

## 4. Diskussion

Aufgrund der schlechten Prognose nimmt das Ovarialkarzinom die 1. Stelle in der relativen Mortalitätsstatistik aller gynäkologischen Malignome ein. Die Prognose ist trotz deutlicher Zunahme der operativen Radikalität und verbesserter Chemotherapie insgesamt noch unbefriedigend. Die Identifizierung neuer Prognosefaktoren und damit unterschiedlicher tumorbiologischer Subgruppen beim Ovarialkarzinom ist erforderlich, um eine genauere Risikoeinschätzung vornehmen und individuellere Therapiekonzepte entwickeln zu können.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit war die Bestimmung des Expressions- und Polymorphismusmuster von Interleukin-1  $\alpha$  (IL-1  $\alpha$ ) und Interleukin-1  $\beta$  (IL-1  $\beta$ ) bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom. Die prognostische Relevanz dieser Zytokine beim Ovarialkarzinom wurde durch Bewertung der Korrelation mit konventionellen Prognosefaktoren und dem rezidivfreien und Gesamtüberleben in der multivariaten Analyse geprüft. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden Serum-, Vollblut- und Aszitesproben von 168 Patientinnen mit Ovarialkarzinom und 177 Patientinnen mit benignen, gynäkologischen Erkrankungen, die zwischen 2001 und 2003 in der Abteilung für Gynäkologie und Geburtshilfe, Campus Virchow Klinikum der Medizinischen Fakultät Charité-Universitätsmedizin Berlin operativ behandelt wurden, analysiert.

### 4.1 Einfluss von klinischen konventionellen Faktoren auf die Prognose des Ovarialkarzinoms

Eine Vielzahl von Prognosefaktoren sind beim Ovarialkarzinom bisher identifiziert worden, die jedoch aufgrund ungenügender Daten bezüglich ihres Stellenwertes als „echter“ Prognosefaktor in der Literatur häufig kontrovers diskutiert werden. Mit dem kontinuierlich wachsenden Verständnis der Tumorbiologie des Ovarialkarzinoms und mit Hilfe neuer molekularbiologischer Techniken lassen sich zunehmend weitere potentielle

Prognosefaktoren identifizieren, die jedoch meist noch auf die Bestätigung durch grössere Fallserien warten lassen.

Die Ausbreitung des Tumors bei der endgültigen Diagnose ist ein wichtiger Prognosefaktor. Frühstadien I, II zeigen eine deutlich bessere Prognose als fortgeschrittene Stadien III, IV. In einer Studie von Brun et al. betragen die 5-Jahres-Überlebensraten im Stadium I ca. 76%, im Stadium II 42%, im Stadium III 21%, im Stadium IV 6% (Brun et al. 2000). FIGO Stadium I und II zeigen mit einer 5-Jahresüberlebens-wahrscheinlichkeit von 68% und 56 % eine deutlich bessere Prognose als FIGO Stadium III (19%) und IV (6%) (Grossi et al. 2002).

Verschiedene Studien mit multivariaten Analysen belegen die prognostische Bedeutung des FIGO Tumorstadiums für die Überlebensrate bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom (Dembo et al. 1990, Sevela et al. 1990, Vergote et al. 1993, 2001). In diesen Fallserien korrelieren die 5-Jahre Überlebensraten signifikant mit den Tumorstadien (Stadium I 95 % 5-JÜ, Stadium II 65% 5-JÜ, Stadium III 14-30% 5-JÜ, Stadium IV 0-20% 5-JÜ) (American Cancer Society -Annual Report 2000, Harter et al. 2005).

Auch in unserer Studie zeigten sich bessere Überlebenszeiten bei den Patientinnen mit primärem Ovarialkarzinom mit einem FIGO Stadium I und II bei der Erstdiagnose im Vergleich mit fortgeschrittenen Stadien III und IV.

Der maximale Durchmesser des postoperativen Tumorrestes nach einer zytoreduktiven Operation gilt als der stärkste unabhängige klinische Prognosefaktor (Eisenkop et al. 1998, 2000, Pecorelli et al. 1998, Bristow et al. 2002, Harter et al. 2005).

Bristow et al. publizierten eine systematische Metaanalyse auf Basis von insgesamt 53 Studien mit insgesamt 6885 Patientinnen (Zeitraum: 1989 – 1998). Sie untersuchten den Einfluss der operativen Tumorreduktion auf das Gesamtüberleben. Ausgewertet wurden operierte Patientinnen mit einem FIGO-Stadium III oder IV und einer anschliessenden platinhaltigen Chemotherapie publizierte Studien. Hiernach wiesen Patientinnen, die eine maximale Tumorreduktion von über 75% erfahren hatten, ein medianes Gesamtüberleben von 36,8 Monaten auf. Patientinnen mit einer Tumorreduktion von weniger als 25% hatten dagegen nur ein medianes Gesamtüberleben von 23 Monaten. Jede 10%ige Tumorreduktion war mit

einer Verlängerung des medianen Gesamtüberlebens von 6,3% verbunden (Bristow et al. 2002).

In einer multizentrischen, retrospektiven Studie (DESKTOP Studie) der AGO Organkommission OVAR und der AGO Ovarian Cancer Study Group (AGO-OVAR) mit 267 Patientinnen mit rezidiviertem Ovarialkarzinom zeigte sich der Tumorrest nach Rezidiv-Operation als wichtigster Prognosefaktor für das Überleben (Harter et al. 2005). Weitere unabhängige Prognosefaktoren für das Überleben waren Aszitesmenge, FIGO Stadium bei der Erstdiagnose des Ovarialkarzinoms, eine platinhaltige Chemotherapie nach der Operation und der Performance Status. In der DESKTOP Studie wurden weiterhin positive und negative Prognosefaktoren für das „chirurgische Outcome“ der rezidivierten Ovarialkarzinome identifiziert. Eine komplette Tumoresektion wurde bei 81% der Patientinnen mit einem guten Allgemeinzustand, Frühstadium FIGO I-II bei der Erstdiagnose und keinem residualen Tumorrest nach der Erstoperation, Aszitesmenge <500 ml und keiner Peritonealkarzinose in der präoperativen Diagnostik erreicht. Der intraoperative Darmbefall und die Peritonealkarzinose erschweren eine maximale Tumordebulking, nur 23% der Patientinnen mit diesen Charakteristika konnten tumorfrei operiert werden.

Auch unsere Studie bestätigt die prognostische Bedeutung der maximalen intraoperativen Tumorreduktion. Signifikant geringen Überlebenszeiten zeigte es sich bei Vorliegen eines Tumorrestes gegenüber keinem Tumorrest (medianes Gesamtüberleben 47 Monate 95%CI [42,3-52,57] vs. 21 Monate 95%CI [16,14-25,86],  $p < 0,0001$ , bzw. medianes rezidivfreie Überleben 29 Monate vs. 15 Monate 95%CI [12,9-17,04],  $p < 0,0001$ ). Es zeigte sich damit erneut, dass die maximale Tumorentfernung ein Therapie-schwerpunkt bei der Behandlung des Ovarialkarzinoms ist.

Aszites wird bei Patienten mit Ovarialkarzinom in ca. 22-30% aller Tumorstadien der Fälle beobachtet (Puls et al. 1996, Makar et al. 1995).

Der Nachweis von Aszites bedeutet in der Regel eine Verschlechterung der Prognose (Harter 2005). Die 5-Jahresüberlebensrate beträgt bei Patientinnen im Stadium III und IV ohne Aszites etwa 45% und mit Aszites 5% (Roszkowski et al. 1993, Puls et al. 1996, Makar et al. 1995, Chi et al. 2001).

Kritisch bei der Diskussion des Aszites als Prognosefaktor ist abschliessend anzumerken ist, dass insgesamt die Datenlage hierzu sehr heterogen und oftmals widersprüchlich ist. Gründe hierfür könnten zu einem die oftmals erst retrospektive Einstufung des Aszitesvolumens und die unterschiedliche Verwendung der Volumengrenzen sein. So unterschieden einige Autoren nur in Subgruppen mit und ohne Aszites andere wiederum verglichen Patientinnen mit einem Aszitesvolumen kleiner/gleich bzw. grösser 500 ml (Makar et al. 1995).

Unsere Analyse bestätigt die Ergebnisse der Studie von Harter et al. hinsichtlich der prognostischen Rolle von Aszites bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom. Bei den rezidierten Ovarialkarzinome mit Aszitesvolumen >500 ml zeigten sich deutlich geringere Überlebenszeiten im Vergleich mit den Fällen mit Aszitesvolumen >500 ml (medianes rezidivfreies Überleben 15 Monate 95%CI [4,5-25,5] vs. 10 Monate 95%CI [3,8-16,2],  $p=0,05$ , bzw. medianes Gesamtüberleben 31,7 Monate 95%CI [24,18-39,38] vs. 22 Monate 95%CI [13,38-30,62],  $p=0,001$ ). Alle 168 Patientinnen mit Ovarialkarzinom mit einer Aszitesmenge grösser als 500 ml hatten ein signifikant kürzeres rezidivfreies und Gesamtüberleben in unserer Untersuchung, gegenüber Patientinnen mit einer Aszitesmenge weniger als 500 ml oder mit keinem Aszites (medianes rezidivfreies Überleben 15 Monate 95%CI [13,06-16,94] vs. 16 Monate 95%CI [10,94-21,05],  $p=0,01$ , bzw. medianes Gesamtüberleben 11 Monate 95%CI [5,3-16,7] vs. 20 Monate 95%CI [13,7-26,3],  $p=0,01$ ).

Ältere Patientinnen haben eine schlechtere Prognose in Vergleich zu jüngeren. In Abhängigkeit von Altersruppen beträgt die 5-Jahres Überlebensrate: für die Gruppe 40-49 Jahren 43,7%, für 60-69 Jahren 34,3 %, für 70-79 Jahren 27,1% und für >80 Jahren 18,1% (Percorelli et al.1998). Zwischen 1970 und 1994 wurden die Todesfälle beim Ovarialkarzinom in Abhängigkeit von Altersgipfel beobachtet. Es wurde eine Verschiebung des Altersgipfels der Todesfälle im Jahr 1994 um 10 Jahre nach oben gegenüber 1970 festgestellt. Bei den jüngeren Frauen (< 60 Jahre) wurde ein Mortalitätsrückgang beobachtet (Scheuerman et al. 1997).

In verschiedene Studien, die das Alter unter dem Aspekt der prognostischen Aussagefähigkeit diskutieren, wurden oftmals unterschiedliche Altersgrenzen.

In einer Studie von Vergote et al. wurden 1545 Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom des Stadium I untersucht (Altersgrenze: 50 Jahre) und kein Einfluss auf das rezidivfreie Überleben beobachtet (Odds Ratio 1,02 95%CI [1–1,03]) (Vergote et al. 2001).

Nach einer Metaanalyse von Thigpen et al (1993) an 2123 Patientinnen, die im Rahmen von sechs randomisierten Studien der GOG behandelt wurden, zählt das Alter neben dem Performance Status und dem postoperativen Tumorrest zu den wichtigsten Prognosefaktoren des Ovarialkarzinoms. Die 5-Jahres Überlebensrate lag in dieser Untersuchung bei 64% für Patientinnen mit einem Alter jünger als 65 Jahren und bei 30% bei Frauen über 65 Jahre (Thigpen et al. 1993).

In unserem Patientinnenkollektiv zeigte sich für Frauen, die jünger als 50 Jahre waren, eine Tendenz für längere Überlebenszeiten im Vergleich mit den Patientinnen zwischen 50-70 Jahre alt und älter als 70 Jahre (medianes rezidivfreies Überleben 21 Monate 95%CI [14,34-27,65] vs. 22 Monate 95%CI [16,04-27,95], 21 Monate 95%CI [15,8-27,36],  $p=0,73$ , bzw. medianes Gesamtüberleben 39 Monate 95%CI [27-39] vs. 38 Monate 95%CI [30,3-41,54], 19 Monate 95%CI [13,13-26,3],  $p=0,94$ ).

In weiteren Studien wurde die prognostische Bedeutung von dem FIGO Stadiums, der Grösse des postoperativen Tumorrest, der Histologie, des Alters bei Erstdiagnose überprüft. Tingulstad et al. haben in einer Kohort-Studie mit 571 Patientinnen, im Zeitraum 1987-1996 die Unabhängigkeit als Prognosefaktoren vom FIGO, postoperativen Tumorrest, Alter geprüft und bestätigt. Der postoperative Tumorrest war auch in der Studie von Ikeda und seine Mitarbeitern ein unabhängiger Prognosefaktor (Ikeda et al. 2003). Der histologische Typ, FIGO Stadium und die postoperative adjuvante Chemotherapie zeigten sich nach einer multivariaten Analyse als unabhängige Prognosefaktoren in einer Studie von Liu und Mitarbeitern (2003).

Eine unabhängige Auswirkung von den verschiedenen klinischen, etablierten prognostischen Faktoren wurde in unserer Analyse mit einer multivariaten Cox Regression bewertet. Nur der postoperative Tumorrest und die Aszitesmenge zeigten bei uns unabhängige prognostische Bedeutung. Verschiedene Arbeiten untersuchten den Einfluss eines tumorpositiven Lymphknotenstatus (FIGO IIIc) von Patientinnen mit Ovarialkarzinom auf die

Überlebensrate (Burghardt et al. 1986, di Re et al. 1996, Panici et al. 2002, 2005). Hierbei war die Prognose von Patientinnen mit Lymphknotenmetastasen (N1) im Vergleich ohne Lymphknotenbeteiligung (NO) insgesamt deutlich schlechter. Der positive Lymphknotenstatus beeinflusst negativ das Gesamtüberleben. Die 5-Jahresüberlebensrate beträgt bei negativem Lymphknotenstatus 71% und bei positivem Lymphknotenstatus 17% (Tsuruchi et al. 1993).

Die meisten Daten hierzu basieren jedoch auf kleinere retrospektive Fallserien. Burghardt et al. analysierten in einer retrospektiven Studie die Gesamtüberlebensrate von 70 Patientinnen mit FIGO-Stadium IIIc, die neben einer maximalen Tumorreduktion auch eine systematische Lymphonodektomie erhielten. Die 5-Jahre-Überlebensrate lag für dieses Patientenkollektiv bei 53%. Die nicht-randomisierte Kontrollgruppe war aus 40 Patientinnen mit FIGO-Stadium IIIc zusammengesetzt, die jedoch keiner Lymphadenektomie unterzogen wurden. Hier lag die 5-Jahre-Überlebensrate nur bei 13% (Burghardt et al. 1991).

Aufgrund der prognostischen Aussagefähigkeit fordern verschiedene Autoren und Therapieempfehlungen die obligate Durchführung der systematischen Lymphonodektomie bei der Primäroperation des Ovarialkarzinoms (Burghardt et al. 1991, Sakurai et al. 2002, Panici et al. 2002, Deutsche Krebsgesellschaft 2006). Die therapeutische Relevanz und der Benefit für die Patientinnen werden jedoch in der Literatur kontrovers diskutiert (Wu et al. 1986, Burghardt et al. 1991, Tsuruchi et al. 1993, Parazzini et al. 1999, Walter et al. 1999). Der Stellenwert der systematischen pelvinen und paraaortalen Lymphonodektomie bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom FIGO Stadium I wurde in einer retrospektiven Studie von Sakurai et al (2002) untersucht. Insgesamt wiesen 17% (24/141) aller Patientinnen mit T1-Ovarialkarzinomen Lymphknotenmetastasen auf. Hierbei stellten die über der A. mesenterica superior gelegenen, paraaortalen Lymphknoten die erste befallene Lymphknotenstation dar (Sakurai et al. 2002). Die hohe Rate positiver Lymphknoten im Frühstadium des Ovarialkarzinoms unterstreicht die Notwendigkeit einer systematischen paraaortalen und pelvinen Lymphonodektomie und deren separate histologische Aufarbeitung für ein adäquates chirurgisches Staging des frühen und fortgeschrittenen Ovarialkarzinom. Die systematische pelvine

und paraaortale Lymphonodektomie ist in den fortgeschrittenen Stadien obligat bei kompletter Tumorresektion. Für den therapeutischen Nutzen spricht die Auswertung der operativen Daten aus dem SCOTROC Trial (ASCO 2005, Crawford et al. 2005). Bei den fortgeschrittenen Stadien mit postoperativem Tumorrest <1 cm profitieren Patientinnen von der systematischen pelvinen und paraaortalen Lymphonodektomie hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens, nicht jedoch bezüglich des Gesamtüberlebens gegenüber der alleinigen Resektion von vergrößerten Lymphknoten (Panici et al. J Nat Cancer Inst 2005). Der Stellenwert der Lymphonodektomie beim Ovarialkarzinom wird weiterhin in einer randomisierten prospektiven, multi-zentrischen Desktop-II Studie von der AGO untersucht.

Bezüglich zu unseren Patientinnen gab es tendenziell längere Rezidivfreies- und Gesamtüberlebenszeiten für die Patientinnen mit primärem Ovarialkarzinom, mit einem metastasenfrem Lymphknotenstatus (33 Monate 95%CI [22-44] vs. 20 Monate 95%CI [12,55-34,5]  $p=0,9$ , bzw. 46,7 Monate 95%CI [40-52,25] vs. 42 Monate 95%CI [32-53,6]  $p=0,11$ ).

Der CA-125 Tumormarker beim Ovarialkarzinom wurde zwar erst 1983 von Bast et al beschrieben, fand aber schnell eine weite klinische Verbreitung (Bast et al.1983, Krebs et al. 1986). Bereits Parker et al. (1994) und Geisler et al. (1996) beschrieben den Einfluss der Konzentration des CA-125 auf die Überlebensrate (Parker et al. 1994, Geisler et al. 1996). Bei Patientinnen mit einem Überleben über 5 Jahren ( $n=15$ ) lag der CA-125-Wert im Mittel bei 900 U/ml, bei Patientinnen mit einer Überlebensdauer unter 5 Jahren ( $n=67$ ) hingegen bei 2000 U/ml ( $p=0,02$ ) (Geisler et al. 1996).

Erhöhte präoperative CA-125 Konzentration im Serum (Normbereich 0-35 U/ml) zeigt eine schlechtere Prognose für Patientinnen mit Ovarialkarzinom (Tingulstad et al. 2003). In der Analyse von Cooper et al. erreichte der präoperative CA-125 Wert (Grenze: 500U/ml) auch in der multivariaten Analyse statistische Signifikanz (Cooper et al. 2002). Ein postoperativ persistierender hoher Wert von CA-125 korreliert mit dem Tumorrest und geht bei Anstieg häufig einer klinischen Tumorprogression voraus (Jacobs et al. 1998, Vergote et al. 1987, van de Burg et al. 1990, Bridgewater et al. 1999). So wird das Tumormarker CA-125 heute sehr häufig

zum Therapiemonitoring der systemischen Chemotherapie eingesetzt (Vergote et al. 1987, Bridgewater et al. 1999, Sehouli et al. 2002).

Ob Patientinnen von einer frühzeitigen Intervention (z.B. Chemotherapie bei CA-125-Erhöhung) bezüglich ihres Überlebens oder Lebensqualität profitieren ist bisher ungeklärt. Der sog. Lead time Bias diskutiert hierbei eine Verlängerung des Therapieintervalles ohne Beeinflussung des Gesamtüberlebens (Sehouli et al. 2001).

In unserer Studie zeigten sich für präoperativ erhöhten Werte des Tumormarkers CA-125 im Serum  $>100$  U/ml ein deutlich kürzeres Gesamtüberleben, statistisch signifikant ( $\leq 100$  U/ml: 38 Monate 95%CI [31-44,8] vs.  $>100$  U/ml; 29 Monate 95%CI [28-39,3],  $p=0,11$ ).

Die Datenlage bezüglich der prognostischen Bedeutung des histologischen Typs ist sehr heterogen auch spielt die Histologie bisher bei der Therapieentscheidung im klinischen Alltag keine Rolle. Dies ist aus tumorbiologischer Sicht problematisch, da sich die verschiedenen histologischen Typen molekularbiologisch und klinisch erheblich unterscheiden. Klarzellige und muzinöse Tumoren weisen eine signifikant ungünstigere Prognose auf als die serös-papillären, und endometrioiden Karzinome und sprechen schlechter auf eine konventionelle platinhaltige Kombinationschemotherapie an (Silverberg 1989, Hess et al. 2003, Enomoto et al. 2003).

Die Datenlage hinsichtlich der prognostischen Relevanz des Grading ist insgesamt sehr uneinheitlich. Gründe hierfür könnten der hohe subjektive Faktor und die Tatsache, dass sehr unterschiedliche Klassifizierungssysteme für die Einstufung des Grading (das WHO-Schema, die Gradingklassifikation nach Silverberg), zur Anwendung kommen (Silverberg 1997). Ausserdem wurde in den publizierten Studien nicht einheitlich eine zentrale histopathologische Begutachtung vorgenommen. Die 5-Jahresüberlebensrate beträgt bei gut differenzierten Tumoren (GI) 70 %, bei mässig differenzierten (GII) 40% und bei schlecht differenzierten (GIII) 38%, für seröse und klarzellige Ovarialkarzinome 42 %, für endometroide Tumoren 53% und für muzinöse Histologien 86% (Schildkraut et al. 2000).

Einige Untersuchungen schreiben dem Grading eine Bedeutung nur in den frühen Tumorstadium FIGO I-II zu, nicht jedoch bei fortgeschrittenen

Erkrankung; andere Studien konnten diesen Unterschied nicht bestätigen (Dembo et al. 1990, Mayr et al. 2000).

Die Differenzierungsgrad der Ovarialkarzinome und der histologischer Typ als Prognosefaktoren liessen sich für unsere Patientinnen nicht bestätigen.

## **4.2 Expression und Polymorphismen von IL-1 $\alpha$ und IL-1 $\beta$ beim Ovarialkarzinom**

Zytokine scheinen in der Tumorgenese maligner Ovarialtumore eine besondere Rolle zu spielen und sind in der Suche nach neuen Prognosefaktoren in den letzten Jahren in den Blickpunkt des Forschungsinteresses verschiedener Arbeitsgruppen gerückt. Polymorphismen eines spezifischen Gens können potentiell zu einer veränderten Gentranskription und Stabilität der Messenger- RNA führen.

### **4.2.1 Polymorphismenmuster der IL-1 A und IL-1 B Gene beim Ovarialkarzinom**

Polymorphismen konnten in allen 3 Gene der IL-1 Familiemitgliedern (IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$  und IL-1 RA) nachgewiesen werden, die sehr nahe nebeneinander auf dem Chromosom 2q lokalisiert sind (Bidwell et al. 2002). Es existiert eine relative Homologie und eine interregulatorische Beziehung zwischen IL-1 A, IL-1 B und IL-1 RN (Dinarello 1994, Hurme et al. 1998). Mutationen in einem dieser Gene kann potentiell die Expression und Funktion anderer Gene beeinflussen. Eine Variante von IL-1 B Genotyp (-511 T) verursacht eine Hochregulierung des IL-1 RA in der Anwesenheit von IL-1 RN Polymorphismus (IL-1 RN2). Die Polymorphismen der Zytokinegene könnten Änderungen der Proteinexpression in verschiedenen Erkrankungen verursachen (Arend 1998).

Verschiedene Studien konnten zeigen, dass in der Tumorgenese solider Malignome das Netzwerk der IL-1 Zytokine eine besondere Rolle spielt

(Dinarello et al. 1991, van Le et al. 1991, Smith et al. 1993, Castrilli et al. 1997, Mustea et al. 2003, Sehouli et al. 2003).

Aktuelle Untersuchungen beschreiben einen Zusammenhang zwischen einem Polymorphismus des IL-1 RA Gen und dem Vorliegen von soliden Malignomen (Castrilli et al. 1997, Fujiwaki et al. 1997, El-Omar et al. 2000, Sehouli et al. 2003).

So wies die Arbeitsgruppe von El-Omar auf, dass ein Polymorphismus des IL-1 RA mit einem zunehmenden Risiko für ein Magenkarzinom assoziiert ist.

Weiterhin wurde in dieser Studie bei Patienten mit IL-1 B -31 T Polymorphismus und einer chronischen Infektion mit Helicobacter Pylori ein erhöhtes Risiko für Malignität nachgewiesen. Ein erhöhtes Risiko für das Magenkarzinom zeigte sich auch für IL-1 B-511 T Allelen und IL-1 RN2-Homozygoten. Die IL-1-511T und IL-1 RN2-Homozygoten zeigen stärkere Korrelation mit dem Magenkarzinomsrisiko gegenüber der Heterozygoten, mit OR von 2,7 (95%CI 1,5-4,9) bzw. 3,1 (95% CI 1,5-6,5) (EL-Omar 2001,2003). Diese Ergebnisse wurden von anderen Autoren bestätigt (Machado et al. 2001, Zeng et al. 2003). Die Ergebnisse von El-Omar et al. ergänzen somit die Hypothese der multifaktoriellen Tumorentstehung solider Malignome und könnten bei soliden Tumoren, wie dem Magenkarzinom erklären warum nur ein geringer Anteil der Menschen mit Risikofaktoren, z.B. Helicobacter pylory Infektion, ein Karzinom entwickeln (Forman et al. 2004).

Zu gynäkologischen Tumoren liegen in der Literatur nur marginale Daten vor. In einer prospektiven Fallstudie von Mustea et al. wurden die Polymorphismen von IL-1 RA Gens bei 113 Patientinnen mit Zervixkarzinom und 107 Patientinnen mit benignen gynäkologischen Erkrankungen, mittels PCR Methode untersucht. Die Häufigkeit von Allele2 beim Heterozygoten mit Zervixkarzinom war im Vergleich mit der Häufigkeit von Allele2 bei Patientinnen mit gutartigen Ovarialerkrankungen signifikant unterschiedlich (IL-1 RA 1/2 : 24,8% vs. 13,1%, p=0,039; OR 1,8 95%CI 1,4-4,4).

Es zeigten sich keine signifikanten Korrelationen zwischen klinischen konventionellen Faktoren (postoperativer Tumorrest, histologischer Grading, Rezidivstatus, Alter) und IL-1 RA Polymorphismen beim Zervixkarzinom (Mustea et al. 2003). Diese Arbeitsgruppe hat auch bei 108 Patientinnen mit Ovarialkarzinom und 112 Frauen mit gutartigen gynäkologischen Erkrankungen die

Polymorphismen von IL-1 RA mittels PCR untersucht. Für IL-1 RN2-Heterozygoten (IL-1 RA 1/2) zeigten sich ein signifikant erhöhtes Ovarialkarzinomrisiko, mit OR von 2,7 (95%CI 1,4-5,2) und unterschiedliche Häufigkeiten zwischen Ovarialkarzinome und der Kontrollgruppe (32,4% vs. 15,2%,  $p=0,0004$ ). Keine signifikanten Korrelationen dieser Mutation mit Überlebensdaten und klinischen Faktoren (postoperativer Tumorrest, Azitesmenge, Alter, histologischer Grading, Rezidivstatus) wurden beobachtet (Sehouli et al. 2003).

Hefler und Mitarbeiter haben in einer Fall-Kontrollstudie bei 94 Patientinnen mit Ovarialkarzinom, 27 Borderline Tumoren und 134 gesunde Frauen, ohne Malignomerkrankungen, die Allelenhäufigkeiten und Polymorphismen von IL-1 A-889 C/T und IL-1 B -511 C/T mittels Pyrosequenzierungsmethode und Polymorphismen von IL-1 RA mittels PCR Methode (VNTR-variable number of tandem repeats) untersucht. Die Allelenhäufigkeiten von diesen Loci waren beim OC und CG nicht signifikant unterschiedlich. In Kontrast zu den Ergebnisse von Sehouli et al. konnte diese Arbeitsgruppe keine signifikanten Unterschiede zwischen Patientinnen mit und ohne Ovarialkarzinom beobachten. Zwischen den untersuchten Genotypen und dem Ovarialkarzinomrisiko, den Überlebensdaten und den klinischen, pathologischen Faktoren ergab sich keine signifikante Korrelation (Hefler et al. 2002).

Als mögliche Erklärungsursachen für diese differenten Resultate könnten die unterschiedliche Stadien- und Histologieverteilung der eingeschlossenen Patientinnen verantwortlich sein.

So wurde in der Studie von Sehouli et al. im Vergleich zur Untersuchung von Hefler et al. von folgender Stadienverteilung berichtet: Stadium I: 15,7 % vs. 40,8%; Stadium II: 6,5% vs. 12,7%; Stadium III-IV: 77,7% vs. 45,6%. Die Rate an Patientinnen mit klarzelligem Ovarialkarzinom war ebenfalls mit 3,7% vs. 11% unterschiedlich. Patientinnen mit klarzelligem Ovarialkarzinom weisen in der Regel eine deutlich schlechtere Gesamtprognose auf und scheinen im Vergleich zu den anderen histologischen Typen ein differentes zyto-genetisches Profil zu besitzen (Dent et al. 2002, Hess et al. 2003, Enomoto et al. 2003).

In unserer Studie zeigten sich keine signifikanten Korrelationen zwischen den untersuchten Genotypen und dem Karzinomrisiko. Die

Genotypenhäufigkeiten von IL-1 A (-889 Situs) und IL-1 B (-511 Situs) unterschieden sich nicht zwischen OC und CG (Tabelle 31). Es zeigten sich keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den IL-1 Genotypen und den klinischen Faktoren. Die Ergebnisse unserer Untersuchung bestätigen die Resultate von Hefler. Nach einer univariaten und multivariaten Überlebensanalyse zeigten sich keine signifikanten Überlebensunterschiede zwischen den verschiedenen Genotypen und keine unabhängige prognostische Rolle für die IL-1 A und IL-1 B Polymorphismen.

Tabelle 31: Allelenhäufigkeiten (IL-1 A -889 Situs, IL-1 B -511 Situs, IL-1 RN-Intron 2) beim OC in Vergleich mit CG-Literaturübersicht

	Eigene Daten		X <sup>2</sup> TEST	Hefler et al. 2002			X <sup>2</sup> TEST
	OC N=147	CG N=129		OC N=94	BORDERLINE N=27	CG N=134	
<b>IL-1 A</b>							
-889 C	198	185	0,4	190	41	185	0,58
-889 T	96	73		78	13	83	
<b>IL-1 B</b>							
-511 C	188	160	0,6	164	31	172	0,59
-511 T	102	92		104	23	96	

#### 4.2.2 Einfluss des Polymorphismus der IL-1 A, IL-1 B Gene auf die Expression von IL-1 Zytokine im Serum und Aszites beim OC und CG

IL-1 B nimmt an der IL-1 RA Produktion und Expression in vivo teil (Hurme et al 1998). Die -511 T Allele sind notwendig um die IL-1 RA Expression zu verstärken (Hurme, Santilla 1998). Hull und Mitarbeiter (2004) haben den Einfluss von -511 T Allele auf die IL-1  $\beta$  Produktion bestätigt.

Eine Expressionsabhängigkeit von verschiedenen Polymorphismen des IL-1 Gen wurde nach unserer Kenntniss bisher nicht untersucht. Wir haben bei 33 OC und 39 CG die Expression der IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$  und IL-1 RA in

Zusammenhang mit den verschiedenen Polymorphismen an IL-1 A (-889 Locus) und IL-1 B (-511 Locus) untersucht.

Nach einem Vergleich der Zytokinexpression im Serum und Aszites für jeden Genotyp der IL-1 A (-889 Locus) und IL-1 B Gene (-511 Locus) bei 33 OC und 39 CG zeigten sich keine signifikante Unterschiede. Nur die IL-1  $\beta$  Konzentration im Aszites hat sich mit dem IL-1 A C/C Genotyp signifikant korreliert ( $p=0,04$ ). Das -889 C Genotyp zeigte eine signifikant höhere Expression von IL-1  $\beta$  im Aszites im Vergleich mit -889 T Genotyp.

#### **4.2.3 Expressionsprofil der IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ und IL-1 RA im Serum und Aszites beim Ovarialkarzinom**

Die Produktion von IL-1  $\alpha$  und IL-1  $\beta$  ist in Zelllinien verschiedener Tumoren nachgewiesen worden. Ein Einfluss des Tumorwachstums durch IL-1 kann durch autokrine Effekte des IL-1, durch die Induktion weiterer Zytokine (IL-6, TGF $\beta$ , CSFs, IL-8) und durch die Aktivierung gewebständiger Zellen (Fibroblasten, Endothelzellen) und Expression von Adhäsionsmolekülen erklärt werden.

Immunhistochemische Untersuchungen von Ovarialkarzinomgewebe und Normalgewebe des Ovars haben gezeigt, dass Ovarialkarzinomzellen in vitro signifikant erhöhte Niveaus von IL-1  $\alpha$  und IL-1  $\beta$  im Vergleich mit Normalgewebe des Ovars exprimieren (Huleihel et al. 1997, Burke et al. 1996). IL-1  $\alpha$  aktiviert die Tyrosinphosphorylierung und Zellproliferation beim Ovarialkarzinom (Chen et al. 2001). Auch IL-1 RA wird von der Ovarialtumorzellen in vitro exprimiert (Burger et al. 1994).

In der Literatur finden sich nur wenige Studien mit meist sehr kleinen Kollektiven, die die Expression von IL-1 im Serum und Aszites beim Ovarialkarzinom näher untersucht haben.

Die Arbeitsgruppe um Punnonen (Punnonen et al. 1998) untersuchte die Expression von IL-1  $\beta$  im Serum bei 15 Patientinnen mit primärem Ovarialkarzinom, im Aszites von insgesamt 9 primären Ovarialkarzinomen unterschiedlicher Differenzierung und im Gewebelysat beim 9 Ovarialkarzinome und 10 benignen Ovarialtumoren. IL-1  $\beta$  wurde im Ovarialkarzinom-

Gewebelysat, im Vergleich mit benignen Ovarialtumoren überexprimiert nachgewiesen, jedoch statistisch nicht signifikant. Keine Expression von IL-1  $\beta$  im Serum und Aszites konnte beim OC beobachtet werden. Es zeigten sich keine Korrelationen zwischen der Expression von IL-1  $\beta$  im Gewebe und FIGO Tumorstadium.

Ähnliche Ergebnisse zur Expression des IL-1 Zytokins beim Ovarialkarzinom sind von der Arbeitsgruppe von Moradi (Moradi et al. 1993) beschrieben worden. In dieser Studie wurde die Expression von IL-1  $\alpha$  und IL-1  $\beta$  im Serum und peritoneale Flüssigkeit an insgesamt 53 primären Ovarialkarzinomen, 35 „second-look“ und 33 gesunde Frauen (CG), analysiert. Es zeigten sich keine signifikante Expressionsunterschiede für die OC und CG und auch keine Überexpression im Serum und Aszites für das Ovarialkarzinom. Der Mittelwert lag bei 23,7 pg/ml für IL-1  $\beta$  (CG), 5,71 pg/ml (OC) im Aszites und bei 14,6 pg/ml (CG), 5,29 pg/ml (OC) im Serum. Die Expression von IL-1  $\alpha$  konnte weder im Serum, noch im Aszites für die OC und CG nachgewiesen werden.

Zeisler et al. zeigten in einer retrospektiven Studie mit 75 Patientinnen mit primärem Ovarialkarzinom, 30 benignen gynäkologischen Tumoren und 50 gesunden Frauen signifikante Expressionsunterschiede für IL-1  $\alpha$  und IL-1  $\beta$  im Serum. Der Mittelwert lag bei 0,99 pg/ml für IL-1  $\alpha$ , 12,47 pg/ml für IL-1  $\beta$  im Serum von Patientinnen mit Ovarialkarzinom. Bei den benignen Tumoren und gesunden Frauen konnte ein Mittelwert von 0,52 pg/ml für IL-1  $\beta$  im Serum festgestellt werden. Kein Nachweis von IL-1  $\alpha$  im Serum war bei diesen Fälle möglich. Es zeigten sich keine signifikante Korrelationen weder mit konventionellen klinischen Faktoren, noch mit rezidivfreiem und Gesamtüberleben.

In einer Studie von Fujiwaki wurde die Expression von IL-1 RA, neben IL-1  $\alpha$  und IL-1  $\beta$  bei 15 gynäkologische Malignome (7 Zervixkarzinome, 6 Endometriumkarzinome, 12 Ovarialkarzinome), 7 benigne gynäkologische Erkrankungen und 10 gesunde Frauen, mittels ELISA untersucht (Fujiwaki et al. 1997. Bei einem Medianwert von 674 pg/ml (range 502,8-3014) lag die Expression von IL-1 RA bei den gynäkologischen Malignome signifikant höher im Vergleich mit der Kontrollgruppe (Median 512,7 pg/ml, range 483-694,9).

Wir haben in unserer Arbeit die Konzentrationen von IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$  und IL-1 RA im Serum und Aszites bei 53 Patientinnen mit Ovarialkarzinom und 50 Patientinnen mit benignen, gynäkologischen Erkrankungen untersucht, um die Rolle dieser Zytokine in der Tumorigenese und das Expressionsmuster zu analysieren.

IL-1  $\alpha$  war beim OC und CG sowohl im Serum, als auch im Aszites schwach exprimiert. Eine mögliche Erklärung wäre hierfür, dass IL-1  $\alpha$  am häufigsten intrazellulär oder membranär-verbundet sich befindet. Eine erniedrigte Expression von IL-1  $\alpha$  im Serum und peritoneale Flüssigkeit fand auch die Arbeitsgruppe um Moradi (Moradi et al. 1993).

IL-1  $\beta$  im Aszites und IL-1 RA im Aszites und Serum waren beim OC im Vergleich mit CG signifikant stärker exprimiert.

Die rezidierte OC zeigten eine signifikant erhöhte Expression von IL-1  $\alpha$  im Aszites im Vergleich mit CG. IL-1  $\beta$  und IL-1 RA waren im Aszites gegenüber Serum beim OC stärker exprimiert. Die Konzentrationen von IL-1 RA sind beim OC im Serum und auch im Aszites deutlich höher im Vergleich mit IL-1  $\alpha$  und IL-1  $\beta$ . Über hohe Konzentrationen von IL-1  $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-1 RA beim Ovarialkarzinom wurde nachgewiesen (Zeissler et al. 1998, Kondera et al. 2003, Fujiwaki 1997). Andere Autoren bewiesen keine Unterschiede in der IL-1 Expression beim Ovarialkarzinom (Punnonen et al. 1991, Moradi et al. 1993) (Tabelle 32).

Tabelle 32: Literaturübersicht-Expression von IL-1 bei Patientinnen mit gynäkologischen Karzinomen

Autoren	Methode	Kollektiv	p
Zeisler et al.-European Journal of Cancer 1998	ELISA-Serum	IL-1 $\alpha$ und IL-1 $\beta$ Expression 75 OC 80 CG	sign.
Burke-Cytokine 1996	RT-PCR-Ovarialzellen Southern-Blott	IL-1 $\alpha$ und IL-1 $\beta$ spezifische mRNA Nachweis/Expression in Ovarialtumorzellen 12 OC 10 CG 6 OC-Zelllinien 3 OC-Xenografts	sign.
Punnonen et al.-J Cancer Res Clin Oncol 1991	EIA-Serum, Aszites, Zystenflüssigkeit, Tumorgewebe	IL-1 $\beta$ Nachweis in Tumorgewebe 12 OC 13 CG	n.s.

Fujiwaki et al.-Britisch Journal of Obstetrics and Gynaecology 1997	ELISA-Serum	IL-1 RA Expression in Serum IL-1 $\beta$ nicht nachgewiesen	7 ZC 6 EC 12 OC 17 CG	Sign.
Kondera-Anasz et al.-Ginekol Pol. 2003	ELISA-Serum	IL-1 $\alpha$ und IL-1 sRII Nachweis in Serum OC>ZC>>CG	21 ZC 16 OC 35 CG	Sign.
Moradi et al.-Cancer 1993	ELISA-Serum, Aszites, peritoneale Flüssigkeit	IL-1 $\alpha$ und IL-1 $\beta$ Expression	52 OC 33 CG	n.s.
Fujiwaki et al.-Gynecologic Oncology 2003	ELISA-Serum, Gewebe Western-Blott Immunhistochemie.	IL-1 RA Typ I intrazellulär nachgewiesen (ZC) IL-1 RA Expression in Serum ZC>>CG Höhe Expression assoziiert sich mit schlechterer Prognose beim ZC	47 ZC 13 CG	Sign.
Huleihel et al.-Eur. Cytokine Netw 1997	Immunhistochemie ELISA-Ovarialzellen	IL-1 $\alpha$ und IL-1 $\beta$ Nachweis/Expression in Ovarialtumorzellen	10 OC 7CG	Sign.
Eigene Daten	ELISA-Serum, Aszites	IL-1 $\beta$ , IL-1 RA Überexpression im Aszites beim OC IL-1 RA Überexpression im Serum beim OC IL-1 RA-Höhe Expression assoziiert mit schlechterer Prognose beim OC	53 OC 50 CG	Sign.

- n.s.=nicht signifikant
- Sign.=signifikant
- ZC=Zervixkarzinom
- EM=Endometriumkarzinom
- OC=Ovarialkarzinom
- CG=Kontrollgruppe

In unserer Studie haben wir die Expression der IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$  und IL-1 RA im Serum und Aszites mit konventionellen klinischen Faktoren korreliert. Signifikante Mittelwertunterschiede gab es in unsere Studie für IL-1 RA im Aszites in Abhängigkeit von FIGO Stadien ( $p=0,049$ ), für IL-1 RA im Serum in Abhängigkeit von Aszitesmenge ( $p=0,046$ ) und für IL-1  $\beta$  im Aszites in Abhängigkeit von histologischer Differenzierung ( $p=0,03$ ). Wesentliche Korrelationen zwischen Expression von IL-1 und konventionellen klinischen Faktoren konnten von anderen Arbeitsgruppen nicht nachgewiesen (Moradi et al. 1993, Zeisler et al. 1998).

Eine signifikante Verschlechterung des rezidivfreien Überlebens zeigte sich in Zusammenhang mit höheren Konzentrationen von IL-1  $\beta$  im Aszites (>cut-off Wert 1,92 pg/ml) und Serum (>cut-off Wert 0,67 pg/ml). Patientinnen mit erhöhten Konzentrationen von IL-1 RA im Aszites (>cut-off Wert 695,6 pg/ml) zeigten ein kürzeres Rezidivfreies und Gesamtüberleben in Vergleich mit den Patientinnen mit einer niedrigen IL-1 RA Expression im Aszites.

In der multivariaten Analyse wurden ausschliesslich IL-1 RA Überexpression im Aszites und Aszites als unabhängige prognostische Faktoren für das Überleben identifiziert. Somit haben wir in unserer Studie die prognostische Bedeutung von IL-1 RA Expression im Aszites geprüft. Bis jetzt wurde in keiner anderen Studie der Einfluss von IL-1 RA auf die Prognose der Patientinnen mit Ovarialkarzinom untersucht. Weitere Studien sollen unsere Ergebnisse bestätigen.

Zu gynäkologischen Tumoren liegen zur Zeit in der Literatur nur marginale Daten zur Expression von IL-1 und dessen prognostischer Bedeutung vor. Fujiwaki und Mitarbeitern (2003) zeigten einen Einfluss der Überlebenszeiten in der univariate Analyse, in Abhängigkeit von IL-1 RA Überexpression im Serum bei 38 Patientinnen mit squamösem Zervixkarzinom. Die Patientinnen mit einer erhöhten Expression von IL-1 RA im Serum hatten ein deutlich kürzeres rezidivfreies Überleben gegenüber Patientinnen mit einer niedrigen Expression unter dem Median-Wert ( $p < 0.01$ ). In dieser Studie zeigte sich eine wesentliche Überexpression von IL-1 RA im Serum bei Patientinnen mit Zervixkarzinom (38 Plattenepithelkarzinome, 9 Adenokarzinome des Zervix) im Vergleich mit gesunden Kontrollen (N=13).

IL-1 hat myeloprotektive und myelorestorative Funktionen und kann die T und B Zellen aktivieren und die NK-, Lymphokin-aktivierte Zellen unterschützen und stimulieren (Dinarello 1994). IL-1 RA blockiert die IL-1 RI und dadurch die Funktionen von IL-1. Es folgt ein immunsuppressiver Effekt, der die Tumorausbreitung und Tumorrezidive vorteilt (Hurme et al. 1998). Die Angaben in der Literatur zur IL-1 Expression im Serum und peritonealen Flüssigkeit bei Ovarialkarzinomen unterliegen einer starken Varianz. Gründe für diese Diskrepanz sind möglicherweise das Vorliegen heterogener Patientinnen-Kollektive (geringer Anzahl der untersuchten Fälle, Patientinnen-selektion).

Die Ergebnisse unserer Untersuchung und die Daten in der Literatur bestätigen die Erkenntnisse der in vitro Untersuchungen, dass eine Erhöhung der Expression von IL-1 stark mit der Fähigkeit von Ovarialkarzinomzellen zur Tumorprogression und -invasion bzw. Metastasierung vergesellschaftet zu sein scheint.