive stage of tumor progression." *Cancer Res* 55(13): 2713-2718.
- Reles, A., W. H. Wen, A. Schmider, et al. (2001). "Correlation of p53 mutations with resistance to platinum-based chemotherapy and shortened survival in ovarian cancer." *Clin Cancer Res* 7(10): 2984-2997.
- Reles, A. E., C. Gee, I. Schellschmidt, et al. (1998). "Prognostic significance of DNA content and S-phase fraction in epithelial ovarian carcinomas analyzed by image cytometry." *Gynecol Oncol* 71(1): 3-13.

- Rosenblatt, J., Y. Gu and D. O. Morgan (1992). "Human cyclin-dependent kinase 2 is activated during the S and G2 phases of the cell cycle and associates with cyclin A." *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(7): 2824-2828.
- Roussel, M. F. (1999). "The INK4 family of cell cycle inhibitors in cancer." *Oncogene* 18(38): 5311-5317.
- Ruas, M., G. Peters (1998). "The p16INK4a/CDKN2A tumor suppressor and its relatives." *Biochim Biophys Acta* 1378 (2): F115-177.
- Saegusa, M., B. D. Machida and I. Okayasu (2001). "Possible associations among expression of p14(ARF), p16(INK4a), p21(WAF1/CIP1), p27(KIP1), and p53 accumulation and the balance of apoptosis and cell proliferation in ovarian carcinomas." *Cancer* 92(5): 1177-1189.
- Santos, J. T., D. C. Tang, S. B. Lane, et al. (1995). "Adenovirus-based p53 gene therapy in ovarian cancer." *Gynecol Oncol* 59(2): 171-178.
- Schmalfeldt, B., D. Prechtel, K. Harting, et al. (2001). "Increased expression of matrix metalloproteinases (MMP)-2, MMP-9, and the urokinase-type plasminogen activator is associated with progression from benign to advanced ovarian cancer." *Clin Cancer Res* 7(8): 2396-2404.
- Schönborn, I. e. a. (1996). "Die Bedeutung der PCNA Proliferationsfraktion für die Prognose des Ovarialkarzinoms." *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 56: 357-364.
- Serrano, M., G. J. Hannon and D. Beach (1993). "A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4." *Nature* 366(6456): 704-707.
- Sherr, C. J. (1994). "G1 phase progression: cycling on cue." *Cell* 79(4): 551-5.
- Sherr, C. J. and J. M. Roberts (1995). "Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases." *Genes Dev* 9(10): 1149-1163.
- Shi, S. R., B. Chaiwun, L. Young, R. J. Cote and C. R. Taylor (1993). "Antigen retrieval technique utilizing citrate buffer or urea solution for immunohistochemical demonstration of androgen receptor in formalin- fixed paraffin sections." *J Histochem Cytochem* 41(11): 1599-1604.
- Soria, J. C., S. J. Jang, F. R. Khuri, et al. (2000). "Overexpression of cyclin B1 in early-stage non-small cell lung cancer and its clinical implication." *Cancer Res* 60(15): 4000-4004.
- Sui, L., Y. Dong, M. Ohno, et al. (2000). "Inverse expression of Cdk4 and p16 in epithelial ovarian tumors." *Gynecol Oncol* 79(2): 230-237.
- Sui, L., Y. Dong, M. Ohno, et al. (2001). "Implication of malignancy and prognosis of p27(kip1), Cyclin E, and Cdk2 expression in epithelial ovarian tumors." *Gynecol Oncol* 83(1): 56-63.

- Surowiak, P., V. Materna, A. Maciejczyk, et al. (2008). "Decreased expression of p16 in ovarian cancers represents an unfavourable prognostic factor." *Histol Histopathol* 23(5): 531-8.
- Talve, L., I. Sauroja, Y. Collan, K. Punnonen and T. Ekfors (1997). "Loss of expression of the p16INK4/CDKN2 gene in cutaneous malignant melanoma correlates with tumor cell proliferation and invasive stage." *Int J Cancer* 74(3): 255-259.
- Testa, J. R., L. A. Getts, H. Salazar, et al. (1994). "Spontaneous transformation of rat ovarian surface epithelial cells results in well to poorly differentiated tumors with a parallel range of cytogenetic complexity." *Cancer Res* 54(10): 2778-2784.
- Tortolero-Luna, G., M. F. Mitchell and H. E. Rhodes-Morris (1994). "Epidemiology and screening of ovarian cancer." *Obstet Gynecol Clin North Am* 21(1): 1-23.
- Toyoshima-Morimoto, F., E. Taniguchi, N. Shinya, A. Iwamatsu and E. Nishida (2001). "Polo-like kinase 1 phosphorylates cyclin B1 and targets it to the nucleus during prophase." *Nature* 410(6825): 215-220.
- Vergote, I., Trimpos, B.J., Guthrie, D. et al. (2001). "Results of a randomized trial in 923 patients with high-risk early ovarian cancer, comparing adjuvant chemotherapy with no further treatment following surgery." *Proc Am Soc Clin Oncol* 20: 201a.
- Walker, D. H. and J. L. Maller (1991). "Role for cyclin A in the dependence of mitosis on completion of DNA replication." *Nature* 354(6351): 314-317.
- Wang, A., N. Yoshimi, N. Ino, T. Tanaka and H. Mori (1997). "Overexpression of cyclin B1 in human colorectal cancers." *J Cancer Res Clin Oncol* 123(2): 124-127.
- Weinberg, R. A. (1991). "Tumor suppressor genes." *Science* 254(5035): 1138-1146.
- Williams, G. T. and C. A. Smith (1993). "Molecular regulation of apoptosis: genetic controls on cell death." *Cell* 74(5): 777-779.
- Winters, Z. E., N. C. Hunt, M. J. Bradburn, et al. (2001). "Subcellular localisation of cyclin B, Cdc2 and p21(WAF1/CIP1) in breast cancer. association with prognosis." *Eur J Cancer* 37(18): 2405-2412.
- Yoo, J., J. H. Jung, M. A. Lee, et al. (2007). "Immunohistochemical analysis of non-small cell lung cancer: correlation with clinical parameters and prognosis." *J Korean Med Sci* 22(2): 318-325.
- Yoon, B. S., Y. T. Kim, S. Kim, et al. (2008). "Prognostic value of nuclear DNA quantification and cyclin A expression in epithelial ovarian carcinoma." *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 136(1): 110-115.
- Zhai, Y. L., T. Nikaido, T. Toki, et al. (1999). "Prognostic significance of bcl-2 expression in leiomyosarcoma of the uterus." *Br J Cancer* 80(10): 1658-1664.

TABELLEN UND ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Der Zellzyklus aus (ODell 2000)	16
Abb. 2: Histologietypen	28
Abb. 3: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Histologietyp.....	29
Abb. 4: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Histologietyp	30
Abb. 5: Grading.....	31
Abb. 6: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom histologischen Differenzierungsgrad ...	32
Abb. 7: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom histologischen Differenzierungsgrad	33
Abb. 8: pathologische Tumorstadien	34
Abb. 9: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pT-Stadium	35
Abb. 10: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom pT-Stadium.....	36
Abb. 11: FIGO-Stadien	37
Abb. 12: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	38
Abb. 13: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	39
Abb. 14: Lymphknotenbefall	40
Abb. 15: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	41
Abb. 16: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	42
Abb. 17: Fernmetastasen	43
Abb. 18: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von Fernmetastasen.....	44
Abb. 19: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit von Fernmetastasen	45
Abb. 20: Tumorrest	46
Abb. 21: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest.....	47
Abb. 22: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Tumorrest	48
Abb. 23: Alter zu OP-Zeitpunkt.....	49
Abb. 24: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Alter zum OP-Zeitpunkt	50
Abb. 25: Rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit vom Alter zum OP-Zeitpunkt.....	51
Abb. 26: Rezidivstatus	52
Abb. 27: Krankheitsverlauf.....	53
Abb. 28: Anzahl der Fälle mit prozentuaem Anteil der positiv gefärbten Kerne	54
Abb. 29: Immunhistochemische Färbung von Cyclin A an einem serösen Ovarialkarzinom (30% positive Kerne)	55

Abb. 30: Immunhistochemische Färbung von Cyclin A an einem endometrioiden Ovarialkarzinom (negative Kerne).....	55
Abb. 31: Gesamtüberlebenszeit und Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Proteinexpression	58
Abb. 32: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom der Histologie.....	58
Abb. 33: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Histologie	59
Abb. 34: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Grading	60
Abb. 35: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Grading.....	61
Abb. 36: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium.....	62
Abb. 37: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium.....	63
Abb. 38: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	64
Abb. 39: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	65
Abb. 40: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	66
Abb. 41: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	66
Abb. 42: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von der Metastasierung	67
Abb. 43: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Metastasierung	67
Abb. 44: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest.....	68
Abb. 45: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Tumorrest.....	69
Abb. 46: Anzahl der Fälle mit prozentualem Anteil des positiv gefärbten Plasmas.....	70
Abb. 47: Immunhistochemische Färbung von Cyclin B ₁ an einem klarzelligem Ovarialkarzinom (50% positives Plasma)	70
Abb. 48: Immunhistochemische Färbung von Cyclin B ₁ an einem klarzelligem Ovarialkarzinom (Negativkontrolle gefärbt mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität).....	71
Abb. 49: Gesamtüberlebenszeit und Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Proteinexpression	73
Abb. 50: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom der Histologie.....	74
Abb. 51: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Histologie	74
Abb. 52: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Grading	75
Abb. 53: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Grading.....	76
Abb. 54: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium.....	77
Abb. 55: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium.....	77
Abb. 56: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	78

Abb. 57: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	79
Abb. 58: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	80
Abb. 59: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	81
Abb. 60: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von der Metastasierung	81
Abb. 61: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Metastasierung	82
Abb. 62: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest	83
Abb. 63: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Tumorrest	83
Abb. 64: Anzahl der Fälle mit prozentualem Anteil der positiv gefärbten Kerne	84
Abb. 65: Immunhistochemische Färbung von p16 an einem endometrioidem Ovarialkarzinom (Tumorzellen: 35% positive Kerne, starke Anfärbung des Plasmas; Bindegewebe: 5% positive Kerne, keine Anfärbung des Plasmas)	85
Abb. 66: Immunhistochemische Färbung von p16 an einem endometrioidem Ovarialkarzinom (Negativkontrolle gefärbt mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität).....	86
Abb. 67: Gesamtüberlebenszeit und Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Proteinexpression	88
Abb. 68: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom der Histologie.....	89
Abb. 69: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Histologie	89
Abb. 70: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Grading	90
Abb. 71: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Grading.....	91
Abb. 72: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium.....	92
Abb. 73: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium.....	93
Abb. 74: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	94
Abb. 75: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	95
Abb. 76: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	96
Abb. 77: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	96
Abb. 78: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von der Metastasierung	97
Abb. 79: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Metastasierung	97
Abb. 80: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest.....	98
Abb. 81: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Tumorrest.....	99
Abb. 82: Anzahl der Fälle mit prozentualem Anteil der positiv gefärbten Kerne	100
Abb. 83: Immunhistochemische Färbung von cdk 2 an einem klarzelligem Ovarialkarzinom (90% positive Kerne)	100

Abb. 84: Immunhistochemische Färbung von cdk 2 an einem klarzelligem Ovarialkarzinom (Negativkontrolle gefärbt mit einem Maus-Antikörper nicht relevanter Antigenität).....	101
Abb. 85: Gesamtüberlebenszeit und Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Proteinexpression	103
Abb. 86: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom der Histologie.....	104
Abb. 87: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Histologie	104
Abb. 88: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Grading	106
Abb. 89: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Grading.....	107
Abb. 90: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium.....	108
Abb. 91: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom pathologischen Tumorstadium.....	109
Abb. 92: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	110
Abb. 93: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium.....	111
Abb. 94: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	112
Abb. 95: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall	112
Abb. 96: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit von der Metastasierung	113
Abb. 97: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit von der Metastasierung	113
Abb. 98: Gesamtüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorrest.....	114
Abb. 99: Rezidivfreie Zeit in Abhängigkeit vom Tumorrest.....	115
Tab. 1: Klassifikation nach TNM und FIGO	9
Tab. 2: Einteilung epithelialer Ovarialkarzinome nach Dembo 1990.....	11
Tab. 3: Cyclin A und klinisch-histologische Daten	57
Tab. 4: Cyclin B ₁ und klinisch-histologische Daten.....	72
Tab. 5: p16 und klinisch-histologische Daten.....	87
Tab. 6: cdk2 und klinisch-histologische Daten	102

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

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mir die Vollendung meiner Promotion ermöglichten:

Frau Priv.-Doz. Dr. A. Reles danke ich für die Bereitstellung des Themas und die Möglichkeit in ihrem Arbeitskreis meine Promotionsarbeit anfertigen zu dürfen. Ihr und Frau Dr. Schmider-Ross danke ich für die gute Betreuung, ihre Hilfsbereitschaft und Motivation sowie die Durchsicht meiner Arbeit.

Dem gesamten Laborteam der AG Reles, MTAs und Mitdoktoranden, danke ich für die angenehme und hilfsbereite Arbeitsatmosphäre.

Besonderer Dank gilt meiner Mutter und meiner Schwester Elena, sowie meinem Freund Robert und Frau Dr. Ohde, ohne deren aufbauende Worte und Appelle an meine Vernunft, diese Arbeit nicht in dieser Form zustande gekommen wäre.

Erklärung

„Ich, Kristin Bernhardt, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: [Expression der Zellyklusregulatorgene Cyclin A, Cyclin B1, p16 und cdk2 beim Ovarialkarzinom] selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift