

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

DISSERTATION

Untersuchung zu prognostischen Markern und Entscheidungsfindungsprozessen
bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Hrvoje Luketina

Gornji Vakuf, Kroatien

Datum der Promotion: 10.03.2017

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt	2
Abstract	3
1 Zusammenfassung der Publikationen	5
1.1 Einführung	5
1.2 Methodik	6
1.3 Ergebnisse	7
1.4 Diskussion	9
1.5 Literaturverzeichnis	13
2 Eidesstattliche Versicherung	15
3 Anteilserklärung	16
4 Publikationen	
4.1 Treatment decision-making processes in the systemic treatment of ovarian cancer: review of the scientific evidence	18
4.2 HIF1 α is an independent prognostic factor for overall survival in advanced primary epithelial ovarian cancer – a study of the OVCAD Consortium	25
4.3 The role of HE4 for prediction of recurrence in epithelial ovarian cancer patients—results from the OVCAD study	33
5 Lebenslauf	42
6 Publikationsliste	43
8 Danksagung	44

Abstrakt

Hintergrund: Die Behandlung und der Therapieerfolg des Ovarialkarzinoms sind abhängig vom Stadium des Karzinoms und dem Zustand der Patientin. Um eine optimale Therapie für die Patientinnen zu finden, frühzeitige Therapieversagerinnen herauszufiltern und Rezidive bald zu erkennen, sind prognostische Marker sowie Erkenntnisse der psychosozialen Aspekte gefordert, um eine Therapieoptimierung in diesem Patientengut zu erzielen.

Methodik: Primär wurde die elektronische Datenbank MEDLINE (PubMed) systematisch nach Studien, die Therapieentscheidungsfindungen und ihre Einflussfaktoren bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom evaluieren, durchsucht. Sekundär wurde im Rahmen des OVCAD- (Ovarian Cancer Diagnosis of a Silent Killer) Projekts die Wertigkeit von Hypoxie-induzierendem Faktor (HIF)-1 α und dem Humanes Epididymis Protein 4 (HE4) als Prädiktoren für die Früherkennung von Therapieerfolgen in der Behandlung vom Ovarialkarzinom untersucht.

Ergebnisse: Die Literatursuche ergab 15 relevante Studien, jedoch erfüllten nur sieben alle Einschlusskriterien. Als bedeutsame Einflussfaktoren für die Therapieentscheidung bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom zeigen sich emotionale Einstellungen ebenso als relevant wie rationale Argumente. In die erste OVCAD Datenauswertung wurden 275 Patientinnen mit primär fortgeschrittenem Ovarialkarzinom eingeschlossen. In 218 (79.3%) Patientinnen konnte eine HIF-1 α Expression nachgewiesen werden. Bei Patientinnen mit einer erhöhten HIF-1 α Expression (Cut off Wert: 80 pg/mg Protein) im Tumorgewebe wurde ein geringeres Gesamtüberleben beobachtet. Neben der HIF-1 α - Expression zeigten sich das FIGO- Stadium, die Histologie, das Vorhandensein von Peritonealkarzinose, die Resttumormasse und das Ansprechen auf die platinhaltige Chemotherapie als unabhängige prognostische Faktoren für das Gesamtüberleben.

In der zweiten OVCAD- Studie wurden insgesamt 92 Patientinnen inkludiert. HE4 und CA125 in Kombination zeigten eine bessere Prädiktion des Rezidivs innerhalb von 12 Monaten nach der Erstlinientherapie. Eine Korrelation konnte zwischen erhöhten HE4 Werten und einem Rezidiv sechs Monate nach der Zweitlinientherapie festgestellt werden. In der weiteren Analyse zeigte sich, dass hohe HE4 Werte in Kombination mit erhöhten CA125 Werten sich negativ auf das krankheitsfreie Überleben auswirken.

Schlussfolgerung: Es sind Verbesserungen in der Analyse und den Systemen, mit welchen Einflussfaktoren auf die Therapieentscheidung bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom erforscht werden notwendig, um beste Unterstützung bei der individuellen Therapieentscheidung zu ermöglichen. HIF-1 α Überexpression bei Ovarialkarzinompatientinnen ist mit einem schlechteren Überleben verbunden, diese Erkenntnis unterstreicht die Bedeutung der Hypoxie in der Angiogenesis der Erkrankung. Eine Kombination von HE4 und CA125 kann vielleicht helfen Responder, die ein Risiko für Rezidiverkrankungen haben zu identifizieren.

Abstract

Background: The treatment and the therapeutic success of ovarian cancer depend on the stage of the disease and patient's condition. To find the optimal therapy for the patients it is necessary to assess and optimize patient's compliance and predict the group of treatment- non- responders. Therefore predictive markers and knowledge about psychosocial aspects of the patients are needed for therapy optimization.

Methods: Primary the electronic database MEDLINE (PubMed) was systematically reviewed for studies that evaluate the treatment decision-making processes in patients with advanced ovarian cancer. Secondary, an analysis about the predictive value of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and Humane Epididymis Protein 4 (HE4) as a predictive marker for treatment success in ovarian cancer patients was performed within the OVCAD (Ovarian Cancer Diagnosis of a Silent Killer) project.

Results: An initial literature search identified 15 potentially relevant studies, but only seven met all inclusion criteria. Factors that influence treatment decisions in patients with ovarian cancer include not only rational arguments and medical reasons, but also emotional attitudes. 275 patients with advanced ovarian cancer were identified in the first OVCAD data analysis. HIF1 α was detected in 218 (79.3%) of the patients. Patients with increased HIF1 α expression (Cut off: 80 pg/mg protein) in tumoral tissue lysates were more likely to have less favorable survival. HIF1 α together with FIGO stage, histology, presence of peritoneal carcinomatosis, residual tumor mass and response to platinum-based chemotherapy were independent prognosis factors for overall survival. In the second OVCAD trial data of 92 out of 275 primary epithelial ovarian cancer patients were analyzed. HE4 in combination with CA125 performed better than CA125 and HE4 alone in predicting recurrence within 6 months after second-line chemotherapy. Further

analysis showed, that the combination of elevated HE4 and CA125 had a negative influence on progression- free survival.

Conclusion: There is a need for more research activities to explore the treatment decision-making process to enable the best individual support for patients in treatment decision-making. HIF1 α overexpression in ovarian cancer is associated with poor overall survival, underlining the importance of hypoxia in this angiogenesis driven disease. HE4 in combination with CA125 may help to identify responders at risk for disease recurrence.

1 Zusammenfassung der Publikationen

1.1 Einführung

Das Ovarialkarzinom ist die fünfthäufigste Krebserkrankung bei Frauen. Die Inzidenz des Ovarialkarzinoms beträgt in Deutschland 11,4 neue Fälle pro 100 000 Frauen pro Jahr, was bedeutet, dass in Deutschland ungefähr 7.300 neue Fälle pro Jahr diagnostiziert werden. Bezüglich der Inzidenz bestehen deutliche Unterschiede zwischen den Industrieländer (9/100.000) und Entwicklungsländern (5/100.000), zugunsten der letzteren (1). In Deutschland versterben jährlich ca. 5000 Frauen an den Folgen der Krebserkrankung, was einer Mortalitätsrate von 5000 pro 100.000 Frauen/ Jahr entspricht (2). Wichtig für die Prognose des Ovarialkarzinoms ist vor allem das Stadium der Erkrankung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose. Die meisten Ovarialkarzinome werden erst in den fortgeschrittenen Stadien FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) III- IV diagnostiziert (3), da keine charakteristischen Frühsymptome auftreten und bisher kein effektives Screening für das Ovarialkarzinom etabliert ist. Histologisch handelt es sich bei den meisten malignen Tumoren der Eierstöcke überwiegend um Adenokarzinome. Die Standardtherapie besteht aktuell aus der Operation mit dem Ziel der makroskopisch tumorfreien Resektion gefolgt von 6 Zyklen einer platinhaltigen Chemotherapie plus/minus Antiangiogenese wie Bevacizumab (4). Trotz eines primär hohen Ansprechens auf die Therapie entwickeln über 50% der Patientinnen innerhalb der ersten zwei Jahre ein Tumorrezidiv und versterben an den Erkrankungsfolgen (5). Kommt es zu einem Rezidiv später als 6 Monate nach Beendigung einer platinhaltigen Primärtherapie und haben die Patientinnen auf die Primärtherapie angesprochen, wird das Karzinom als platinsensibel charakterisiert. Hingegen werden Rezidive als platinrefraktär deklariert, wenn diese bereits während der Primärtherapie vorkommen und platinresistent wenn diese innerhalb von 6 Monaten nach Abschluss der Chemotherapie auftreten. Zur Verbesserung der Therapie beim Ovarialkarzinom sind weitere Untersuchungen für zielgerichtete und personalisierte Therapie notwendig. Neben den prognostischen Markern, basierend auf Erkenntnisse zu molekularen Pathogenese, sollten auch psychosoziale Aspekte in der Therapie des Ovarialkarzinom berücksichtigt werden, um eine Therapieoptimierung in diesem Patientengut zu erforschen.

Ziel der ersten Publikation war es, einen Literaturüberblick über potentielle Faktoren, die den Entscheidungsfindungsprozess bei der Therapiewahl der Patientinnen mit Ovarialkarzinom beeinflussen, zu verschaffen. Von großem Interesse sind Beweggründe, welche das

Gesundheitsverhalten und die Entscheidung für eine bestimmte Therapie bewirken. Die dadurch gewonnenen Erkenntnisse können dazu beitragen, ein besseres Verständnis über die Wünsche der Patientinnen zu generieren und unter der Berücksichtigung entscheidender Faktoren den Entscheidungsfindungsprozess zu optimieren. Dies führt längerfristig zur Verbesserung des Arzt - Patientinnen - Gesprächs und der Patientinnencompliance.

Die zweite Publikation ist eine Kooperationsstudie mit fünf europäischen Universitätsklinken für Gynäkologie. Das Forschungsprojekt OVCAD (Ovarian Cancer Diagnosis of a Silent Killer), welches durch das 6. EU- Rahmenprogramm gefördert wurde, zielt darauf ab, neue Prädiktoren für die Früherkennung von Therapieerfolgen in der Behandlung vom Ovarialkarzinom zu identifizieren. In der vorliegenden Publikation wurde die prognostische Wertigkeit des hypoxie-induzierenden Faktors (HIF)-1 α , einem dimeren Protein-Komplex, welcher eine wesentliche Rolle in der Reaktion des Körpers hinsichtlich Hypoxie spielt, untersucht. Eine besondere Bedeutung in Bezug auf das chirurgische Outcome, das Ansprechen auf die platinumbasierte Therapie und somit für das Überleben bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom konnte ihm zugeordnet werden.

In der dritten Publikation sind weitere Ergebnisse aus der OVCAD Studie veröffentlicht worden. Hier wurde die prädiktive Eigenschaft des Humanes Epididymis Protein 4 (HE4), einem intrazellulärem Glykoprotein mit inhibierender Wirkung auf Proteasen, in Patientinnen mit Ovarialkarzinomrezidiv untersucht. Außerdem wurde die Wertigkeit von HE4 als prognostischer Marker bei Rezidiven nach der Zweitlinien- Chemotherapie evaluiert. Die Überexpression von HE4 findet bereits in frühen Stadien des Ovarialkarzinoms statt, wobei im Vergleich beim normalen Geweben und benignen Tumoren die Expression sehr gering ist (6).

1.2 Methodik

Für die erste Publikation wurde die elektronische Datenbank MEDLINE (PubMed) systematisch auf Studien, die Entscheidungsprozesse bei Patientinnen mit gynäkologischen Karzinomen unter Berücksichtigung des Ovarialkarzinoms veröffentlichten, geprüft. Die Suchbegriffe waren: Ovarialkarzinom, gynäkologisches Karzinom und Therapieentscheidungsfindung. Es wurden Originalarbeiten im Zeitraum von 1995 bis 2011, die im Abstract die gesuchten Schlüsselwörter aufwiesen und der Inhalt das recherchierte Thema abdeckte, eingeschlossen. Die Studien wurden gemäß der methodischen Richtlinien für die Erstellung von Übersichtsarbeiten evaluiert (7). Alle Synonyme für das Ovarialkarzinoms wurden in Bezug auf die Therapieentscheidung und

Entscheidungsfindung bei gynäkologischen Erkrankungen kombiniert. Manuskripte, deren Sprache nicht Englisch war, wurden ausgeschlossen.

In den zweiten Publikation wurden Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom (FIGO Stadium II-IV) im Zeitraum von 2005- 2008 aus fünf europäischen Zentren eingeschlossen. Es wurden nur Patientinnen mit histologisch gesichertem Ovarialkarzinom, die zuvor eine zytoreduktive Operation und eine platinhaltige Chemotherapie erhielten, berücksichtigt. FIGO I Patientinnen wurden aufgrund der besseren Prognose und eines oft anderen Therapieregimes von der Studie ausgeschlossen. Eine Online- Datenbank wurde zur Dokumentation der zuvor definierten Parameter wie z.B. Gesamtüberleben, Progressionsfreies- Überleben, Follow-up verwendet. Tumorgewebe wurde während der Operation, jedoch vor Chemotherapiebeginn entnommen und mittels HIF-1 α ELISA kit (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA) auf HIF-1 α - Expression analysiert. Die statistische Auswertung erfolgte mittels IBM[®] SPSS[®] Statistics 21.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) an der Charité Universitätsmedizin Berlin.

Für die dritte Publikation wurden retrospektive Daten von Patientinnen aus der OVCAD Datenbank ausgewertet, sowie Biomarkermessungen aus den gespeicherten Plasmaproben analysiert. Folgende Einschlusskriterien wurden für die Patientinnen definiert: primäres Ovarialkarzinom im Stadium FIGO II- IV und radikale zytoreduktive Chirurgie gefolgt von einer platinumhaltige Chemotherapie. Die HE4 und CA125 Konzentrationen wurden aus den präoperativ als auch aus den sechs Monate nach der Chemotherapie abgenommenen Plasmaproben gemessen. Ansprechen auf die Therapie und Diagnose des Rezidivtumors wurden anhand der RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) - Kriterien und der CA125 Variation (GCIG- Kriterien) gemessen (5). Die Rezidivprognose anhand der HE4 und CA125 Konzentrationen wurde mittels Receiver-Operating-Characteristic-Curve (ROC-Kurve) bestimmt.

1.3 Ergebnisse

Die MEDLINE (Pubmed) Literaturrecherche in der ersten Publikation zeigte, dass die Wichtigkeit der Erforschung von Einflussfaktoren auf die Therapieentscheidung bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom bereits erkannt wurde, jedoch Verbesserungen in der Analyse und den Systemen, mit welchen diese erforscht werden, notwendig sind, um beste Unterstützung bei der individuellen Therapieentscheidung zu ermöglichen. Initial konnten 15 potentiell relevante

Studien identifiziert werden, jedoch erfüllten nur sieben alle Einschlusskriterien. Bedeutsame Einflussfaktoren für die Therapieentscheidung bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom sind nicht nur rationale Argumente wichtig, sondern individuelle Einstellungen und Ängste, Sinnfragen, Werte und Einflüsse aus der Arzt- Patientinnen- Beziehung und den persönlichen sozialen Umfeld. In den meisten Studien werden die Empfehlungen des Arztes, die persönliche Erfahrung mit medizinischen Fragestellungen und die Angst von Nebenwirkungen und Metastasen als Einflussfaktoren genannt. Die Familie und der Austausch mit Patientinnen, die bereits Erfahrungen mit dem Ovarialkarzinom hatten, sind wichtige Stützen im Prozess der Therapieentscheidungsfindung.

In der zweiten Publikation wurden 275 Patientinnen mit primär fortgeschrittenem Ovarialkarzinom eingeschlossen. Das mediane Alter war 58 Jahre (Spannbreite 18-85). In 218 (79.3%) Patientinnen konnte eine HIF-1 α Expression nachgewiesen werden. Die HIF-1 α Expression war unabhängig vom FIGO- Stadium, Alter oder dem Tumorgrading. Bei Patientinnen mit einer erhöhten HIF-1 α Expression (Cut off Wert: 80 pg/mg Protein) im Tumorgewebe wurde ein schlechteres Gesamtüberleben beobachtet ($p=0.009$, hazard ratio [HR] 2.505, 95% Konfidenzintervall [95% CI] (1.252-5.013)). Neben der HIF-1 α - Expression zeigten sich das FIGO- Stadium, die Histologie ($P=0.007$, HR 2.748, 95% CI 1.315–5.743), das Vorhandensein von Peritonealkarzinose ($P=0.014$, HR 2.176, 95% CI 1.170–4.046), die Resttumormasse ($P=0.017$, HR 1.641, 95% CI 1.091–2.468) und das Ansprechen auf die platinhaltige Chemotherapie ($P<0.001$, HR 8.131, 95% CI 5.13–12.88) als unabhängige prognostische Faktoren für das Gesamtüberleben. Des Weiteren war ein Zusammenhang zwischen dem progressionsfreien Überleben und dem FIGO- Stadium ($P=0.01$), dem histologischen Typ ($P=0.016$), sowie dem Auftreten von Peritonealkarzinose ($P<0.05$) zu beobachten.

In der dritten Studie wurden insgesamt 92 Patientinnen inkludiert. Von jenem Patientinnenkollektiv stellten sich 70 (76%) als Responder und 22 (23%) als Nonresponder dar, hinsichtlich des Ansprechverhaltens auf die platinumhaltige Erstlinien- Chemotherapie. Das mediane Alter war 56 Jahre (Spannbreite 18-80) bei Respondern und 59.5 Jahre (Spannbreite 27-81) bei Nonrespondern. Der mediane präoperative HE4 Wert sowie der HE4 Wert nach der Erstlinientherapie zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen Respondern und Nonrespondern ($p=0.0001$). In der Studie konnte gezeigt werden, dass HE4 (Schwellenwert: 49.5 pM) und CA125 (Schwellenwert: 25 U/l) in Kombination eine bessere Prädiktion des Rezidivs

innerhalb von 12 Monaten nach der Erstlinientherapie haben im Vergleich zu HE4 oder CA125 alleine (area under the curve (AUC) 0.928, 95 % Konfidenzintervall (CI) 0.838-1, $p < 0.001$). Eine Korrelation konnte zwischen erhöhten HE4 Werten (gemessen nach der Erstlinientherapiegabe) und einem Rezidiv sechs Monate nach der Zweitlinientherapie festgestellt werden (AUC 0.719, 95 % CI 0.553-0.885, $p = 0.024$). In der weiteren Analyse zeigte sich, dass hohe HE4 Werte in Kombination mit erhöhten CA125 Werten sich negativ auf das krankheitsfreie Überleben auswirken (progression-free survival (PFS); HR 8.14, 95 % CI 3.75-17.68, $p < 0.001$). Im Vergleich zu den Patientinnen wo keine Biomarker erhöht war, zeigten auch jene Patientinnen, bei welchen nur ein Biomarker erhöht war, ein schlechteres krankheitsfreies Überleben (HR 1.46, 95 % CI 0.72-2.96, $p = 0.292$). Erhöhte Biomarkerwerte zeigten ähnlichen Einfluss auf das mediane Gesamtüberleben.

1.4 Diskussion

Die evidenzbasierte Medizin gewährleistet eine bedarfsgerechte Therapieentscheidung erst dann, wenn ein Zusammenspiel aus bestmöglicher externer Evidenz, der klinischen Erfahrung des Arztes und den individuellen Patientenpräferenzen, besteht (8).

Zusammen mit den Möglichkeiten von molekularbiologischen Methoden der hochwissenschaftlichen Medizin ist es notwendig, die Ziele des Patientinnen sowie ihre Lebensperspektive und Erwartungen zu klären, um eine individualisierte oder personalisierte Behandlung den Patientinnen zu ermöglichen.

Die aktuell verfügbare Literatur liefert noch immer kein ausgereiftes Model für die Therapieentscheidungsfindung bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom. Die Studien versuchen spezifische Fragen, die sich im Bezug auf die Einflussfaktoren auf die Therapieentscheidung stellen, ohne jeglichen Bezug zu einem Model, zu beantworten. Es gestaltet sich durchaus schwierig, herauszufinden, was sich die Patientinnen von der Behandlung erwarten und welchen Prozess sie in der Entscheidungsfindung durchlaufen. Es besteht ein Bedarf an neuen Mitteln, die es ermöglichen, möglichst konkret die Einflussfaktoren auf die Therapieentscheidung darzustellen, indem sie auch die Umstände der Patientinnen und ihren Willen einschließen. Tatsache ist, dass die meisten Patientinnen aufgrund der Zunahme an Therapieoptionen Unterstützung bei der Therapieentscheidung brauchen. Welche Einflussfaktoren auf die Therapieentscheidung bei Ovarialkarzinompatientinnen wirksam sind, sollte weiter untersucht und beschrieben werden, um daraus Maßnahmen für die Verbesserung der individuellen Versorgung entwickeln zu können und die Patientencompliance zu optimieren.

Neben den psychosozialen Aspekten, die zur Verbesserung der Lebensqualität und Therapieoptimierung beitragen können, ist es notwendig, durch klinische Studien externe Evidenzen zu schaffen. Frühzeitige Diagnosen sind aufgrund der mangelnden Spezifität und Sensitivität diagnostischer Methoden schwierig. Ziel des Forschungsprojekts OVCAD ist es, mit Hilfe von Biomarkern eine optimale Therapiestrategie für Patientinnen mit Ovarialkarzinom zu entwickeln.

HIF1 α ist ein wichtiger Regulator für die Anpassung der Zelle an hypoxischen Stress und spielt eine entscheidende Rolle in der Onkogenese und Angiogenese. Durch die hypoxischen Bedingungen in Tumorgewebe wurde HIF1 α als ein wichtiger Mediator für die Tumordinvasion, Metastasierung und Chemotherapieresistenz vermutet. Eines der größten Probleme ist neben der zu späten Diagnose die Resistenz auf Chemotherapie bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom. Ein Mechanismus der zur Chemotherapieresistenz führt ist die unzureichende Vaskularisierung des Tumorgewebes und somit auch insuffiziente Wirkung des Therapeutikums (9). An den Mechanismus der Hypoxie, deren Mediator der HIF1 α Transkriptionsfaktor ist, versucht die Studie anzuknüpfen und die Rolle von HIF1 α als prädiktiven Marker beim primären Ovarialkarzinom zu identifizieren. Die Ergebnisse zeigten, dass Patientinnen mit Tumoren, die den HIF1 α Transkriptionsfaktor (Cut off: 80 pg/mg Protein) überexprimieren, eine schlechtere Prognose haben. Es konnte kein Zusammenhang zwischen HIF1 α Expression und Ansprechen auf die platinhaltige Therapie oder den histologischen Typen gezeigt werden. Zuvor publizierte Daten zeigten, dass klarzellige Karzinome höhere HIF1 α Werte haben als andere histologische Arten des Ovarialkarzinoms (10,11). Der Unterschied in den Ergebnissen im Vergleich zu anderen Studien könnte durch die zu geringe Anzahl an gut differenzierten (3.6%) und nicht-serösen Ovarialkarzinomtypen entstanden sein. Dass die HIF1 α Expression nicht in Korrelation mit dem klinischen Stadium, Alter oder dem histologischen Subtyp steht, wurden auch von einem weiteren Autor berichtet, was ähnlich zu unseren Ergebnissen ist (12). In der Studie konnte eindeutig gezeigt werden, dass die HIF1 α Überexpression beim Ovarialkarzinom mit einem schlechteren Gesamtüberleben verbunden ist. Zusätzlich wird die Bedeutung der Hypoxie in der Angiogenese von Tumorerkrankungen unterstrichen. Weitere große prospektive Studien, welche die Rolle von Transkriptionsfaktoren bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom untersuchen, sind gefordert. Um prädiktive Faktoren herauszufiltern, ist es notwendig, die HIF1 α Distribution innerhalb des Tumors mittels immunhistochemischen Verfahren weiter zu untersuchen.

HIF1 α trägt durch Stimulation der Endothelzellproliferation und -migration entscheidend zur tumorassoziierten Angiogenese bei (13), deshalb spielt HIF1 α für die Resistenzentwicklung bei Antiangiogenesetherapien (wie z.B. Avastin) eine große Bedeutung. Die funktionelle Inhibition

von HIF1 α als Verfahren für die Therapie des Ovarialkarzinoms sollte in weiteren prospektiven Studien untersucht werden. In der OVCAD Studie hatten die meisten Patientinnen kein Avastin, da dieses Medikament zum Zeitpunkt der Studiendurchführung noch nicht zugelassen war. Zielgerichtete Therapien die sich auf HIF1 α fokussieren könnten vielleicht das Gesamtüberleben bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom verbessern.

Neben der prädiktiven Wertigkeit von Markern in der Früherkennung von Ovarialkarzinomen, sind diese im Anbetracht der Situation, dass epitheliale Ovarialkarzinome frühzeitig rezidivieren, als Tool für die Nachsorge der Patientinnen gefordert. Die Rolle von CA125 als Marker für ein Rezidiv nach einer kurativen Therapie für das primäre Ovarialkarzinom wurde vielfach bereits untersucht (14). Neue und innovative Verfahren sind gefordert, um früher ein Rezidiv zu detektieren und adäquate Therapiestrategien zu entwickeln. Im Rahmen der dritten Publikation wurde basierend auf Erkenntnissen von früheren Studien (15,16) die Wertigkeit von HE4 als prädiktiver Marker bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass nach Erstlinientherapie bei Respondern HE4 und CA125 in Kombination eine bessere Vorhersagekraft bezüglich Rezidiv hatten als jeder Marker allein. Für die non-Responder und Patientinnen nach einer Zweitlinientherapie war die Prädiktion des Rezidivs durch HE4 vorzeitiger als durch CA125. In der Studie von Rustin et al. (14), wurden 529 Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom, die nach der Erstlinientherapie eine komplette Remission hatten und bei denen der CA125- Wert reproduzierbar über den Normwert anstieg, in zwei Gruppen randomisiert. In einer Gruppe (n=265, „early“) wurde allein anhand der erhöhten CA125- Werte eine weitere Chemotherapie appliziert, wobei in der zweiten Gruppe (n= 264, „dealyed“) dagegen nur bei klinisch oder diagnostisch manifestem Rezidiv eine Chemotherapie eingeleitet wurde. Ein Überlebensvorteil für Patientinnen die eine vorzeitige Therapie aufgrund der erhöhten CA125- Werte konnte nicht gezeigt werden, deshalb ist eine routinemäßige CA125 Messung im Rahmen der Nachsorge bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom, die eine komplette Remission nach einer Erstlinientherapie haben umstritten. In der Publikation von Angioli et al. (15) wurden CA125 und HE 4 während der Erstlinienchemotherapie und 6 Monate danach gemessen. Hier konnte gezeigt werden, dass HE4 dem CA125 als prädiktiver Biomarker für das chirurgische Outcome überlegen ist. Die Kombination von HE4 (Cut off: 262 pmol/l) und dem Aszites (Cut off Wert: 500 ml) erwies sich als bester Prognosefaktor. Wir konnten auch in unserer Studie zeigen, dass die Kombination von CA125 und HE4 bei Patientinnen mit primären Ovarialkarzinom prä- und intraoperativ eine höhere Prädiktion bezüglich Gesamtüberleben und

progressionsfreiem – Überleben hat als der singuläre Marker. Um unsere Erkenntnisse zu bestätigen, sind weitere prospektive multizentrische Studien gefordert.

1.5 Literaturverzeichnis

- (1) Heintz AP, Hacker NF, Lagasse LD. Epidemiology and etiology of ovarian cancer: a review. *Obstet Gynecol.* 1985 Jul;66(1):127-35.
- (2) Robert Koch-Institut, GEKID e. V. (Hrsg.): Krebs in Deutschland 2011/2012. Häufigkeiten und Trends. 10. Ausgabe, 2015, ISBN 978-3-89606-228-4
- (3) Havrilesky LJ, Whitehead CM, Rubatt JM, Cheek RL, Groelke J, He Q, et al. Evaluation of biomarker panels for early stage ovarian cancer detection and monitoring for disease recurrence. *Gynecol Oncol* 2008 Sep;110(3):374-382.
- (4) Gilks CB, Prat J. Ovarian carcinoma pathology and genetics: recent advances. *Hum Pathol* 2009 Sep;40(9):1213-1223.
- (5) Rustin GJ, Vergote I, Eisenhauer E, Pujade-Lauraine E, Quinn M, Thigpen T, et al. Definitions for response and progression in ovarian cancer clinical trials incorporating RECIST 1.1 and CA 125 agreed by the Gynecological Cancer Intergroup (GCIG). *Int J Gynecol Cancer* 2011 Feb;21(2):419-423.
- (6) Hellstrom I, Raycraft J, Hayden-Ledbetter M, Ledbetter JA, Schummer M, McIntosh M, Drescher C, Urban N, Hellstrom KE. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian carcinoma. *Cancer Res.* 2003;63:3695–3700
- (7) Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *BMJ.* 2009 Jul 21;339:b2535.
- (8) Sackett DL, Rosenberg WM, Gray JA, Haynes RB, Richardson WS. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. *BMJ* 1996 Jan 13;312(7023):71-72.
- (9) Shi CY, Fan Y, Liu B, Lou WH. HIF1 contributes to hypoxia-induced pancreatic cancer cells invasion via promoting QSOX1 expression. *Cell Physiol Biochem* 2013;32(3):561-568.
- (10) Cheng JC, Klausen C, Leung PC. Hypoxia-inducible factor 1 alpha mediates epidermal growth factor-induced down-regulation of E-cadherin expression and cell invasion in human ovarian cancer cells. *Cancer Lett* 2013 Feb 28;329(2):197-206.
- (11) Lee S, Garner EI, Welch WR, Berkowitz RS, Mok SC. Over-expression of hypoxia-inducible factor 1 alpha in ovarian clear cell carcinoma. *Gynecol Oncol* 2007 Aug;106(2):311-317.

- (12) Nakayama K, Kanzaki A, Hata K, Katabuchi H, Okamura H, Miyazaki K, et al. Hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 alpha) gene expression in human ovarian carcinoma. *Cancer Lett* 2002 Feb 25;176(2):215-223.
- (13) Ferrara N, Gerber HP, and LeCouter J. (2003) The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 9: 669-676.
- (14) Rustin GJ, van der Burg ME, Griffin CL, Guthrie D, Lamont A, Jayson GC, et al. Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955): a randomised trial. *Lancet* 2010 Oct 2;376(9747):1155-1163.
- (15) Angioli R, Capriglione S, Aloisi A, Guzzo F, Luvero D, Miranda A, et al. Can HE4 predict platinum response during first-line chemotherapy in ovarian cancer? *Tumour Biol* 2014 Jul;35(7):7009-7015. (4) Gilks CB, Prat J. Ovarian carcinoma pathology and genetics: recent advances. *Hum Pathol* 2009 Sep;40(9):1213-1223.
- (16) Plotti F, Capriglione S, Terranova C, Montera R, Aloisi A, Damiani P, et al. Does HE4 have a role as biomarker in the recurrence of ovarian cancer? *Tumour Biol* 2012 Dec;33(6):2117-2123

2 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Hrvoje Luketina versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Untersuchung zu prognostischen Markern und Entscheidungsfindungsprozessen bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben ist.

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

Datum

Unterschrift

3 Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Publikation 1: Treatment decision-making processes in the systemic treatment of ovarian cancer: review of the scientific evidence.

Luketina H, Fotopoulou C, Luketina RR, Pilger A, Sehouli J.

Anticancer Res. 2012 Sep;32(9):4085-90

Beitrag im Einzelnen (ca.80 Prozent): eigenständige Konzeption des Projektes, Erarbeitung der Methodik, weitgehend eigenständige Erhebung der Daten, Wahl des Studiendesigns, Erarbeitung der Literaturrecherche, Interpretation der Daten, Studienergebnisse, Manuskriptanfertigung und Bearbeitung der Revisionsvorschläge

Publikation 2: HIF1 α is an independent prognostic factor for overall survival in advanced primary epithelial ovarian cancer. A study of the OVCAD Consortium.

Braicu IC, **Luketina H**, Richter R, Castillo-Tong DC, Lambrechts S, Mahner S, Concin N, Mentze M, Zeillinger R, Vergote I, Sehouli J.

OncoTargets and Therapy Jan 2014; 7:1563-9.

Beitrag im Einzelnen (ca. 50%): Erhebung eines entscheidenden Anteils der Daten, Mitarbeit bei der

Dateninterpretation, Verfassung von Abschnitten des Manuskriptes, Graphiken und Tabellen Erstellung im Manuscript, Revision des Manuskriptes.

Publikation 3: The role of HE4 for prediction of recurrence in epithelial ovarian cancer patients results from the OVCAD study.

Nassir M, Guan J, **Luketina H**, Siepmann T, Rohr I, Richter R, Castillo-Tong DC, Zeillinger R, Vergote I, Van Nieuwenhuysen E, Concin N, Marth C, Hall C, Mahner S, Woelber L, Sehouli J, Braicu EI.

Tumour Biol. 2015 Sep 29; 26419591

Beitrag im Einzelnen (ca. 50%): Weitgehend eigenständige Erhebung der Daten, Mitarbeit bei der

statistischen Auswertung und der Dateninterpretation, Mitarbeit bei der Erstellung des Manuskriptentwurfs, Erstellung der Bilder, Revision des Manuskriptes.

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

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

4 Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

Publikation 1: Treatment decision-making processes in the systemic treatment of ovarian cancer: review of the scientific evidence.

Luketina H, Fotopoulou C, Luketina RR, Pilger A, Sehouli J.

Anticancer Res. 2012 Sep;32(9):4085-90

<http://ar.iiarjournals.org/content/32/9/4085.full>

Publikation 2: HIF1 α is an independent prognostic factor for overall survival in advanced primary epithelial ovarian cancer. A study of the OVCAD Consortium.

Braicu IC, **Luketina H**, Richter R, Castillo-Tong DC, Lambrechts S, Mahner S, Concin N, Mentze M, Zeillinger R, Vergote I, Sehouli J.

OncoTargets and Therapy Jan 2014; 7:1563-9.

<http://dx.doi.org/10.1007/s13277-015-4031-9>

Publikation 3: The role of HE4 for prediction of recurrence in epithelial ovarian cancer patients results from the OVCAD study.

Nassir M, Guan J, **Luketina H**, Siepmann T, Rohr I, Richter R, Castillo-Tong DC, Zeillinger R, Vergote I, Van Nieuwenhuysen E, Concin N, Marth C, Hall C, Mahner S, Woelber L, Sehouli J, Braicu EI.

Tumour Biol. 2015 Sep 29

<http://dx.doi.org/10.1007/s13277-015-4031-9>

5 Lebenslauf

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

6 Komplette Publikationsliste

1. Treatment decision-making processes in the systemic treatment of ovarian cancer: review of the scientific evidence.

Luketina H, Fotopoulou C, Luketina RR, Pilger A, Sehouli J.

Anticancer Res. 2012 Sep;32(9):4085-90.

Impact Faktor: 1.826

2. HIF1 α is an independent prognostic factor for overall survival in advanced primary epithelial ovarian cancer. A study of the OVCAD Consortium.

Braicu IC, **Luketina H**, Richter R, Castillo-Tong DC, Lambrechts S, Mahner S, Concin N, Mentze M,

Zeillinger R, Vergote I, Sehouli J.

OncoTargets and Therapy Jan 2014; 7:1563-9.

Impact Faktor: 2.311

3. The role of HE4 for prediction of recurrence in epithelial ovarian cancer patients results from the OVCAD study.

Nassir M, Guan J, **Luketina H**, Siepmann T, Rohr I, Richter R, Castillo-Tong DC, Zeillinger R, Vergote I,

Van Nieuwenhuysen E, Concin N, Marth C, Hall C, Mahner S, Woelber L, Sehouli J, Braicu EI.
Tumour Biol. 2015 Sep 29; 26419591

Impact Faktor: 3.611

7 Danksagung

Ganz herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. Sehouli der mir die Möglichkeit gegeben hat mit einem hervorragendem Professor, Mediziner, Wissenschaftler und Menschen zusammenzuarbeiten, von seiner Expertise zu profitieren und die wissenschaftliche Arbeit zu erlernen. Dank auch an Frau Dr. Braicu und Frau Prof. Dr. Fotopolou für die gute Betreuung. Vielen Dank an meine Eltern und meine Schwester, die mir die Möglichkeit gegeben haben zu studieren und mich auf meinem Weg zur Promotion immer unterstützt haben.