

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 5-Jahresüberleben der Tumorpatientinnen

Von den 112 Patientinnen konnte bei 1 Patientin das weitere Schicksal nicht weiter verfolgt werden. Es bleiben damit für die Auswertung des Überlebens 111 Patientinnen. Davon starben innerhalb des fünfjährigen Nachbeobachtungszeitraumes 44 Patientinnen (39,6%), 67 Patientinnen (60,4%) überlebten.

##### 3.1.1 FIGO-Stadien und Gesamtüberleben

<b>FIGO-Stadium N=111</b>	<b>5-Jahres- Überleben</b>
<b>FIGO I (N=47)</b>	85,1% (N=40)
<b>FIGO II (N=33)</b>	63,6% (N=21)
<b>FIGO III (N=23)</b>	13% (N=3)
<b>FIGO IV (N=8)</b>	37,5% (N=3)

*Tabelle 8: 5-Jahres-Überleben nach FIGO-Stadium.*

Betrachtet man das Überleben abhängig vom Tumorstadium nach FIGO in der Kaplan-Meier-Darstellung (Abbildung 4), so unterscheiden sich die Kurven im Log Rank Test für die FIGO III und IV Patientinnen nicht signifikant voneinander ( $p=0,5807$ ), für die anderen Tumorstadien ergeben sich aber jeweils signifikante Unterschiede (Abbildung 4).

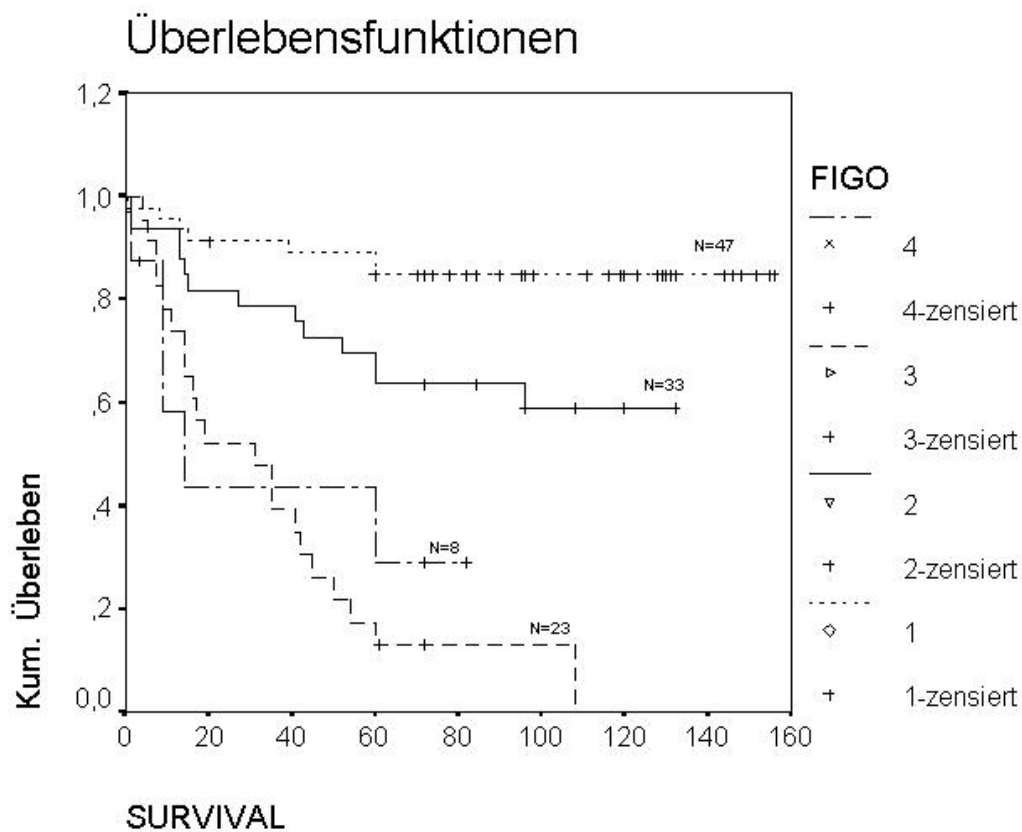


Abbildung 4: Überleben (Survival) der Patientinnen in Monaten Abhängigkeit vom Tumorstadium. (FIGO I/II  $p=0,0146$ , FIGO I/III  $p=0,0000$ , FIGO I/IV  $p=0,0001$ , FIGO II/III  $p=0,0000$ , FIGO II/IV  $p=0,0454$ , FIGO III/IV  $p=0,5807$ ).

### 3.1.2 Überleben nach Grading (Tabelle 9, Abbildung 5)

Das 5-Jahres-Überleben der 111 Patientinnen nach Grading ist in *Tabelle 9* wiedergegeben.

Grading (N=111)	5-Jahres-Überleben
Hoch differenziert (N=5)	100 % (N=5)
Mässig differenziert (N=55)	43,6 % (N=24)
Niedrig differenziert (N=51)	39,2 % (N=20)

Tabelle 9: 5-Jahres-Überleben nach Grading

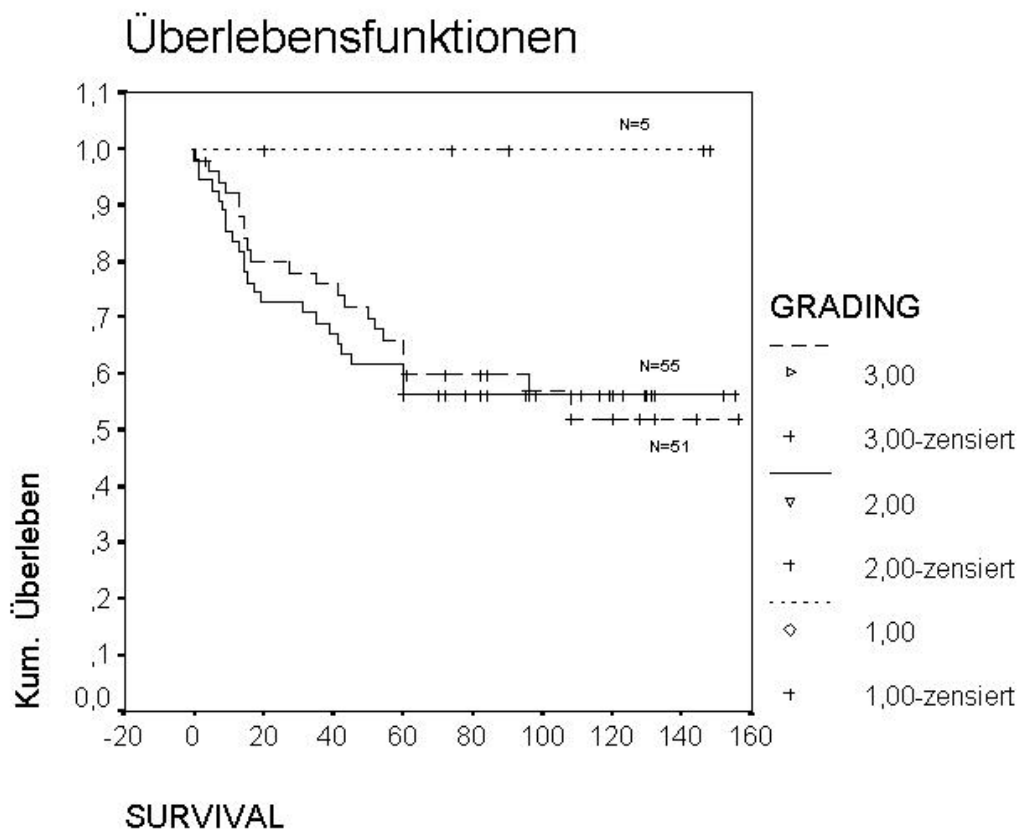


Abbildung 5: Überleben in Monaten in Abhängigkeit vom Grading in der Kaplan-Meier Darstellung. Kein signifikanter Unterschied zwischen mässig (G2) und niedrig (G3) differenzierten Karzinomen ( $p=0,83$  im Logranktest). Auch kein signifikanter Unterschied zu den hochdifferenzierten Tumoren, was jedoch fallzahlbedingt ist ( $p=0,10$  für G1/G2 und  $p=0,11$  für G1/G3).

Auffällig in den Überlebensdarstellungen nach Grading (Abbildung 5) ist - bei fallzahlbedingt allerdings geringer Aussagekraft - , daß alle Patientinnen mit hochdifferenziertem Karzinom überlebt haben, sowie die Tatsache, dass das Überleben der niedrig differenzierten Karzinome sich nicht signifikant von den mäßig differenzierten Karzinomen zu unterscheiden scheint.

### 3.1.3 Überleben nach Primärtherapie (Tabelle 10, Abbildung 6)

Man kann das Patientenkollektiv anhand der primären Behandlungsform (keine/operativ/Bestrahlung) in drei große Gruppen unterteilen. Hinsichtlich des Überlebens ergibt sich das in Abbildung 6 dargestellte Bild.

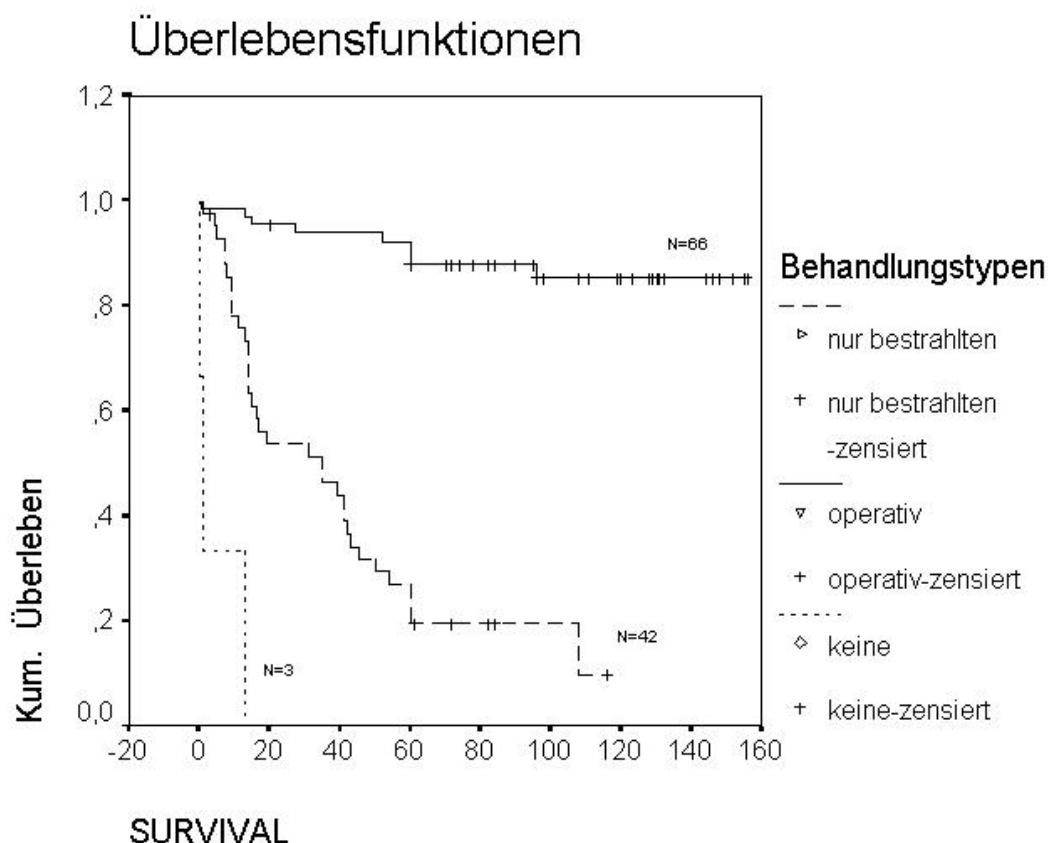


Abbildung 6: Überleben in Abhängigkeit von der erfolgten Primärtherapie. Die primär bestrahlten Patientinnen unterscheiden sich von den nicht behandelten (Logranktest  $p=0,0001$ ) und den primär operierten Patientinnen ( $p=0,0000$ ) jeweils höchst signifikant aber sich die primär bestrahlten auch höchst signifikant von den primär operierten ( $p=0,0000$ ).

Am schlechtesten ist, wie nicht anders zu erwarten, das Überleben der aufgrund eines schlechten Allgemeinzustandes nicht weiter behandelten Patientinnen. Auch die primär bestrahlte Gruppe zeigt ein schlechteres Überleben als die primär operierten, wobei dabei miteingeht, daß in der Regel einerseits ja auch nur die früheren Stadien bis zu einem FIGO-Stadium IIA noch operiert werden, andererseits Voraussetzung für eine Operation ein ausreichender Allgemeinzustand ist.

Behandlungstyp (N=111)	5-Jahres-Überleben
Keine (N=3)	0% (N=0)
Bestrahlung (N=42)	21,4% (N=9)
Operation (N=66)	87,9% (N=58)

Tabelle 10: 5-Jahres-Überleben nach primärer Behandlungsmethode

### 3.1.4 Überleben nach Lymphknotenstatus (*Tabelle 11, Abbildung 7*)

Da der Lymphknotenstatus ein etablierter Prognosefaktor beim Zervixkarzinom ist, erscheint es sinnvoll, diesen Prognosefaktor im untersuchten Kollektiv zu betrachten. Nach Unterteilung des Kollektives der operierten Patientinnen, bei denen der Lymphknotenstatus bestimmt wurde, in nodalpositive und nodalnegative Patientinnen wird in der Darstellung des Überlebens nach Kaplan Meier (*Abbildung 7*) der Einfluß des Lymphknotenstatus auf das Überleben deutlich. Hier unterscheiden sich die Kurven für die nodalpositiven und nodalnegativen Patientinnen statistisch signifikant ( $p=0,0018$ ). Gleiches gilt für das 5-Jahresüberleben (*Tabelle 11*).

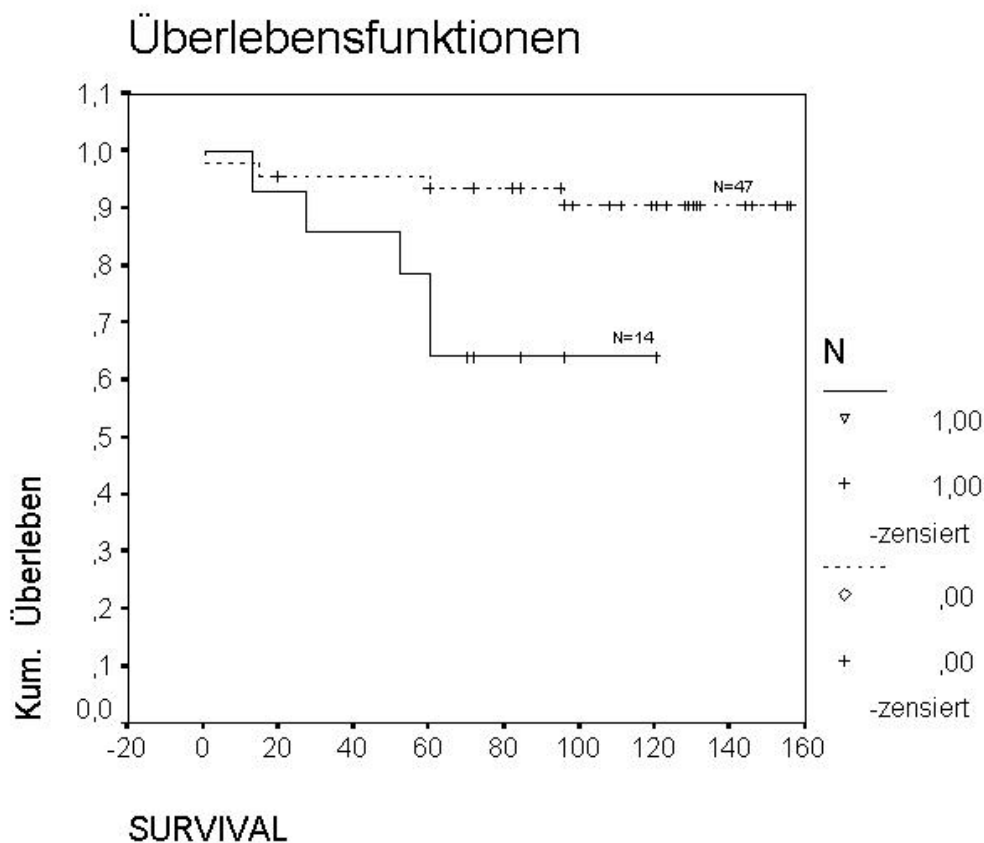


Abbildung 7: 5-Jahres-Überleben in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus. 0= nodal-negativ, 1= nodal-positiv ( $p=0,0081$  Logranktest)

Lymphknotenstatus (N=61)	5-Jahres-Überleben
Nodalnegativ (N=47)	93,6% (N=44)
Nodalpositiv (N=14)	64,3% (N=9)

Tabelle 11: 5-Jahresüberleben der operierten Patienten in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus (Chi Quadrat Test  $p=0,004$ )

## 3.2 Ergebnisse in Abhängigkeit von den nachgewiesenen Antigenen

### 3.2.1 CR-1-Expression in den verschiedenen Geweben

#### 3.2.1.1 Normales Plattenepithel der Zervix (Bild 4, Bild 5, Bild 6, Bild 7)

Normales Plattenepithel der Ektozervix ist CR-1-negativ. Im Bereich des Zervikalkanal aber findet sich CR-1 zunehmend exprimiert, wobei die basalen Zellschichten eine zytoplasmatische Färbung zeigen, welche in den parabasalen und mittleren Epithelschichten in eine membranständige Färbung übergeht und sich im gesunden Epithel zur Epitheloberfläche hin verliert. Darüberhinaus ließ sich in einigen Fällen eine Anfärbung von Gefäßwandmuskulatur beobachten. Auch Reservezellen des Zylinderepithels des Zervikalkanals waren positiv. In einem Fall fand sich auch ein umschriebenes Areal positiver Endometriumdrüsen.

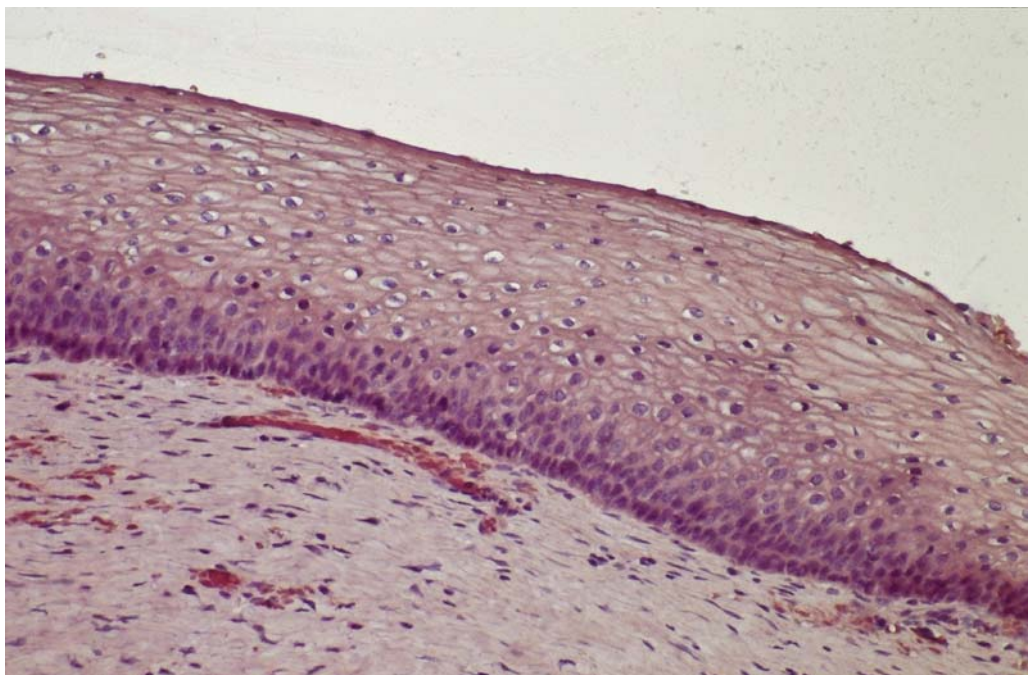
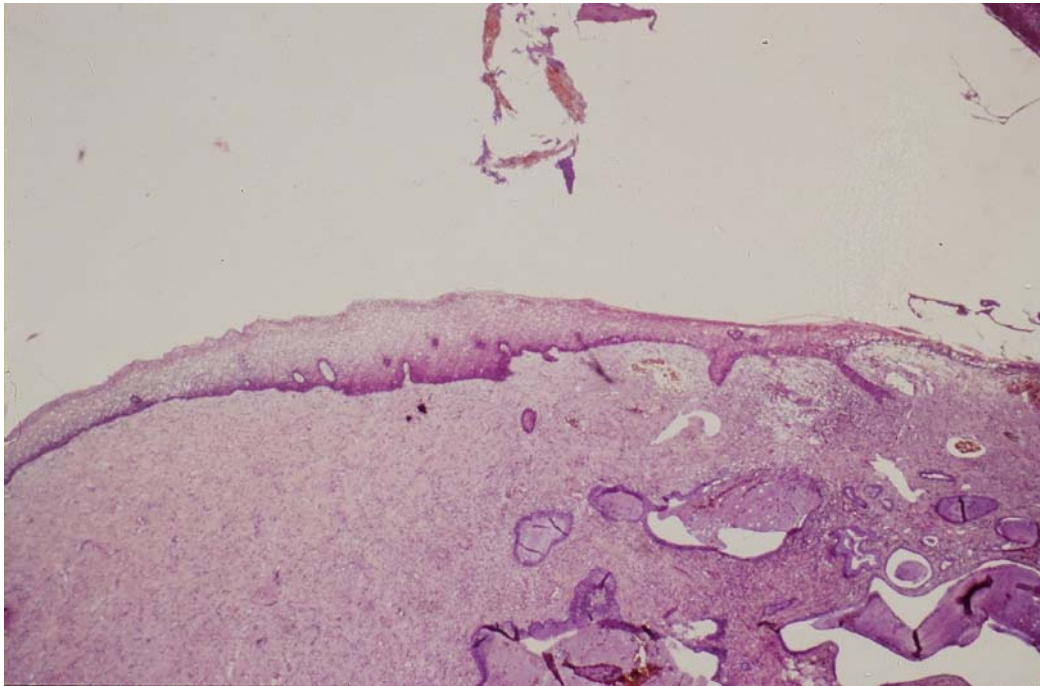
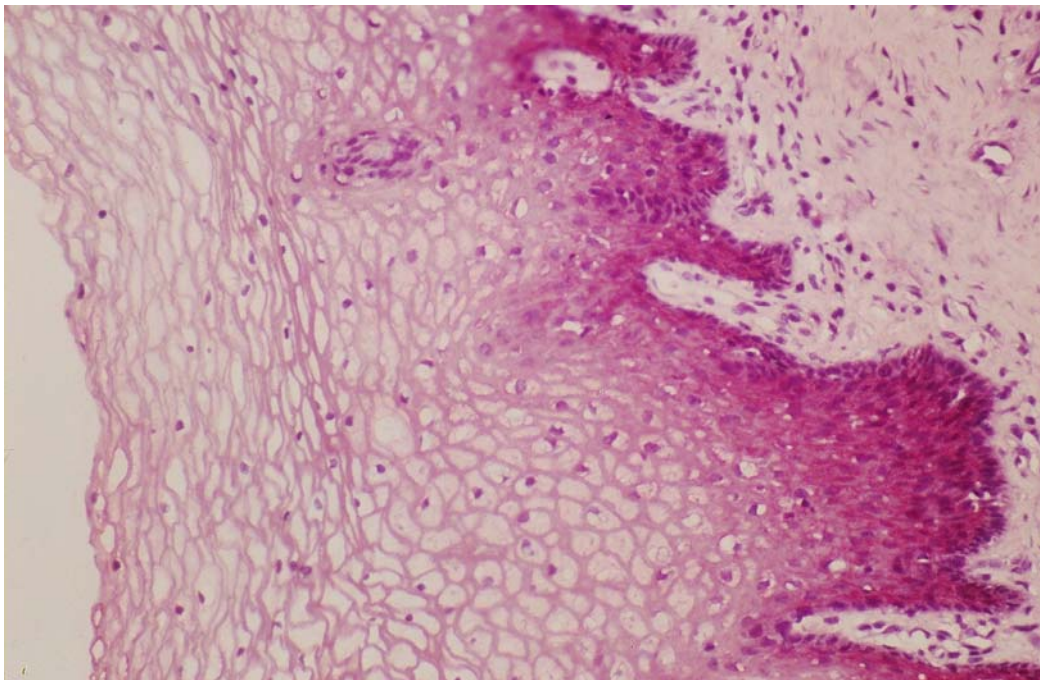


Bild 4: CR-1 negatives Plattenepithel der Ektozervix. (100 fach).

## Ergebnisse

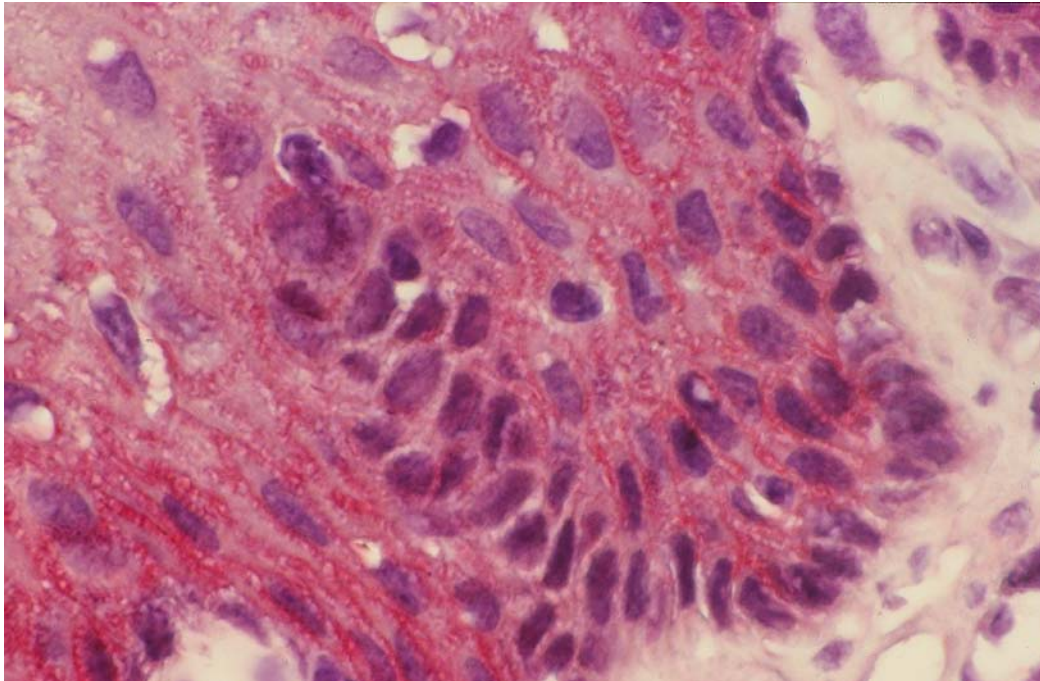


*Bild 5: Übergang zum Zervikalkanal (rechts im Bild). Zum Zervikalkanal hin zunehmender Nachweis von CR-1, vgl. die folgenden Bilder mit Detailaufnahmen (25-fach).*



*Bild 6: Zum Zervikalkanal in den basalen Zellen stärkere CR-1-Expression (200 fach)*





*Bild 7: Basal CR-1 positives Plattenepithel des Zervikalkanals (1000 fach), Detailaufnahme von Bild 6.*

### ***3.2.1.2 Cervikale Intraepitheliale Neoplasie (Bild 8, Bild 9)***

Bei CIN Läsionen im Bereich des Zervikalkanals zeigt sich ein Persistieren der im gesunden Epithel angefundene basalen Färbung bis in höhere Epithelschichten mit überwiegend membranösem Expressionsmuster. Läsionen der Ektozervix dagegen sind überwiegend völlig negativ. In einigen Fällen zeigt sich jedoch auch hier ein Muster, welches dem sonst innerhalb des Zervikalkanals angetroffenen Färbemuster mit basalen positiven Zellen, deren Färbung in den höheren Schichten in eine Membranfärbung übergeht, entspricht. Zum Teil finden sich auch kleine membrangefärbte Inseln im dysplastischen Epithel. Es bestand kein klarer Zusammenhang des Färbemusters zum Grad der Dysplasie.

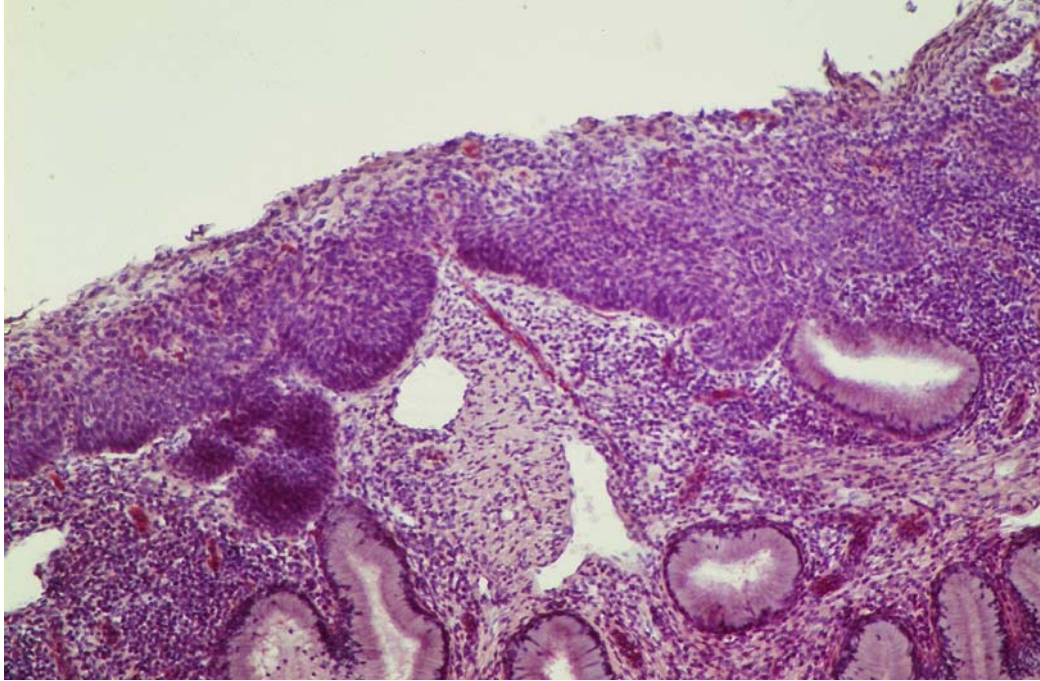
### ***3.2.1.3 Plattenepithelkarzinom der Zervix (Bild 10, Bild 11, Bild 12)***

Die im Karzinom beobachtete CR-1-Expression waren stärker als die im Normalgewebe oder in der Dysplasie beobachtete Antigenexpression. Die Färbungen waren hier durchweg zytoplasmatischer Art. In einigen Präparaten fanden sich homogen positive in das umgebende Gewebe einwachsende Tumorzapfen. Häufig fanden sich die am stärksten CR-1 positiven Zellen dabei in

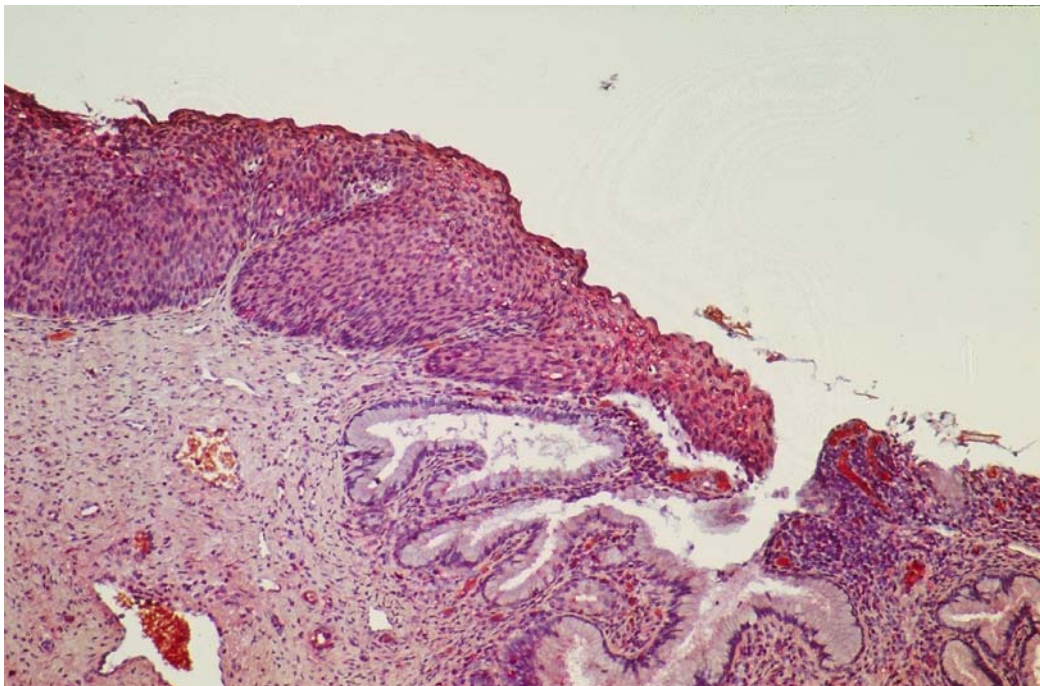


## Ergebnisse

tumorläppchenzentralen Gruppen angeordnet (*Abbildung 11*). An mehreren Präparaten fand sich aber auch eine stärkere Positivität der Invasionszone der in die Umgebung einwachsenden Tumorareale (*Abbildung 10*). Dieses Färbemuster fand sich aber nicht durchgängig.



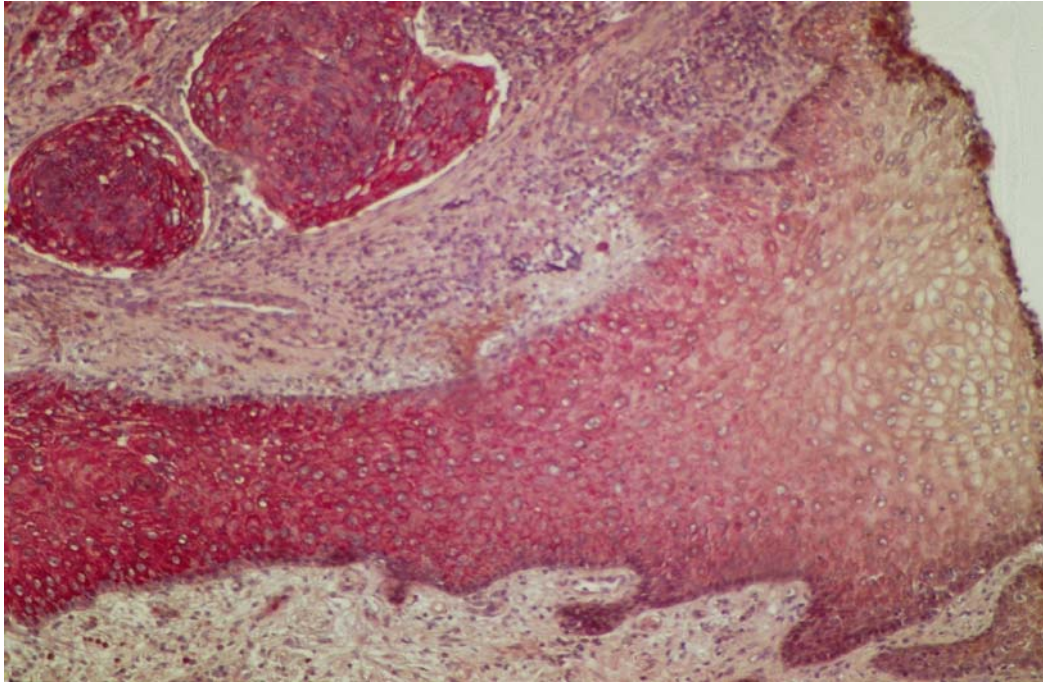
*Bild 8: CR-1 negative CIN III im Bereich einer Zervixdrüse (100 fach).*



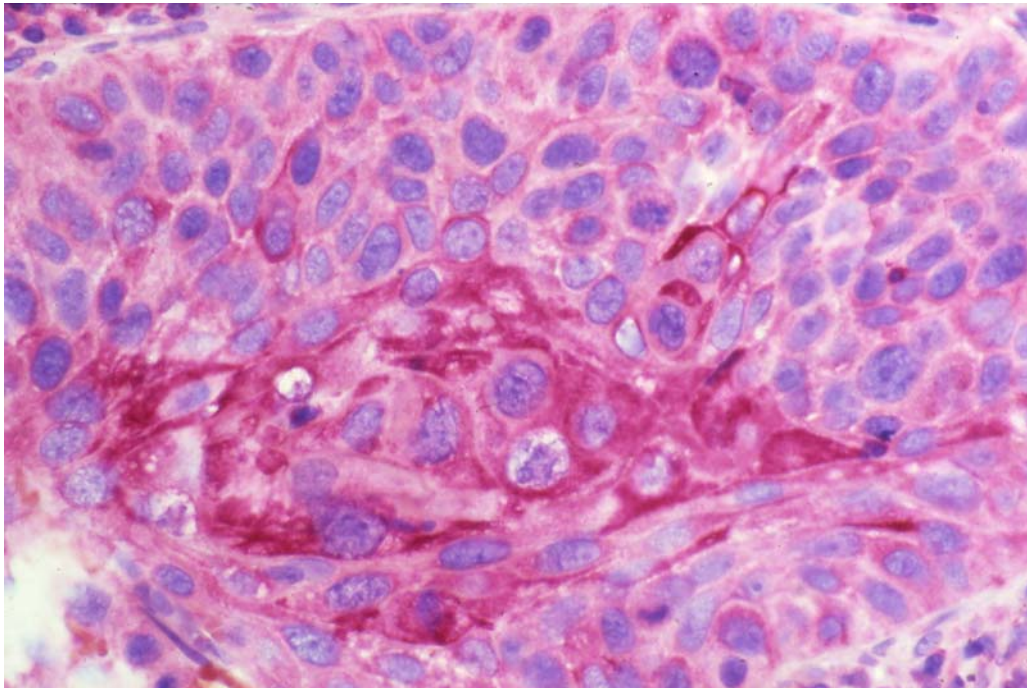
*Bild 9: Schwach CR-1 positive CIN III, ebenfalls im Bereich einer Zervixdrüse (100 fach).*



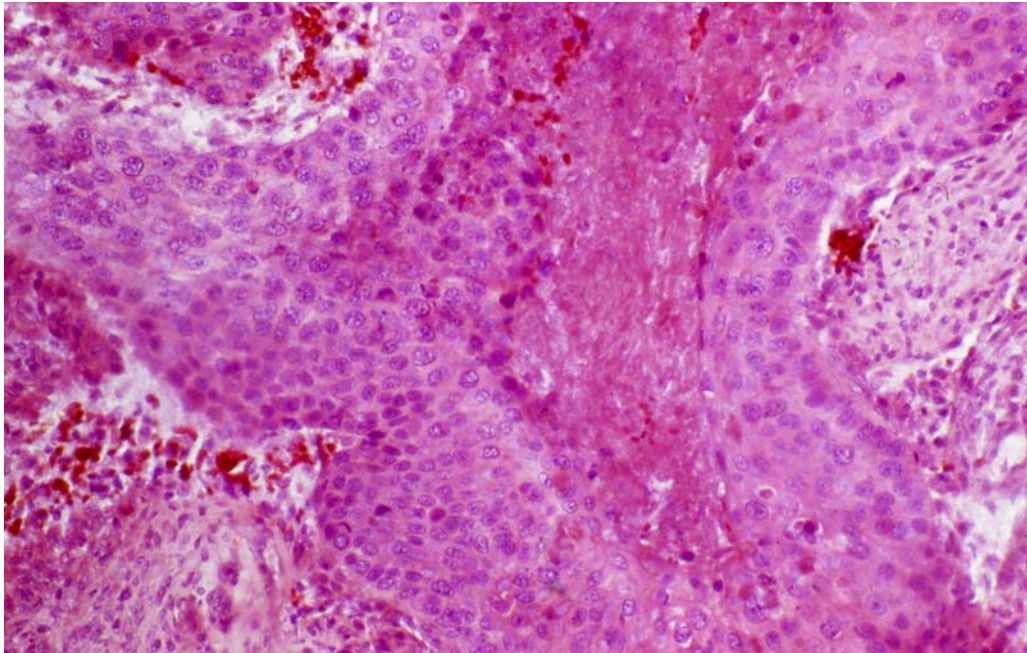
## Ergebnisse



*Bild 10: Areal eines CR-1 positives niedrig differenzierten Plattenepithelkarzinoms. Positive Invasionsfront (100 fach).*



*Bild 11: CR-1 positives mässig differenziertes Plattenepithelkarzinom. Zentral stark positiver Tumorzapfen (400 fach).*



*Bild 12: CR-1 negatives mässig differenziertes Plattenepithelkarzinom. 200 fache Vergrößerung.*

#### ***3.2.1.4 Vergleich der CR-1-Expressionsstärke in Normalgewebe, CIN und Plattenepithelkarzinom (Abbildung 8)***

Die Expressionsstärke im Normalgewebe erreichte Scores zwischen 0 und 5 bei einem Median von 2. In der CIN wurden Scores von 0 bis 6,5 bei einem Median von ebenfalls 2 , im Karzinom Scores von 0 bis 12 bei einem Median von 5 erreicht. Während sich Expression in Normalgewebe und CIN nicht signifikant voneinander unterscheiden, ( $p=0,906$  Mann-Whitney U Test ) findet sich im Karzinom eine signifikant stärkere Expression als in Dysplasie oder Normalgewebe (jeweils  $p=0,000$ ).

## Ergebnisse

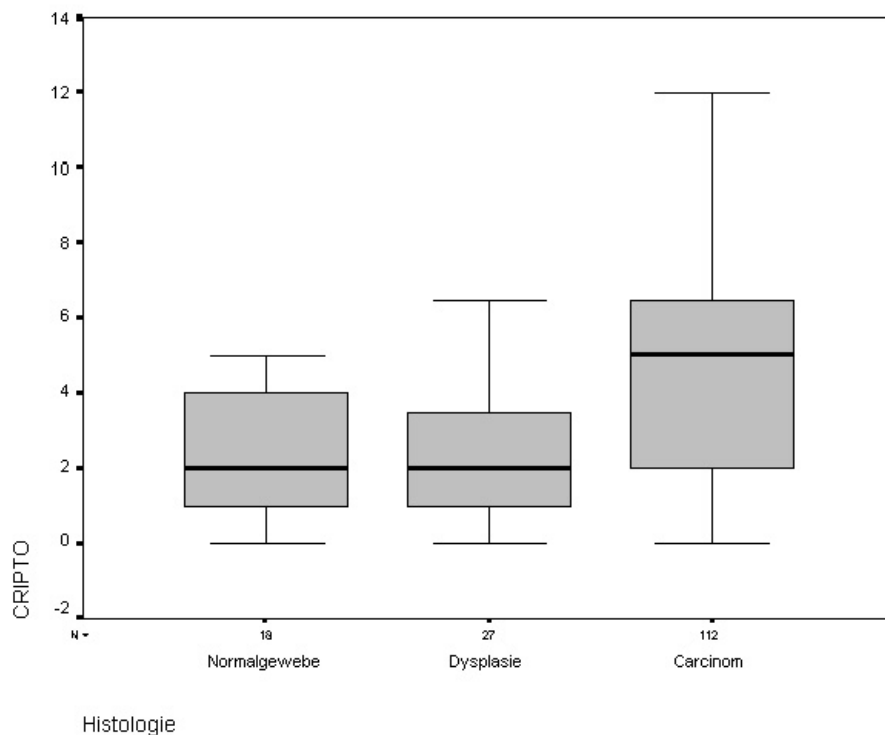


Abbildung 8: Vergleich der erreichten CR-1-Scores für Normalgewebe, Dysplasie und Karzinom. Die im Karzinom erzielten Scores liegen signifikant über den in Normalgewebe oder Dysplasie erreichten (Mann-Whitney U Test  $p=0,000$ )

### 3.2.1.5 Korrelation der CR-1-Expression mit klinischen Parametern

Für die Korrelation der Expressionsdaten mit klinischen Parametern wurden die Präparate mittels eines Cut Offs von 4 in CR-1-positive ( $\geq 4$ ) und CR-1-negative ( $< 4$ ) Präparate unterteilt. Dieser Cut Off von 4 wurde aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit für alle drei untersuchten Antigene gleich gewählt.

#### 3.2.1.5.1 Korrelation mit den FIGO-Stadien (Abbildung 9)

Bei der Korrelation mit den FIGO-Stadien der Patienten wurden die FIGO-Substadien außer Acht gelassen, um eine Aufsplitterung des Kollektivs in zu kleine Gruppen zu vermeiden (Abbildung 9). Wie aus obiger Abbildung ersichtlich, ist die Verteilung der positiven und negativen Karzinome innerhalb der vier FIGO-Stadien

## Ergebnisse

annähernd gleich. Es besteht keinerlei signifikante Abhängigkeit der CR-1-Expression vom FIGO-Stadium (ChiQuadrat Test  $p=0,418$ ).

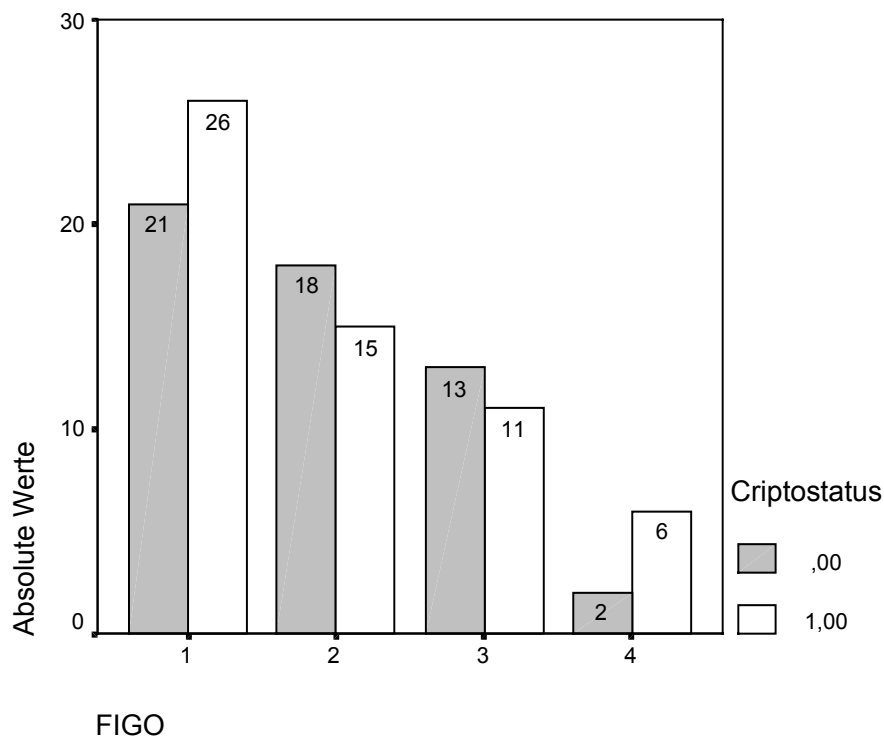


Abbildung 9: Verteilung CR-1- negativer (00) und CR-1-positiver Karzinome (1,00) in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium (Chi Quadrat Test  $p=0,418$ ).

### 3.2.1.5.2 Korrelation mit dem Grading (Abbildung 10)

Betrachtet man die Verteilung der CR-1-positiven und -negativen Karzinome in Abhängigkeit vom Grading (Abbildung 10), so zeigt sich, daß auch hier die positiven und negativen Karzinome sich in allen Gradinggruppen annähernd gleich verteilen. Es besteht keinerlei signifikante Abhängigkeit der CR-1-Expression vom Grading (ChiQuadrat  $p=0,927$ ).

## Ergebnisse

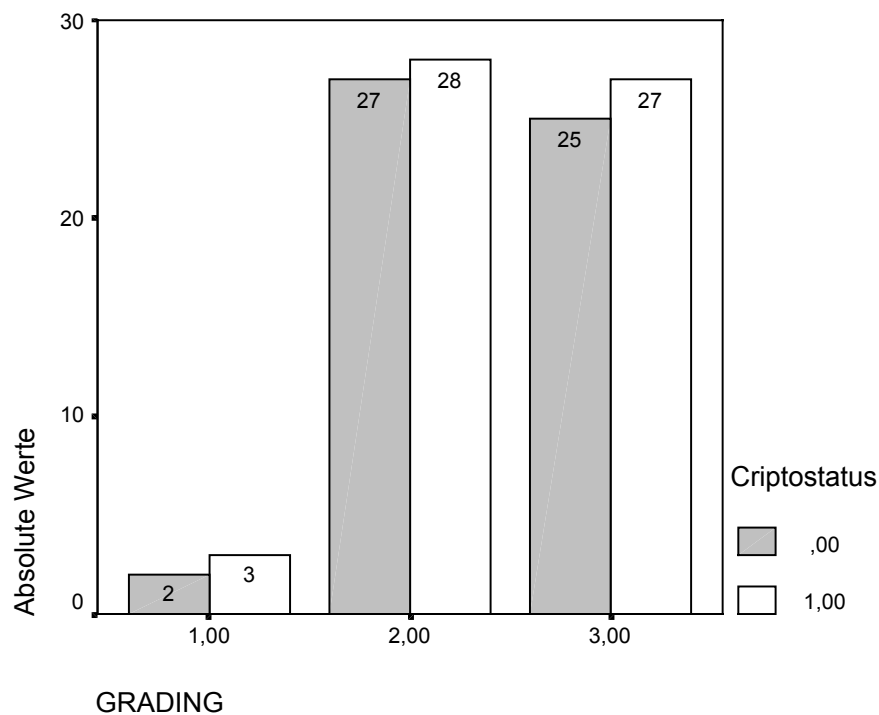


Abbildung 10: CR-1-negative(,00) und CR-1-positive (1,00) Karzinome in Abhängigkeit vom Grading (Chi Quadrat Test  $p=0,927$ ).

### 3.2.1.5.3 Korrelation mit dem Lymphknotenstatus (Abbildung 11)

Von den 112 Patientinnen wurde bei 61 operierten Patientinnen der Lymphknotenstatus erhoben. 14 Patientinnen waren nodalpositiv, 47 Patientinnen waren nodalnegativ. In *Abbildung 11* ist die Verteilung CR-1 negativer und CR-1 positiver Karzinome abhängig vom Lymphknotenstatus dargestellt.

Wie man der Abbildung entnehmen kann, ist das Verhältnis von CR-1-positiven zu – negativen Primärtumoren bei den Patientinnen mit und ohne Lymphknotenmetastasen gleich. Es gibt keinerlei Zusammenhang zwischen der CR-1-Expression des Primärtumors und dem Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen (Chi Quadrat-Test  $p=0,984$ ).



## Ergebnisse

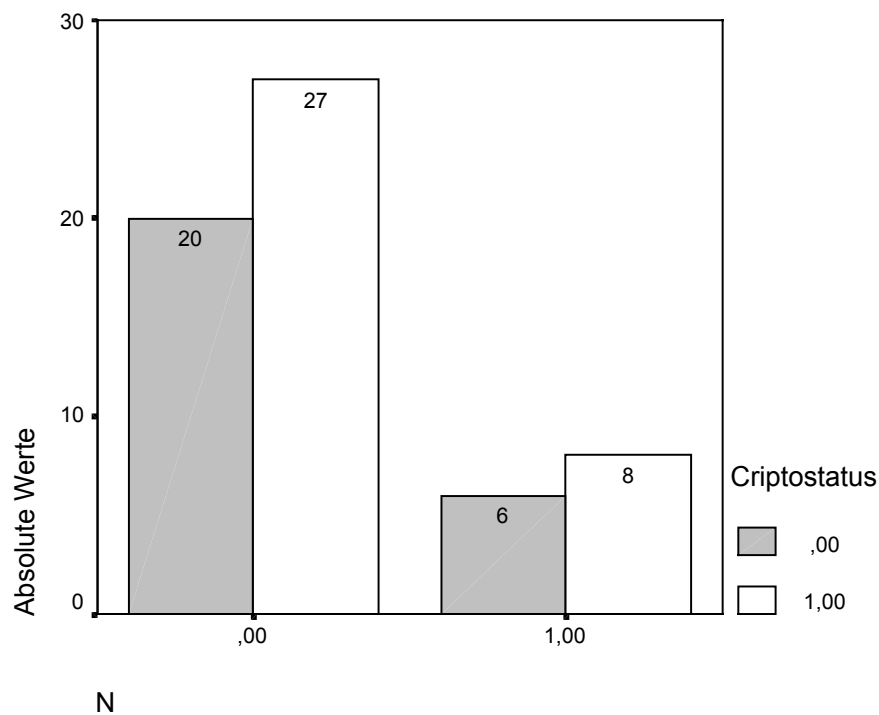


Abbildung 11: Verteilung der CR-1 negativen (0,00) und positiven (1,00) Karzinome in Abhängigkeit von Lymphknotenstatus (00=nodal-negativ, 1,00= nodal-positiv), ChiQuadrat  $p=0,984$

### 3.2.1.5.4 Überlebensanalyse (Abbildung 12, Tabelle 12)

Um zu untersuchen, ob die Expression von CR-1 möglicherweise das Überleben der Patienten beeinflusst, erfolgte ein Vergleich der Überlebenszeiten im Hinblick darauf, ob der Primärtumor CR-1 exprimierte oder nicht. Bezüglich des 5-Jahres-Überleben ergeben sich keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den CR-1-positiven und CR-1-negativen Patientinnen (Tabelle 12). In der Kaplan-Meier-Darstellung des Überlebens über diesen Zeitraum hinaus in Abhängigkeit von der CR-1-Expression zeigt sich zwar ein gering besseres Überleben der CR-1-positiven Patientinnen, auch dieser Unterschied erreicht jedoch keine Signifikanz (Abbildung 12).

Criptostatus (N=111)	5-Jahres-Überleben
CR negativ (N=54)	30 (55,5%)
CR positiv (N=57)	37 (64,9%)

Tabelle 12: 5-Jahres-Überleben der CR-positiven und negativen Patientinnen. Kein signifikanter Unterschied im 5-Jahres-Überleben ( $p=0,314$  im Chi-Quadrat Test)

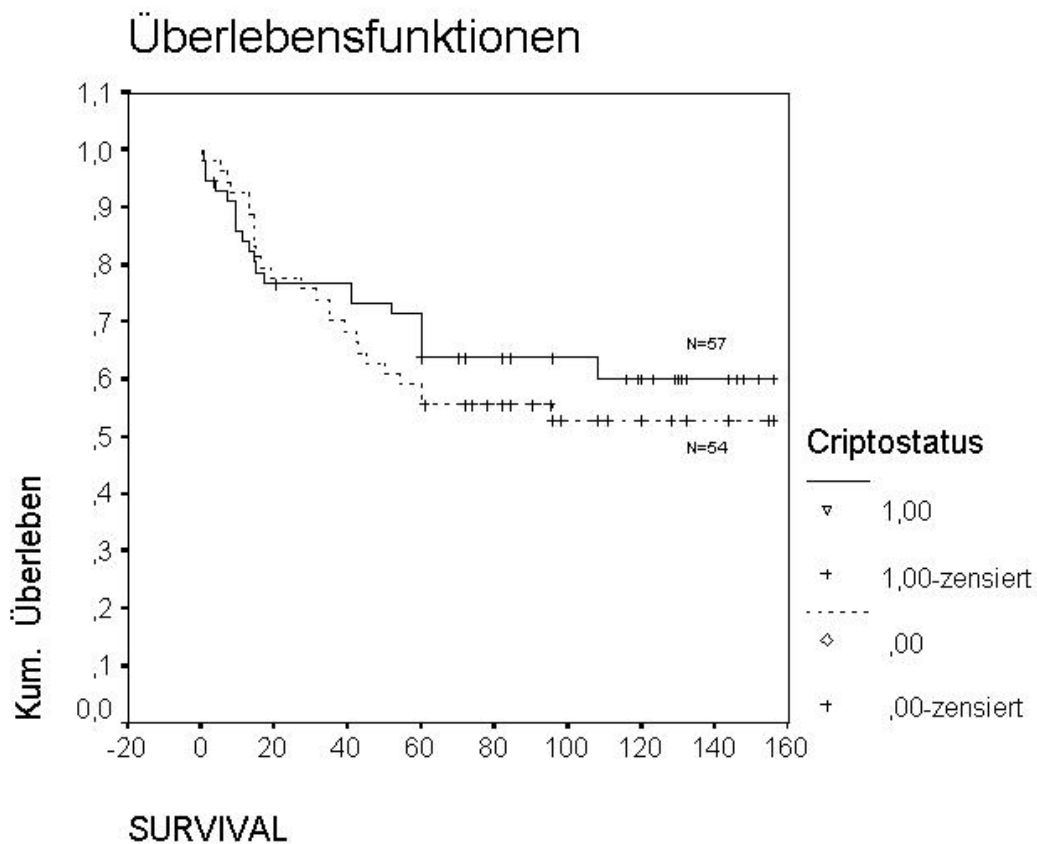


Abbildung 12: Darstellung des Überlebens (in Monaten) in Abhängigkeit vom CR-1 Status. Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen CR-1 positiven (1,00) und negativen (,00) Karzinomen ( $p=0,4179$ ) im Logranktest.

Darüberhinaus wurde, der Einfluß der CR-1-Expression auf die beiden prognostisch unterschiedlichen Gruppen der primär operierten und primär bestrahlten Patientinnen untersucht.

Es ließ sich für die operierten Patientinnen kein signifikanter Überlebensunterschied in Abhängigkeit von der CR-1-Expression nachweisen (Abbildung 13).

Abbildung 14 zeigt die entsprechende Kurve für die 42 bestrahlten Karzinompatientinnen. Auch bei dieser prognostisch ungünstigen Gruppe besteht kein Zusammenhang zwischen der CR-1-Expression und dem Überleben (Log Rank Test  $p=0,2267$ ).

## Ergebnisse

### Überlebensfunktionen

BHDL = operativ

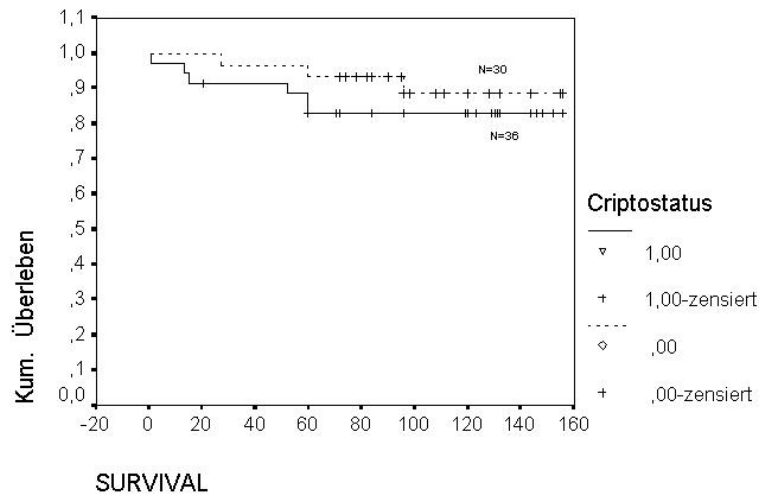


Abbildung 13: Einfluß der CR-1- Expression auf das Überleben der 66 operierten Patientinnen ( 1= CR-1-positiv, 0= CR-1-negativ,  $p=0,3802$  Logranktest). Kein signifikanter Unterschied.

### Überlebensfunktionen

BHDL = primär bestrahlt

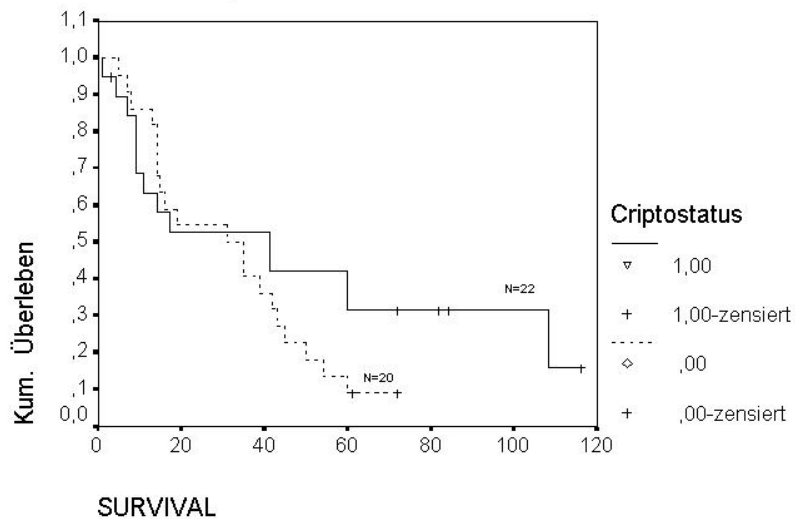


Abbildung 14: Überleben der 42 primär bestrahlten Patientinnen in Abhängigkeit vom CR-1-Status ( 0= CR-1 negativ, 1= CR-1 positiv in der Kaplan-Meier Darstellung. Kein signifikanter Unterschied im Überleben ( $p=0,2267$  Logranktest).

## Ergebnisse

### 3.2.1.5.5 CR-1-Expression in Abhängigkeit vom Alter der Karzinompatientinnen (Abbildung 15)

Um zu klären, ob es Unterschiede in der CR-1-Expression der Karzinome in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen gibt, und somit eventuell Risikogruppen für eine schnelle Karzinomentwicklung zu erfassen, wurden die Patientinnen in zwei Gruppen, nämlich jünger als 40 bzw. älter als 40 eingeteilt und die erreichten Färbescores betrachtet.

Das Ergebnis ist auf der folgenden Graphik (Abbildung 15) dargestellt. Wie man sieht, unterscheiden sich die erreichten Scores nur unwesentlich.

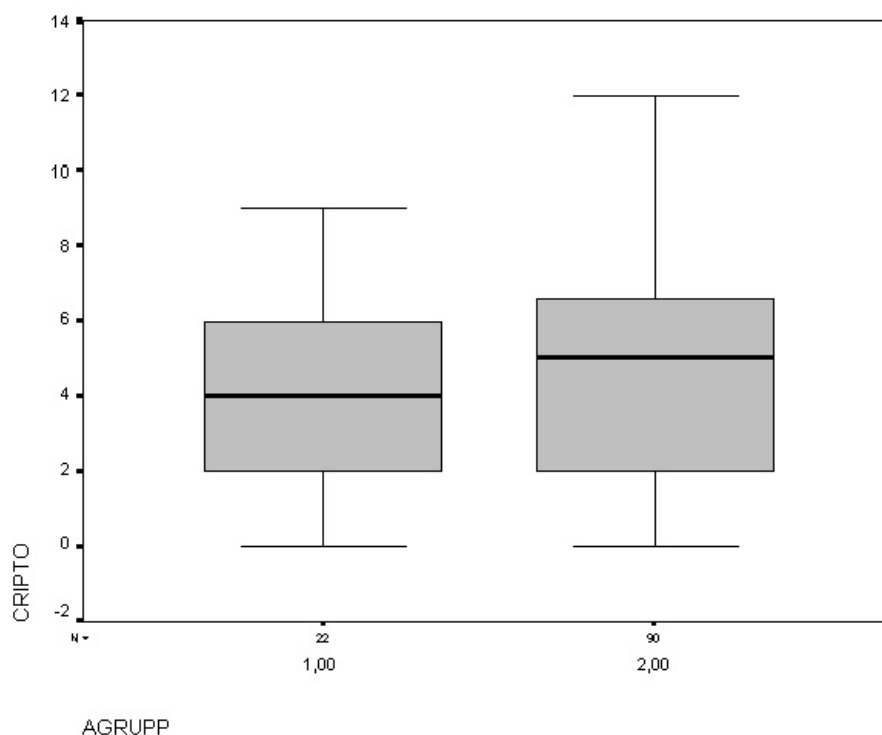


Abbildung 15: Darstellung der CR-1-Expression der Karzinome in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen (Gruppe 1: bis 40 Jahre, Gruppe 2: 41 bis 99 Jahre). Kein signifikanter Unterschied zwischen Patientinnen mit potentiell langer und potentiell kurzer Zeit der Karzinomentwicklung ( $p=0,216$  Mann Whitney U Test).

## 3.2.2 TGF $\alpha$ -Expression in den verschiedenen Geweben

### 3.2.2.1 Normales Plattenepithel der Zervix (Bild 13)

Das normale Plattenepithel der Ektozervix war grundsätzlich negativ für TGF $\alpha$ . Gelegentlich fanden sich jedoch auch hier deutlich positive Basalzellen, wobei sich

## Ergebnisse

dann  $TGF\alpha$  in unterschiedlich starkem Maße auch in den darüberliegenden Epithelschichten nachweisen ließ. In einem Präparat fand sich auch eine Membranfärbung lediglich in den oberen Epithelschichten und mittleren Epithelschichten. Auffällig war ferner, daß die Zervixdrüsen zum größten Teil positiv waren.

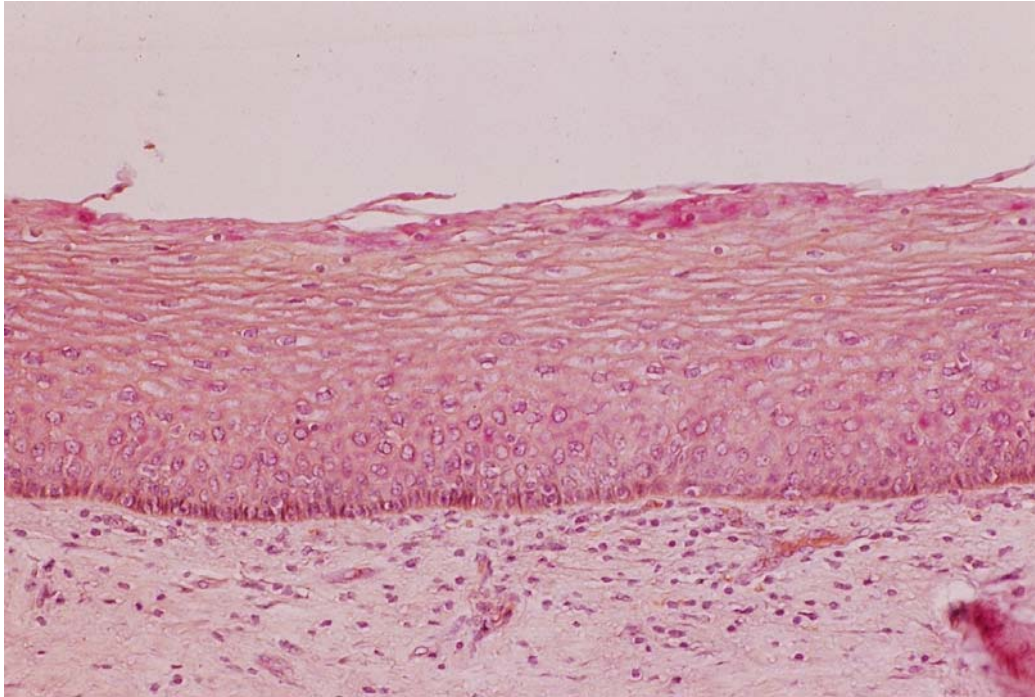


Bild 13:  $TGF\alpha$  negatives Plattenepithel (100 fach).

### 3.2.2.2 Cervikale Intraepitheliale Neoplasie (Bild 14)

Bei den CIN I-II Präparaten fand sich bei  $TGF\alpha$  oft eine schwache Färbung in den basalen bis parabasalen und mittleren Epithelschichten. Zum Teil ließ sich dabei auch ein membranäres Muster feststellen. In mehreren Präparaten fanden sich stärkere Färbungen in Bereichen stärkerer Dysplasien. CIN III Areale waren seltener positiv und zeigten ein homogenes Färbemuster, welches von negativ bis mässig positiv reichten; die erreichten Färbintensitäten blieben jedoch meist gering .

## Ergebnisse

### 3.2.2.3 Plattenepithelkarzinom der Zervix (Bild 15, Bild 16)

Im Karzinom fand sich für  $TGF\alpha$  ein recht inhomogenes Bild; überwiegend waren die positiven Zellen große und zytoplasmareiche Zellen mit zytoplasmatischem Färbemuster. Daneben fanden sich in einigen Fällen kleine und zytoplasmaarme Zellen mit einer Kernfärbung. Die größeren Zellen lagen dabei zumeist in Gruppen oder Zügen angeordnet, die kleineren zum Teil auch im Gewebe versprengt. Häufig fand sich auch eine Betonung der Invasionsfront bzw. peripheren Tumoranteile, in einigen wenigen Fällen fanden sich die positiven Anteile aber auch zentraler. Die erreichten Intensitäten und Scores lagen deutlich über denen im CIN und Normalgewebe.

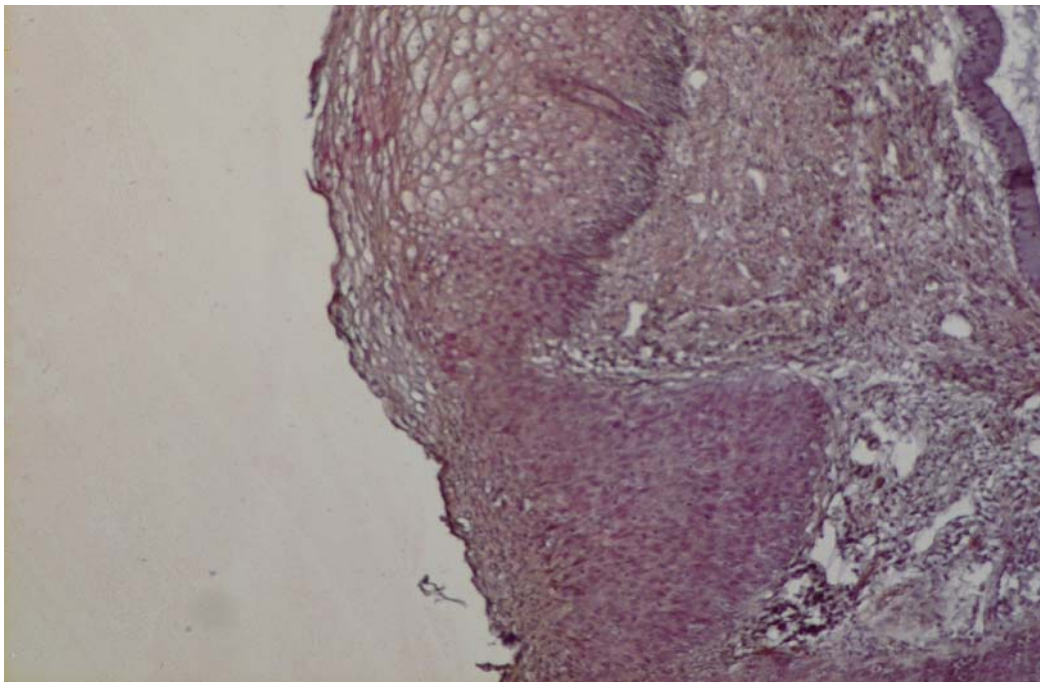
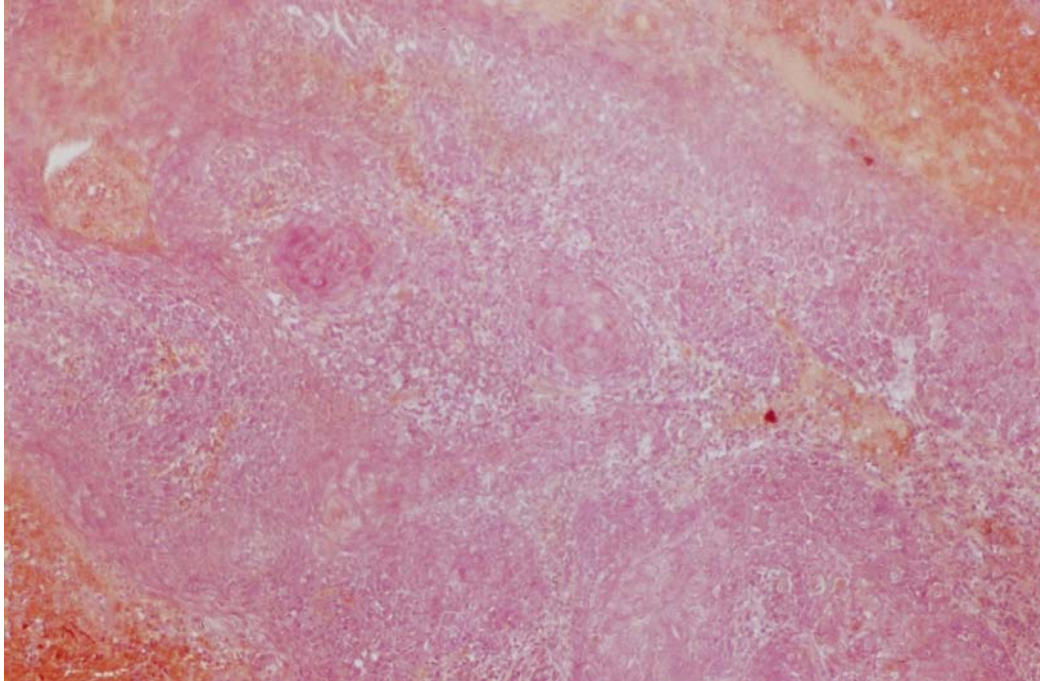


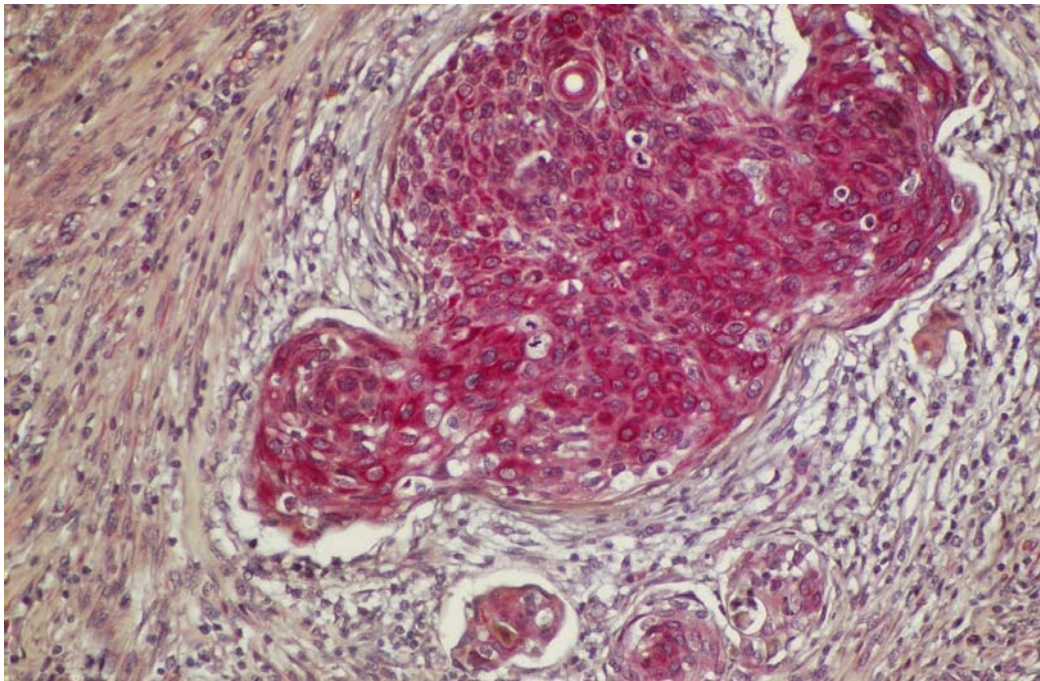
Bild 14: Übergang vom Plattenepithel in eine CIN III,  $TGF\alpha$  negativ (100 fach).



## Ergebnisse



*Bild 15: Hoch differenziertes Plattenepithelkarzinom, bis auf eine geringe fokale Expression links oben TGF $\alpha$  negativ (100 fach).*



*Bild 16: Mässig differenziertes Plattenepithelkarzinom, TGF $\alpha$  positiv (400 fach).*

## Ergebnisse

### 3.2.2.4 Vergleich der $TGF\alpha$ -Expressionsstärken in Normalgewebe, CIN und Plattenepithelkarzinom (Abbildung 16)

Die erreichten Scores für  $TGF\alpha$  lagen im Normalgewebe zwischen 0 und 6 bei einem Median von 1,75, beim CIN III zwischen 0 und 9 bei einem Median von 2 und für das Karzinom zwischen 0 und 12 bei einem Median von 3; Abbildung 16 stellt dies übersichtlich zueinander in Beziehung.

Auch hier sind die Expressionsunterschiede zwischen Normalgewebe und CIN nicht signifikant ( $p=0,622$  Mann-Whitney-U Test), wohl dagegen die Expression im Karzinom gegenüber Normalgewebe ( $p=0,035$ ) und CIN III ( $p=0,026$ ).  $TGF\alpha$  wird also im Karzinom signifikant stärker als im Normalgewebe und CIN III exprimiert.

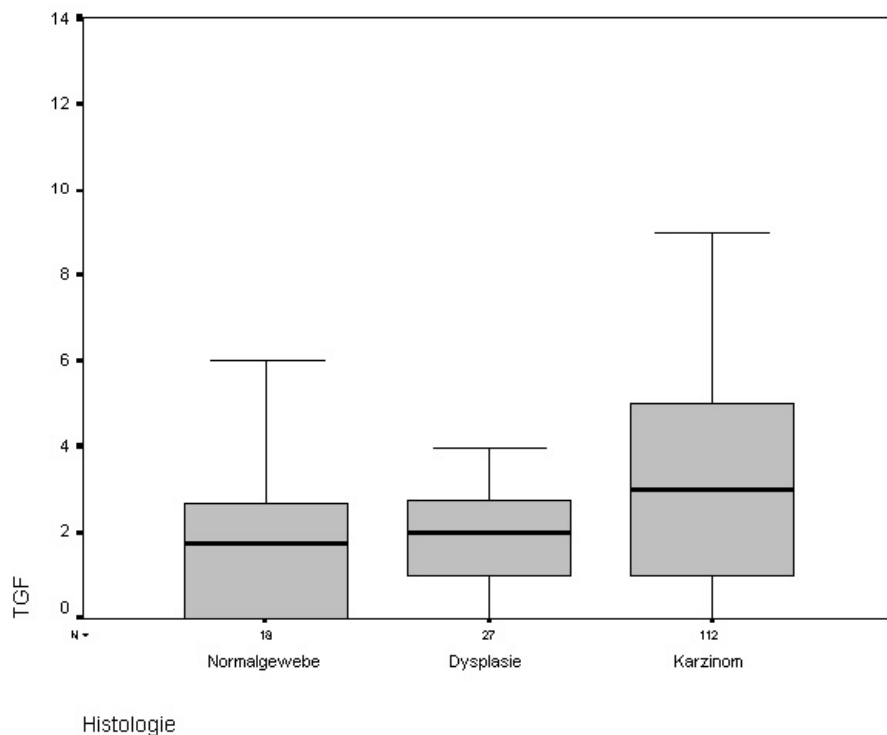


Abbildung 16: Darstellung der  $TGF\alpha$  Färbescores für Normalgewebe, Dysplasie (CIN III) und Karzinom. Signifikant stärkere Expression im Karzinom gegenüber CIN III ( $p=0,026$ ) und Normalgewebe ( $0,035$ ), dagegen aber kein signifikanter Unterschied zwischen Normalgewebe und CIN III ( $p=0,622$ , Mann-Whitney U Test).

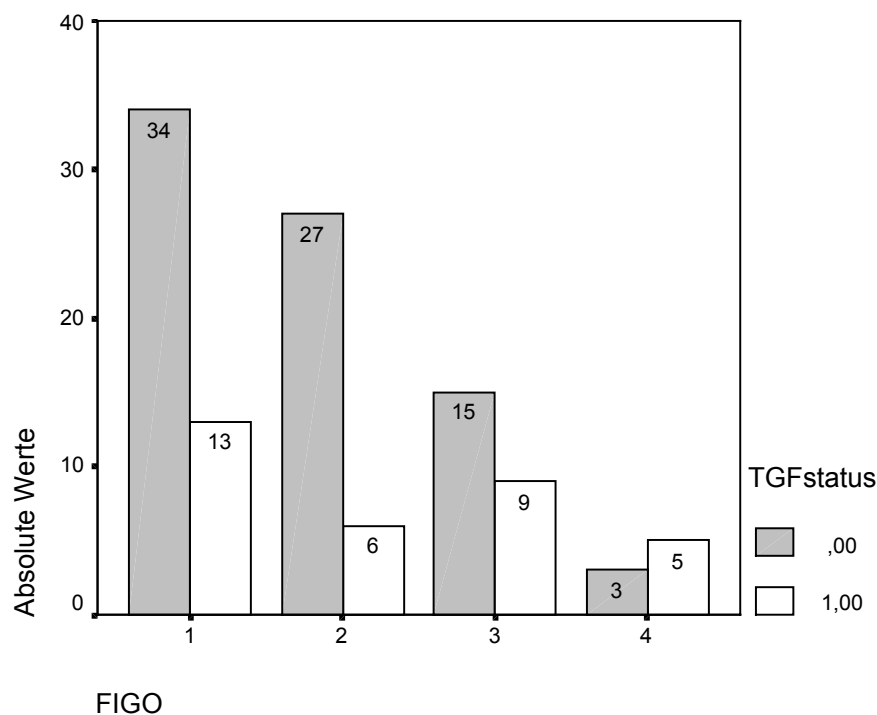
## Ergebnisse

### 3.2.2.5 Korrelation der TGF $\alpha$ - Expression mit klinischen Parametern

Für die Untersuchung der Korrelation mit klinischen Parametern wurden die Karzinome mittels eines Cut Off von 4 in TGF $\alpha$  positive ( $\geq 4$ ) und TGF $\alpha$  negative ( $< 4$ ) unterteilt.

#### 3.2.2.5.1 Korrelation mit FIGO-Stadien (*Abbildung 17*)

Betrachtet man das Verhältnis der TGF $\alpha$  positiven zu den negativen innerhalb der verschiedenen FIGO-Stadien, so sieht man, daß sich innerhalb des Kollektives mit höherem FIGO-Stadium das Verhältnis zugunsten der TGF $\alpha$  positiven verschiebt (*Abbildung 17*). Diese Unterschiede haben eine deutliche Tendenz zur Signifikanz, verfehlen diese jedoch knapp ( $p=0,071$  Chi Quadrat Test).



*Abbildung 17: Darstellung der TGF $\alpha$  positiven (1,00) und negativen (0,00) Karzinome innerhalb der verschiedenen FIGO-Stadien ( $p=0,071$  Chi Quadrat Test)*

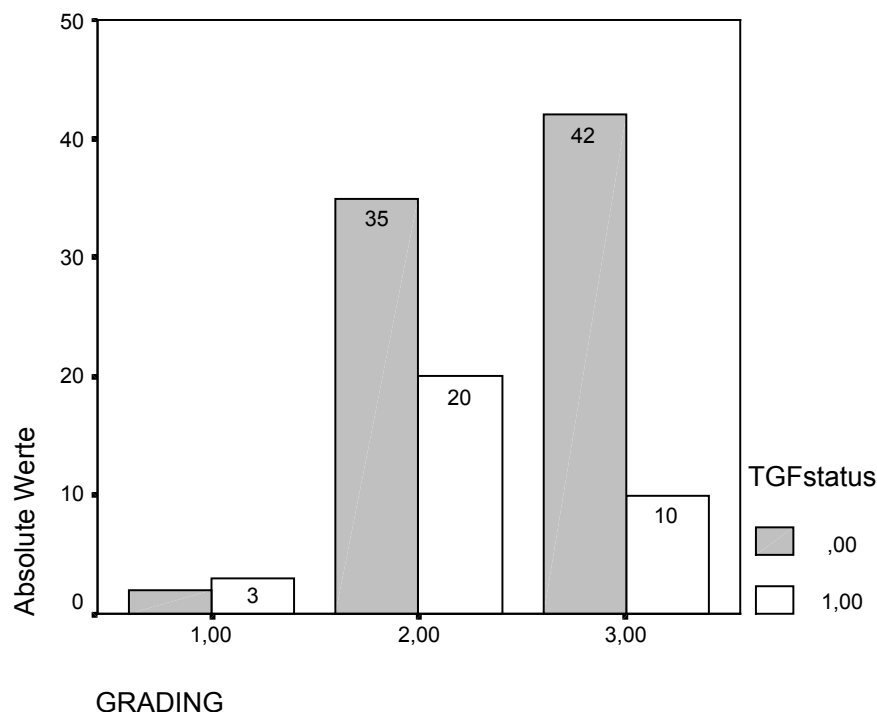
## Ergebnisse

### 3.2.2.5.2 Korrelation der TGF $\alpha$ -Expression mit dem Grading (*Abbildung 18*)

Betrachtet man die Verhältnisse der positiven zu den negativen Karzinomen in Abhängigkeit vom Grading (*Abbildung 18*), so zeigt sich, daß zu besser differenzierteren Karzinomen hin der Anteil der TGF $\alpha$  positiven Karzinome zunimmt. Diese Zunahme ist auch signifikant ( $p=0,047$  Chi Quadrat-Test).

### 3.2.2.5.3 Korrelation der TGF $\alpha$ -Expression mit dem Lymphknotenstatus (*Abbildung 19*)

Es zeigt sich, daß bezüglich der Verteilung der TGF $\alpha$  positiven und negativen Karzinome keinerlei statistisch signifikanter Unterschied (Chi Quadrat Test  $p=0,245$ ) zwischen den lymphknotennegativen und lymphknotenpositiven Karzinomen besteht (*Abbildung 19*).



*Abbildung 18: Gegenüberstellung der TGF $\alpha$ -positiven (1,00) und TGF $\alpha$ -negativen (,00) Karzinome nach Differenzierungsgraden ( $p=0,049$  Chi Quadrat Test Grading 2 gegen Grading 3).*

## Ergebnisse

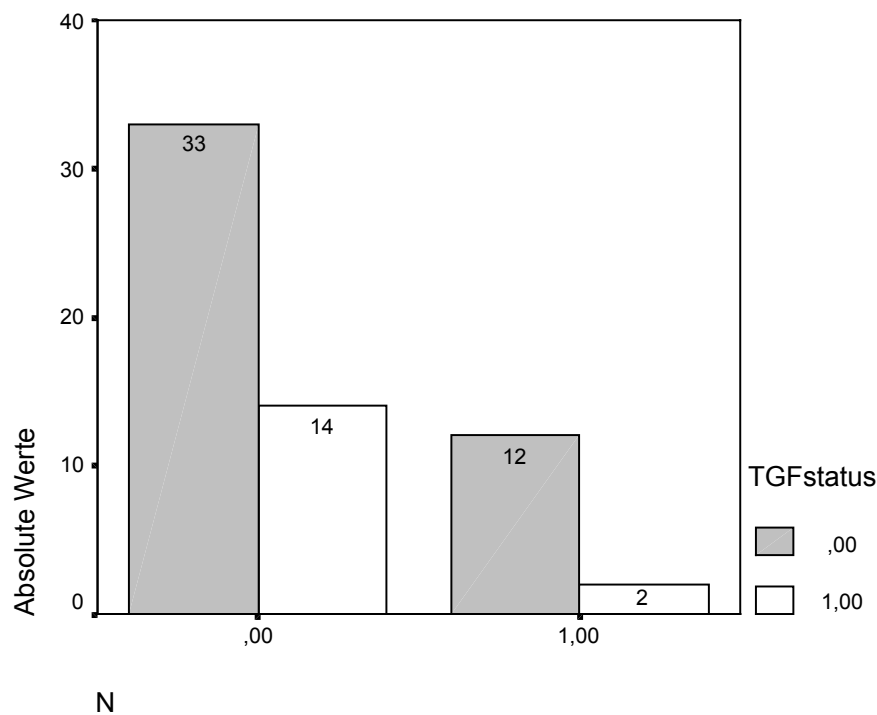


Abbildung 19: Gegenüberstellung TGF $\alpha$  positiver (1,00) und negativer Karzinome (0,00) in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus N (0,00 ohne LK-Metastasen, 1,00 mit Lymphknotenmetastasen).  $p=0,245$  Chi Quadrat Test

### 3.2.2.5.4 Überlebensanalyse

Hinsichtlich des 5-Jahres Überlebens der TGF $\alpha$  positiven und negativen Karzinompatientinnen zeigt sich kein signifikanter Unterschied (Chi-Quadrat  $p=0,156$ , *Tabelle 13*). Betrachtet man das Überleben über diesen Zeitraum hinaus in der Kaplan-Meier-Darstellung (*Abbildung 20*), ist der Überlebensunterschied abhängig von der TGF  $\alpha$ -Expression ebenfalls nicht signifikant ( $p = 0,106$  im Logrank Test).

TGF $\alpha$ Status	5-Jahres-Überleben
TGF $\alpha$ negativ (N=79)	64,5% (N=51)
TGF $\alpha$ positiv (N=32)	50% (N=16)

Tabelle 13: 5-Jahres-Überleben in Abhängigkeit vom TGF $\alpha$  Status. Kein signifikanter Unterschied ( $p=0,156$  Chi Quadrat Test)

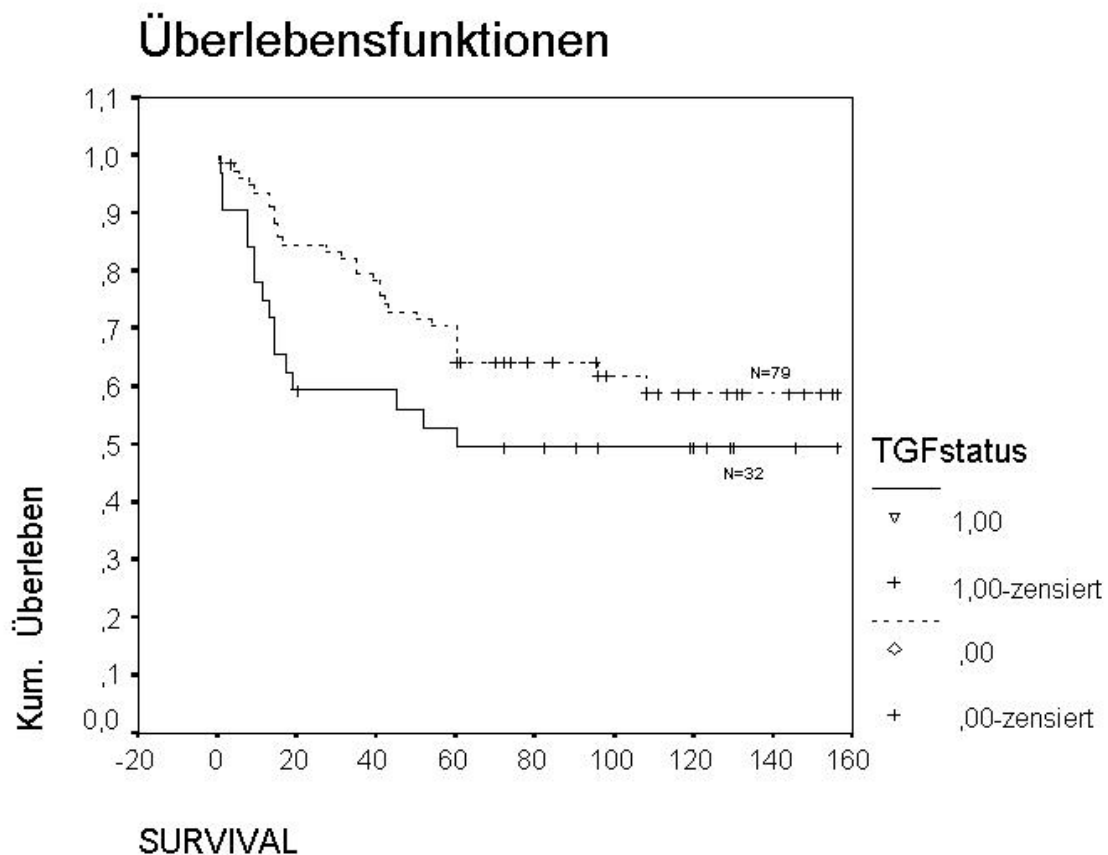


Abbildung 20: Überlebens der TGF $\alpha$  positiven (1,00) und negativen (,00) Karzinompatientinnen. Kein signifikanter Überlebensunterschied ( $p=0,1066$  im Logranktest).

Es wurde weiterhin der Zusammenhang zwischen der Expression von TGF $\alpha$  und dem Überleben in den zwei großen Gruppen der primär operierten und primär bestrahlten Karzinome untersucht.

Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied im Überleben der TGF $\alpha$ -positiven (N= 17) und negativen (N=49) operierten Karzinompatientinnen (Abbildung 21).

Abbildung 22 stellt das TGF $\alpha$  abhängige Überleben von 42 Patientinnen, die eine Strahlentherapie erhielten, dar. Die Patientinnen mit einem TGF $\alpha$ -positiven Karzinom weisen hier ein signifikant schlechteres Überleben auf ( $p=0,0194$ ).



## Ergebnisse

### Überlebensfunktionen

BHDL = operativ

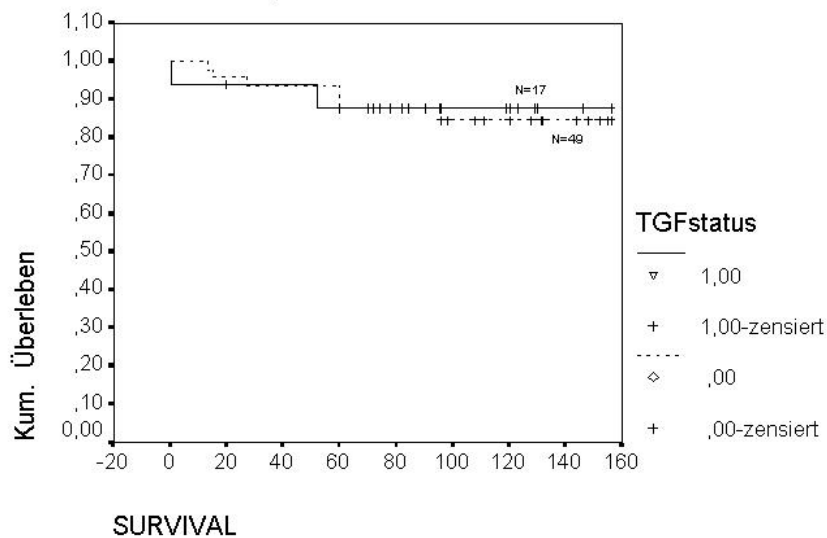


Abbildung 21:  $TGF\alpha$  Status ( $,00$  negativ,  $1,00$  positiv) abhängiges Überleben der primär operierten 66 Karzinompatientinnen. Kein signifikanter Unterschied ( $p=0,8620$  Logranktest). 11 der 66 Patienten erhielten eine Nachbestrahlung, weitere 5 eine adjuvante Chemotherapie.

### Überlebensfunktionen

BHDL = primär bestrahlt

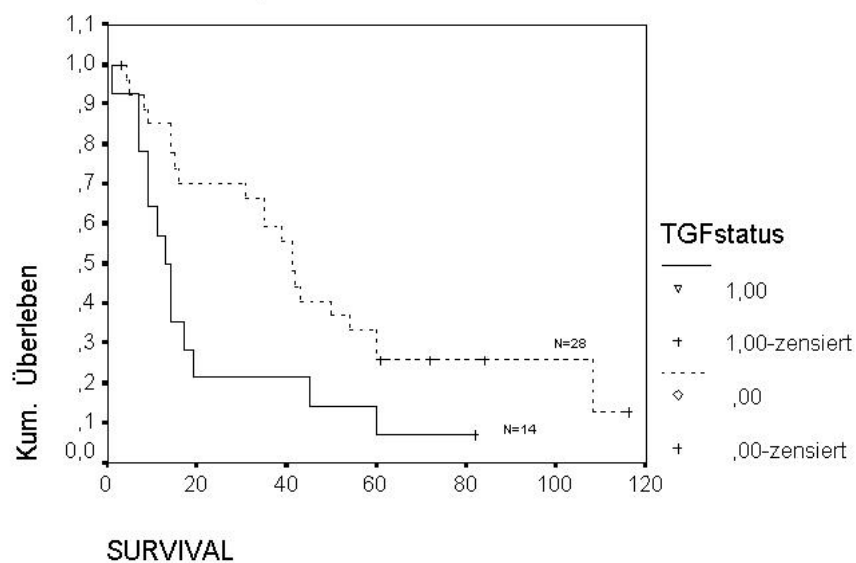


Abbildung 22:  $TGF\alpha$  Status ( $,00$  negativ,  $1,00$  positiv) abhängiges Überleben der 42 primär strahlentherapierten Karzinompatientinnen ( $p=0,0194$ ).

## Ergebnisse

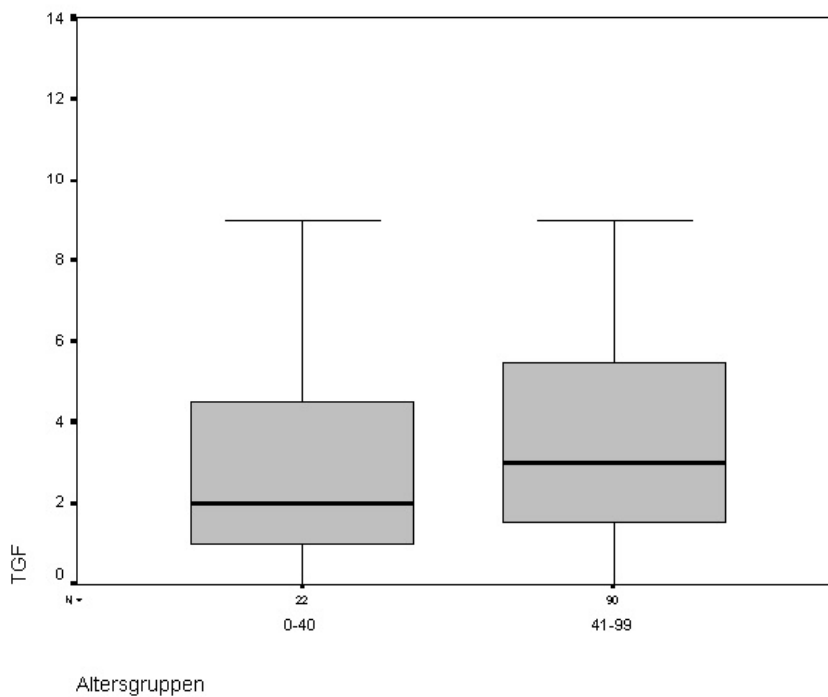


Abbildung 23: Dargestellt sind die TGF $\alpha$  Färbescores der Karzinompatientinnen unter 40 Jahren (Altersgruppe 1) und über 41 Jahren (Altersgruppe 2). Kein signifikanter Unterschied der Scores (Mann Whitney U Test  $p=0,140$ ).

### 3.2.2.5.5 TGF $\alpha$ -Expression in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen (Abbildung 23)

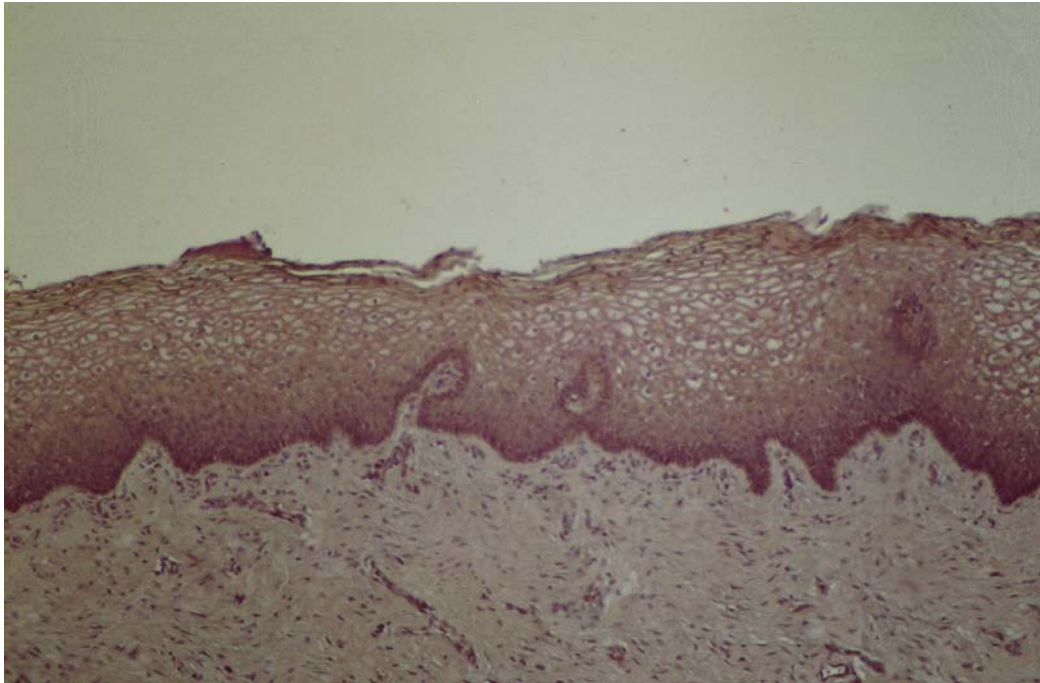
Die Korrelation des Immunreaktiven Scores für TGF $\alpha$  mit dem Alter (Abbildung 23) ergab keine signifikanten Unterschiede.

## 3.2.3 erbB-2-Expression in den verschiedenen Geweben

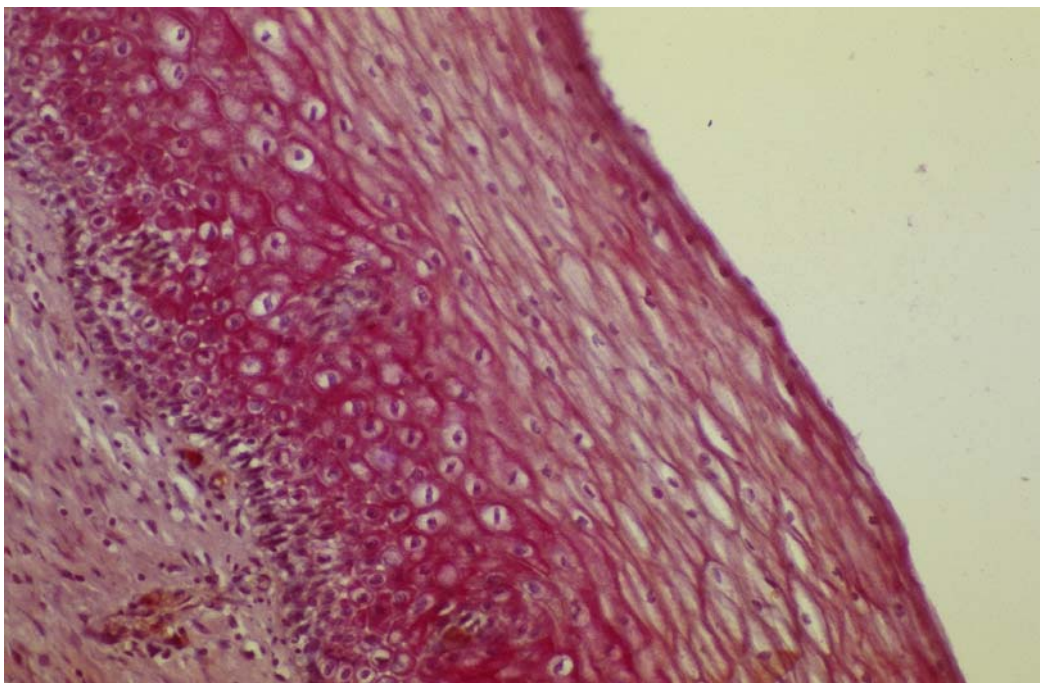
### 3.2.3.1 Normales Plattenepithel der Zervix (Bild 17, Bild 18)

Normales Plattenepithel der Ekto- und Endozervix war im vorliegenden Material weitgehend negativ für erbB-2. In einzelnen Fällen zeigte sich aber am Zervikalkanal parabasal positives Epithel (Bild 18). Häufig fanden sich in der näheren Umgebung dann positive Koilozyten oder positive leichte Dysplasien. Hier reichte die Färbung dann auch in höhere Epithelschichten. Koilozyten hatten zum Teil ein membranäres Färbemuster, sonst dominierten zytoplasmatische Färbemuster. Die Zervixdrüsen waren ebenfalls positiv. Ebenfalls positiv waren die Reservezellen des Zylinderepithels im tieferen Zervikalkanal.

## Ergebnisse



*Bild 17: erbB-2 negatives Plattenepithel der Zervix.(200 fach).*

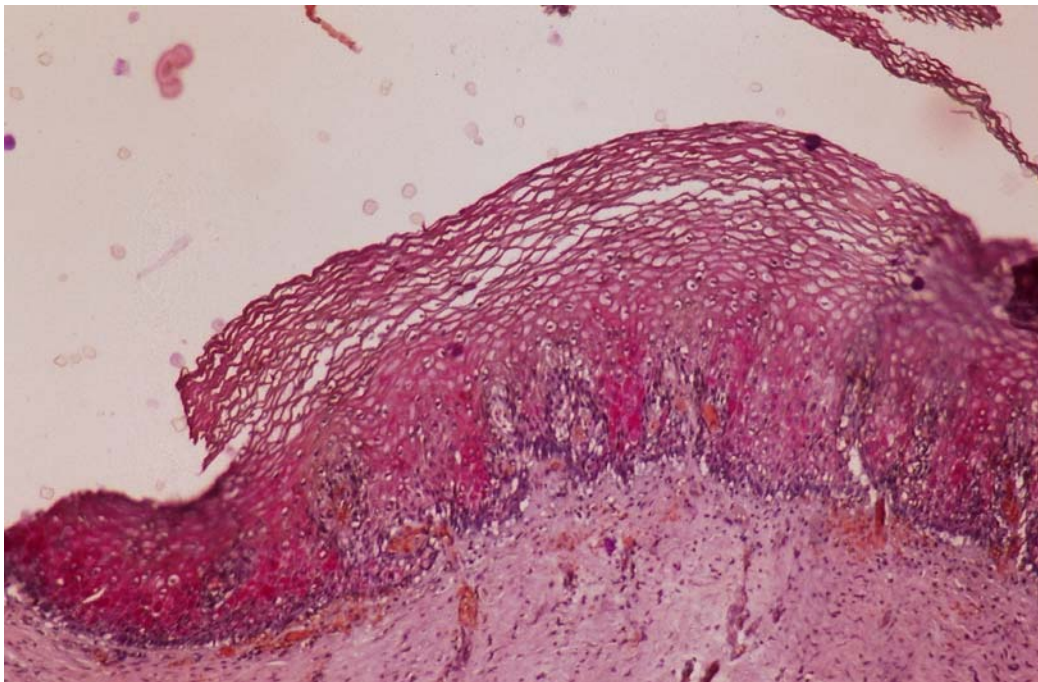


*Bild 18: erbB-2 positives Plattenepithel. (200 fach).*

## Ergebnisse

### **3.2.3.2 Cervikale Intraepitheliale Neoplasie (Bild 19, Bild 20)**

In leichten und mittleren Dysplasien (CIN I-II) ließ sich erbB-2 in unterschiedlich starkem Maße nachweisen. Unter den schweren Dysplasien (CIN III) gab es kein einheitliches Färbemuster mit sowohl völlig negativen als auch positiven Dysplasien mit unterschiedlichen Expressionsstärken. Das angetroffene Färbemuster war hier zytoplasmatisch. Es ließen sich auch Areale nachweisen, wo zwar das Plattenepithel erbB-2 exprimierte, die CIN aber nicht, so daß insgesamt kein klares Expressionsmuster hervortrat.



*Bild 19: erbB-2 positives Plattenepithel, Übergang in eine CIN III. (100 fach).*



## Ergebnisse

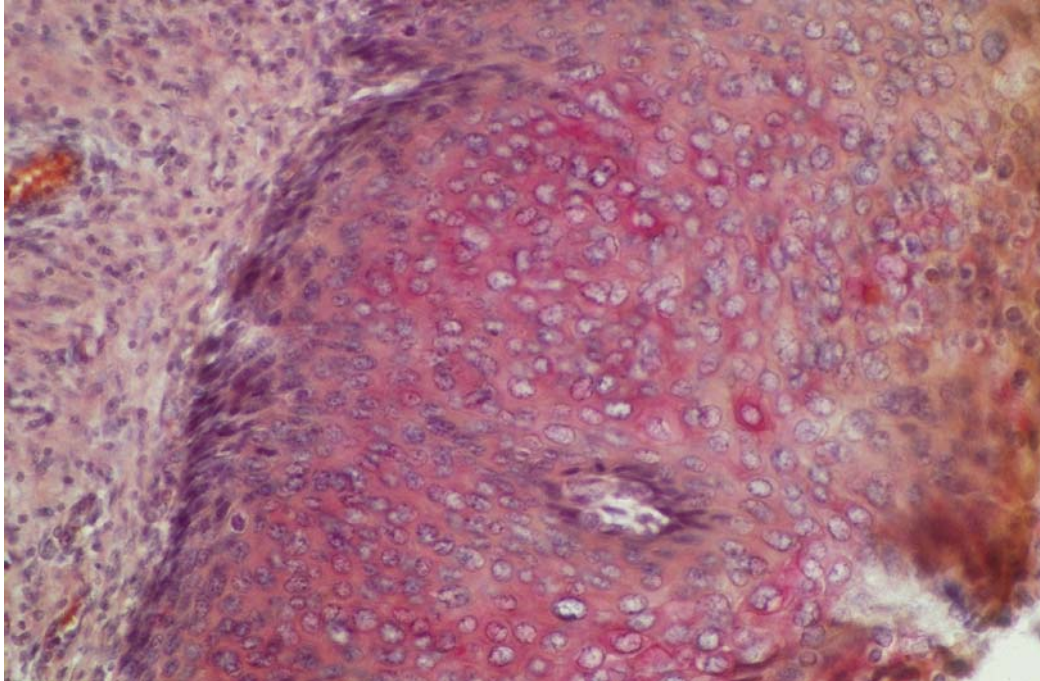


Bild 20: *erbB-2* positive CIN III. (400 fach).

### 3.2.3.3 Plattenepithelkarzinom der Zervix (Bild 21)

*erbB-2* ließ sich im Karzinom in stärkerer Ausprägung nachweisen als am Normalgewebe oder der Dysplasie. Es handelte sich dabei durchweg um zytoplasmatische Färbemuster. Auffällig war, daß sich insbesondere Verhornungspierlen und umliegende Zellen anfärbten. Dabei zeigten die Tumoren weitgehend ein sehr inhomogenes Expressionsmuster mit stark positiven Clustern in geringer positiver Umgebung.

### 3.2.3.4 Vergleich der *erbB-2*-Expressionstärke in Normalgewebe, CIN und Karzinom (Abbildung 24)

Untersucht man die verschiedenen IRS des Antigennachweises im Normalgewebe (Median 1), in der fortgeschrittenen Dysplasie (Median 2,0) und im Karzinom (Median 1,5), so zeigt sich, dass keine signifikanten Unterschiede bestehen (Abbildung 24).

## Ergebnisse

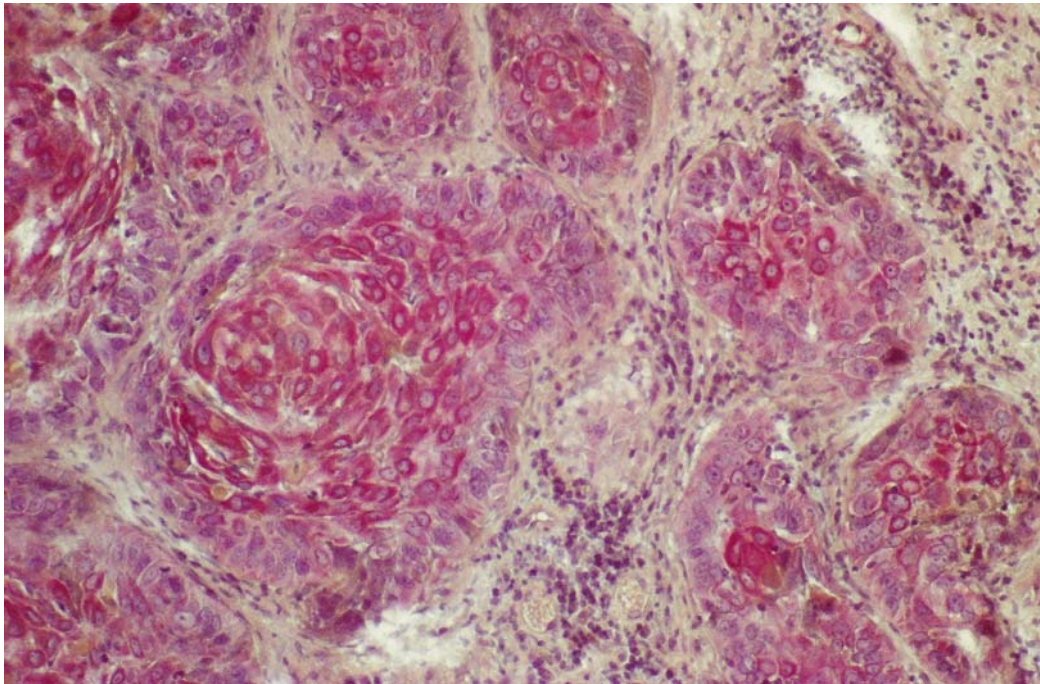


Bild 21: erbB-2 positives niedrig differenziertes verhornendes Plattenepithelkarzinom im Bereich einer Verhornungspere (400 fach).

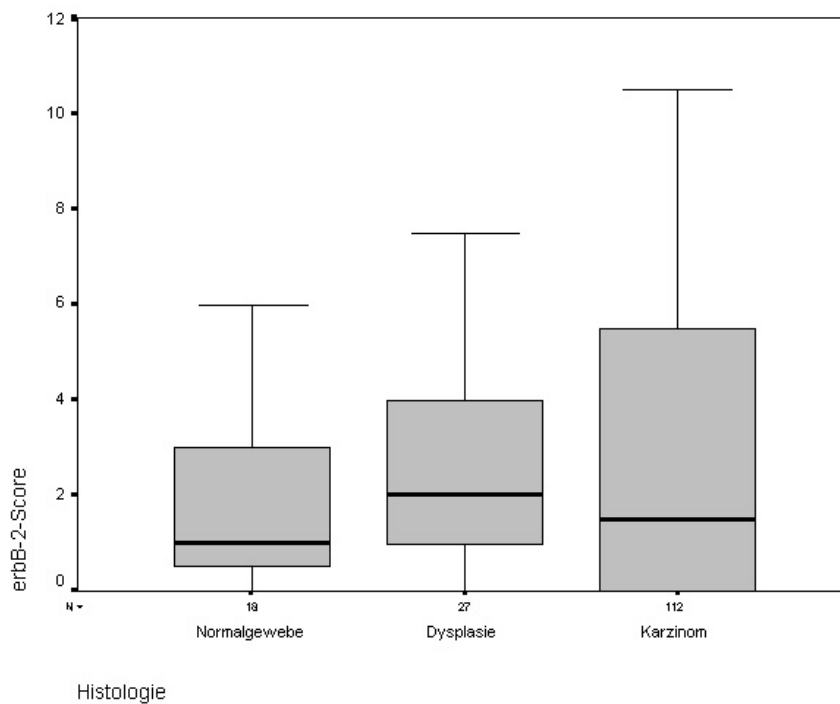


Abbildung 24: Gegenüberstellung der erreichten Färbescores für erbB-2 von Normalgewebe, fortgeschrittenen Dysplasie und Karzinom. Die etwas stärkere mittlere Expression in der Dysplasie gegenüber dem Normalgewebe verfehlt die Signifikanz ( $p=0,078$  Mann Whitney U Test), ebenso keine signifikanten Unterschiede der mittleren Intensität zwischen Normalgewebe und Karzinom ( $p=0,401$ ) und Dysplasie und Karzinom ( $p=0,439$ )

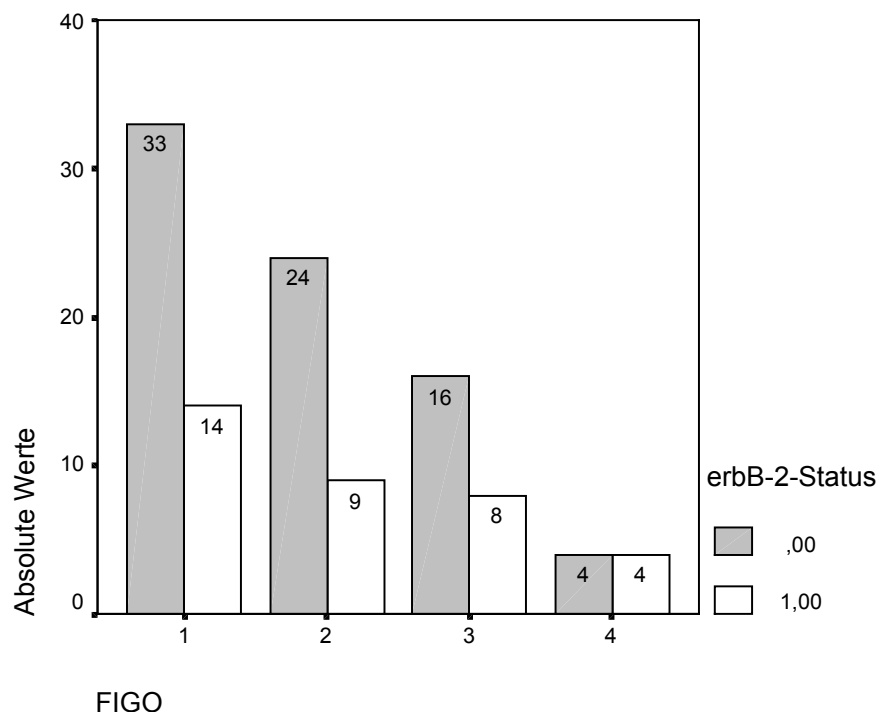


### 3.2.3.5 Korrelation der erbB-2-Expression mit klinischen Parametern

Der Auswertung einer Korrelation zwischen der erbB-2-Expression und klinischen Parametern wurde ebenfalls ein Cut Off von 4 zugrundegelegt, d.h., erreichte Scores von 4-12 wurden als erbB-2-positiv gewertet, darunterliegende Scores als erbB-2 negativ bewertet.

#### 3.2.3.5.1 Korrelation mit den FIGO-Stadien (*Abbildung 25*)

Bei der Aufschlüsselung der Karzinome nach erbB-2-positiven und -negativen in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium fällt auf, daß sich der Anteil der erbB-2 positiven Karzinome mit steigendem FIGO-Stadium erhöht (*Abbildung 25*). Diese Tendenz ist jedoch nicht signifikant.



*Abbildung 25: Gegenüberstellung der erbB-2 positiven (1,00) und negativen (.00) Karzinome in Abhängigkeit von der FIGO-Klasse (Chi Quadrat Test p=0,649).*

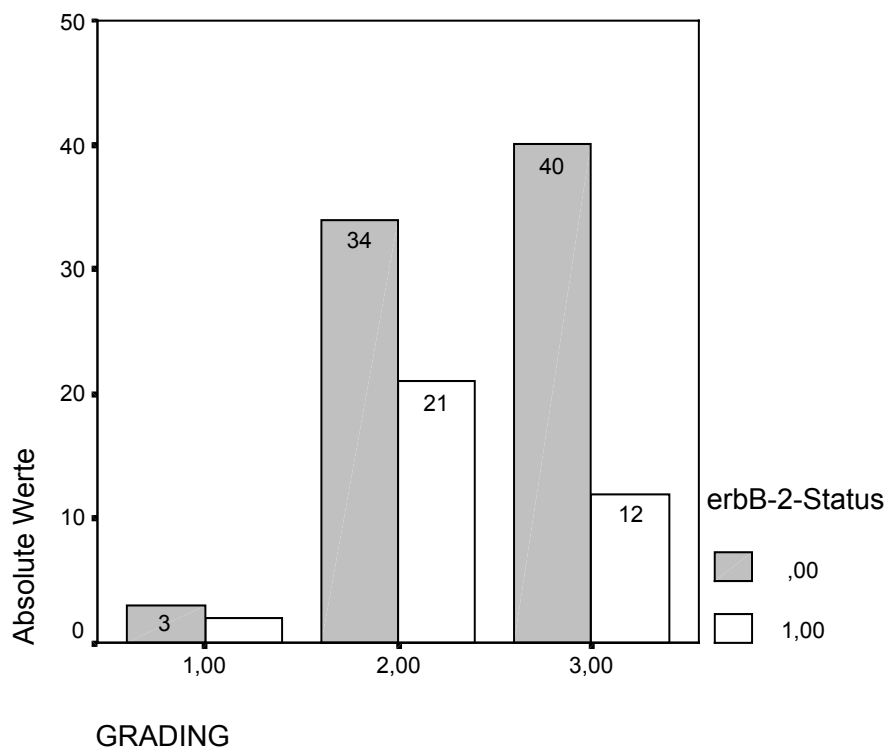
## Ergebnisse

### 3.2.3.5.2 Korrelation mit dem Grading (*Abbildung 26*)

Wenngleich der Anteil der erbB-2 positiven mit geringerem Differenzierungsgrad sinkt (*Abbildung 26*), ist diese Tendenz jedoch nicht signifikant (Chi-Quadrat  $p=0,220$ ).

### 3.2.3.5.3 Korrelation der erbB-2-Expression mit dem Lymphknotenstatus (*Abbildung 27*)

Es erscheint dabei auffällig, daß von den 20 erbB-2 positiven 8 Patienten Lymphknotenmetastasen hatten, von den erbB-2 negativen jedoch nur 10 von 36 (*Abbildung 27*). Diese Unterschiede sind jedoch nicht signifikant (Chi Quadrat  $p=0,212$ ).



*Abbildung 26: Gegenüberstellung der erbB-2 positiven (1,00) und negativen (0,00) Karzinome in Abhängigkeit vom Grading (Chi Quadrat Test  $p=0,091$  für Grading 2 gegen Grading 3).*

## Ergebnisse

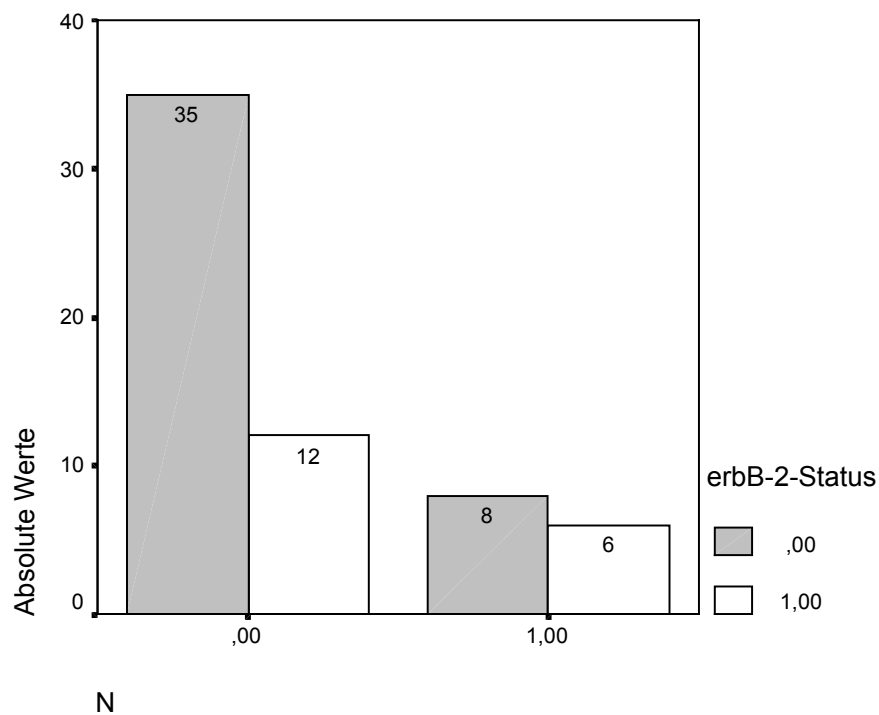


Abbildung 27: Gegenüberstellung erbB-2-positiver (weiss) und -negativer (grau) Karzinome in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus (0= keine LK-Metastasen, 1= mit LK-Metastasen. Chi Quadrat Test  $p=0,212$ )

### 3.2.3.5.4 Überlebensanalyse (Abbildung 28)

Es wurde untersucht, ob der erbB-2 Status einen Einfluß auf das 5-Jahres-Überleben hat. Es besteht kein statistisch signifikanter Einfluß der erbB-2-Expression auf das Überleben.

erbB-2 Status	5-Jahres-Überleben
erbB-2 negativ (N=76)	63,15% (N=48)
erbB-2 positiv (N=35)	54,28% (N=19)

Tabelle 14: 5-Jahres-Überleben in Abhängigkeit vom erbB-2 Status. Kein signifikanter Unterschied ( $p=0,375$ )

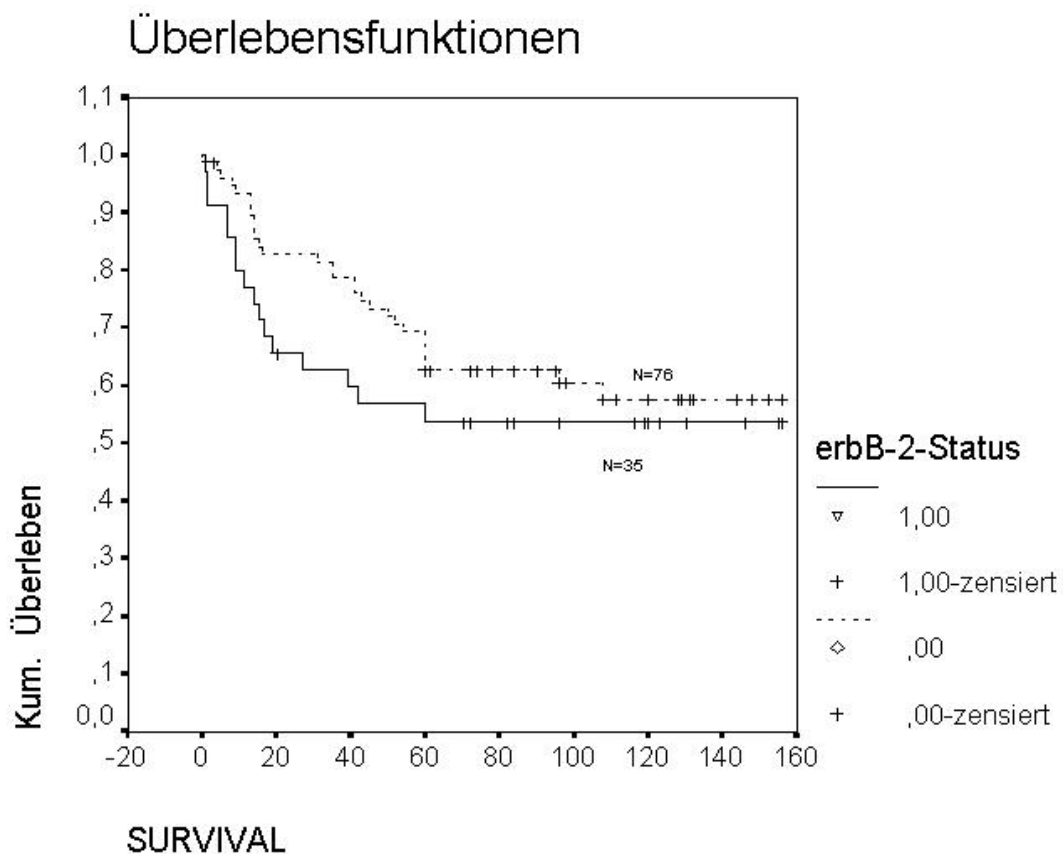


Abbildung 28: Darstellung des Überlebens in Abhängigkeit vom erbB-2 Status (1,00 positiv, 0,00 negativ). Kein signifikanter Unterschied im Logranktest ( $p=0,2940$ ).

Wie bei den anderen untersuchten Antigenen wurde auch hier eine Überlebensanalyse in Abhängigkeit vom erbB-2 Status in den zwei Gruppen der primär operierten und der bestrahlten Karzinompatientinnen vorgenommen.

Abbildung 29 zeigt, daß es bei den primär operierten Patientinnen keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Überleben und erbB-2 Status gibt.

Abbildung 30 stellt das erbB-2 abhängige Überleben der primär bestrahlten Patientinnen dar. Hier zeigt sich ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Überleben und dem erbB-2 status ( $p=0,8585$  Logranktest).

## Ergebnisse

### Überlebensfunktionen

BHDL = operativ

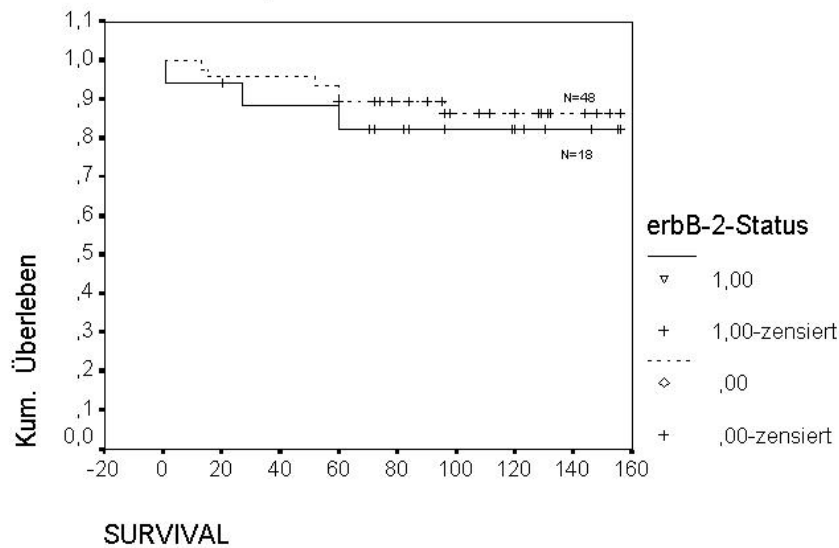


Abbildung 29: Überleben der primär operierten Patientinnen in Abhängigkeit vom erbB-2 Status (,00=negativ, 1,00=positiv,  $p=0,5815$  Logranktest)

### Überlebensfunktionen

BHDL = primär bestrahlt

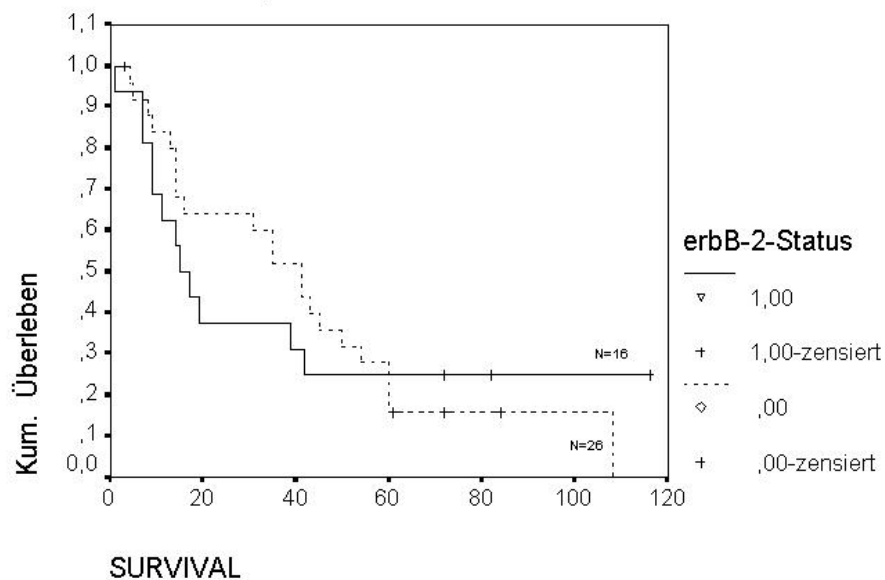
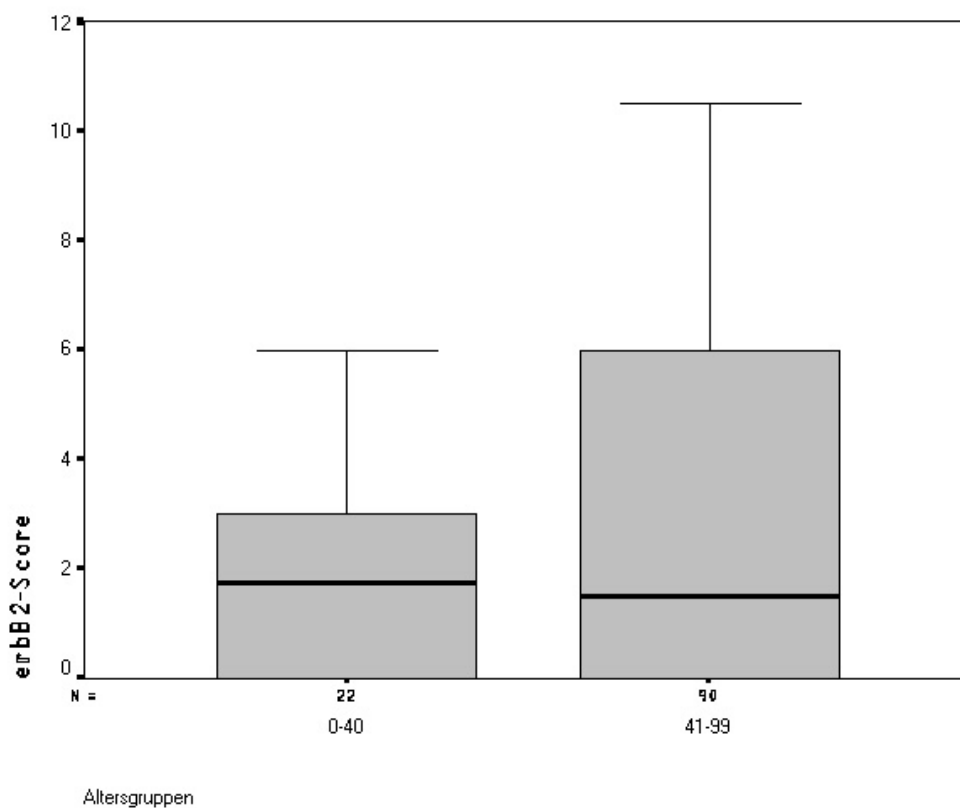


Abbildung 30: Überleben der primär bestrahlten Patientinnen in Abhängigkeit vom erbB-2 Status (,00 negativ, 1,00 positiv,  $p=0,8585$  Logranktest)

## Ergebnisse

### 3.2.3.5.5 erbB-2-Expression in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen (*Abbildung 31*)

Auch bei erbB-2 wurden die erreichten Färbescores der Patientinnen unter 40 (Gruppe 1) bzw. älter als 41 (Gruppe 2) untersucht. Die folgende *Abbildung 31* läßt erkennen, daß sich auch hier hinsichtlich des Medians kein deutlicher Unterschied zeigte. Die weitere erreichte Spanne bei den Patientinnen über 41 ist lediglich Produkt der größeren Gruppe und damit größeren Streuung (90 gegenüber 22 Patientinnen).



*Abbildung 31: Erreichte erbB-2-Scores der Karzinompatientinnen in Abhängigkeit vom Alter (Gruppe 1 bis 40 Jahre, Gruppe 2 über 41). Kein signifikanter Unterschied ( $p=0,671$  Mann-Whitney U Test).*

## 3.3 Koexpressionen der untersuchten Antigene

Da die Rezeptoren und Liganden der EGF-Familie einander beeinflussen, schien es interessant zu untersuchen, ob die untersuchten Antigene in bestimmten



## Ergebnisse

Verhältnissen zueinander exprimiert werden. Einen relativ einfachen Überblick kann man sich darüber verschaffen, indem man für jedes Präparat die für jeweils zwei Antigene erreichten Färbescores und somit Expressionsstärken in einem Diagramm gegeneinander aufträgt. Dadurch erhält man für die Gesamtheit des untersuchten Kollektivs eine Punktmatrix. Eine Koexpression würde sich dann so äußern, daß die auftretenden Punkte ungleichmäßig entlang einer Funktion orientiert verteilt wären. Für die Normalgewebe und CIN III muß allerdings gesagt werden, daß die untersuchten Gruppen so klein sind, daß eine Aussage allenfalls bei einem sehr deutlichen Zusammenhang möglich erscheint.

### 3.3.1 Koexpressionen im Normalgewebe

Die Darstellung der erbB-2-Expression in Abhängigkeit von der CR-1-Expression (*Abbildung 32*) läßt keine Vermutung auf eine Koexpression aufkommen.

Auch aus der Darstellung der TGF $\alpha$ -Expression in Abhängigkeit von der CR-1-Expression (*Abbildung 33*) ergibt sich kein Hinweis auf eine Korrelation.

Letztendlich ist auch aus der Darstellung der TGF $\alpha$ -Expression in Abhängigkeit von der erbB-2-Expression (*Abbildung 34*) kein Zusammenhang erkennbar.

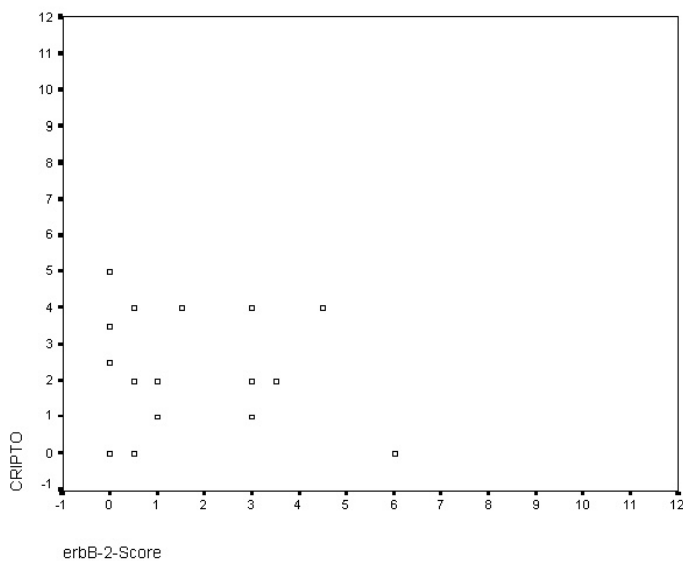


Abbildung 32: CR-1/erbB-2 Korrelation im Normalgewebe

Ergebnisse

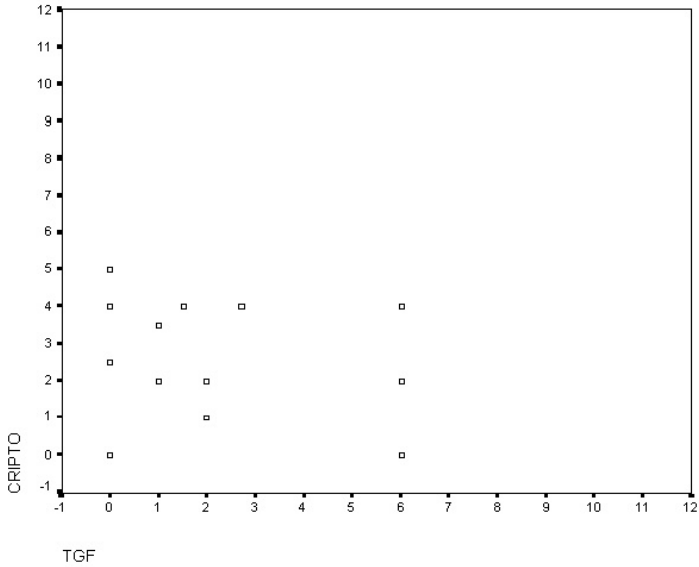


Abbildung 33: TGF $\alpha$ /CR-1 Korrelation im Normalgewebe

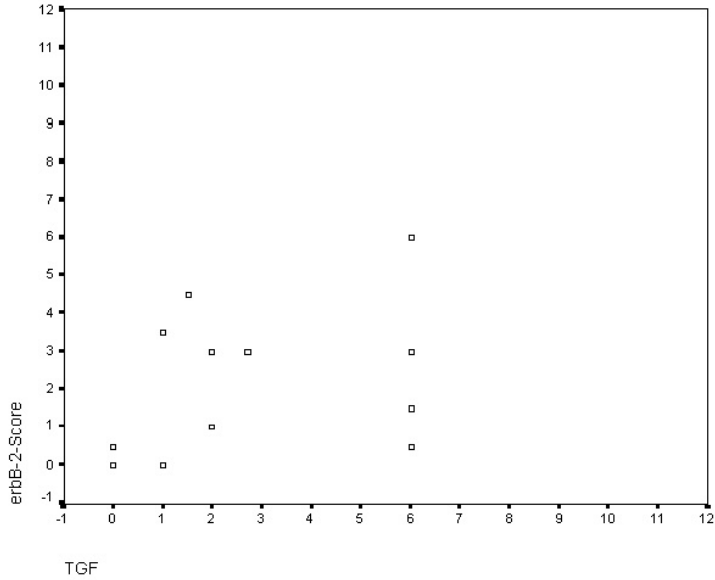


Abbildung 34: TGF  $\alpha$ /erbB-2 Korrelation im Normalgewebe

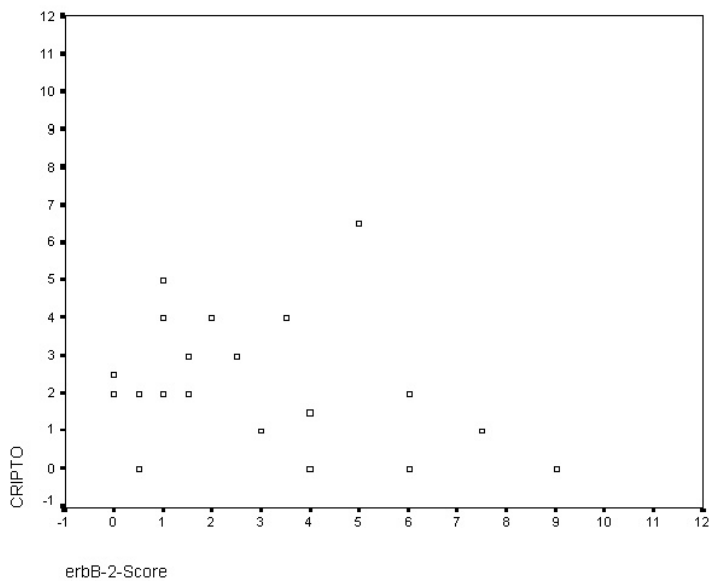
Ergebnisse

### 3.3.2 Koexpressionen in der CIN III

Die Darstellung der erbB-2-Expression in Abhängigkeit von der CR-1-Expression (*Abbildung 35*) läßt auch in der CIN III keinerlei Vermutung auf eine Korrelation entstehen.

Auch eine Abhängigkeit der TGF $\alpha$ -Expression von der CR-1-Expression (*Abbildung 36*) scheint nicht zu bestehen.

Bei der Darstellung der TGF $\alpha$ -Expression in Abhängigkeit von der erbB-2-Expression (*Abbildung 37*) ergibt sich auch kein Verdacht auf eine Koexpression.



*Abbildung 35: erbB-2/CR-1-Koexpression in der CIN III*

## Ergebnisse

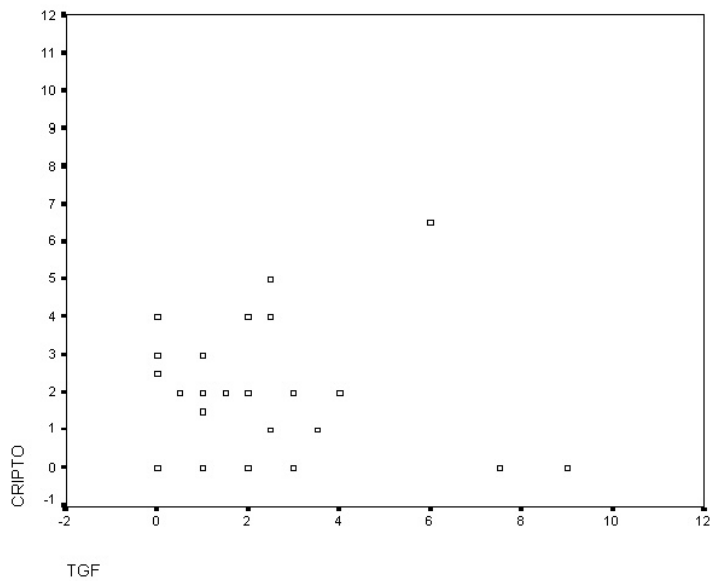


Abbildung 36: Koexpression von  $TGF\alpha$  und CR-1 in der CIN III.

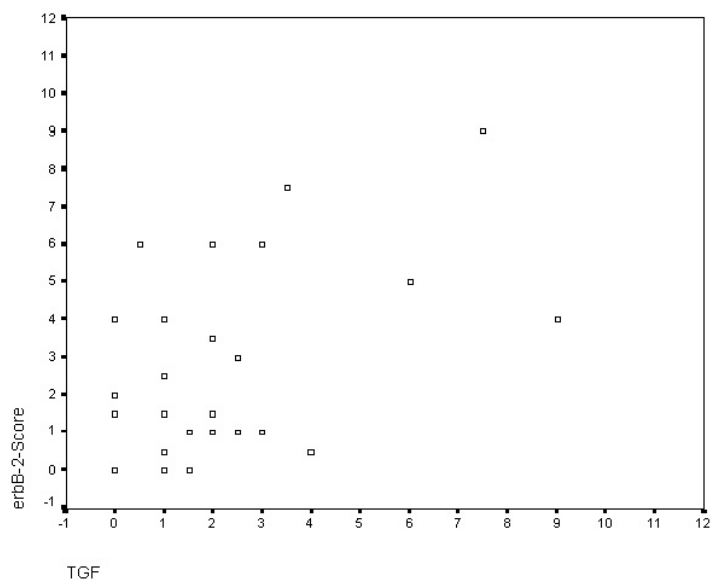


Abbildung 37: Koexpression von  $TGF\alpha$  und erbB-2 in der CIN III.

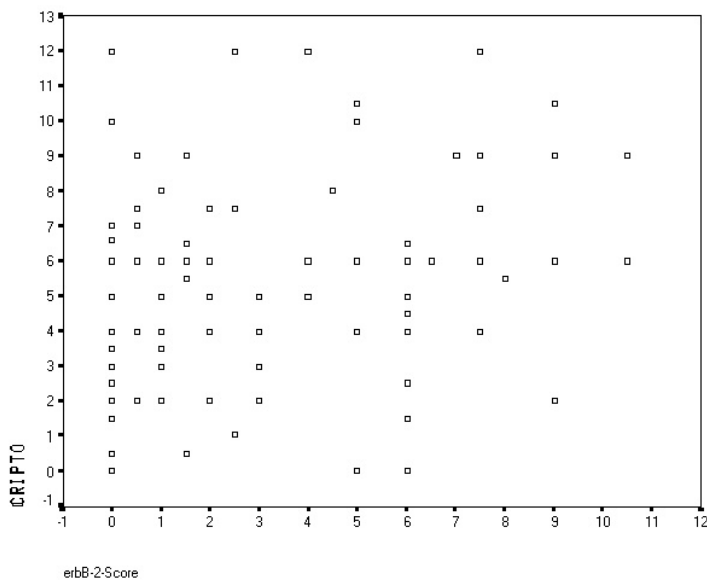
### 3.3.3 Koexpressionen im Karzinom

Beim Karzinom läßt sich ebenso wie beim Normalgewebe und beim CIN III aus der Darstellung der erbB-2-Expression in Abhängigkeit von der CR-1-Expression (Abbildung 38) kein Zusammenhang vermuten.

## Ergebnisse

Auch bei der Darstellung der TGF $\alpha$ -Expression in Abhängigkeit von der CR-1-Expression (*Abbildung 39*) scheint keinerlei Zusammenhang erkennbar.

Die Darstellung der TGF $\alpha$ -Expression in Abhängigkeit von der erbB-2-Expression (*Abbildung 40*) ergibt eine sich entlang einer Diagonalen erstreckende Punktwolke. Damit ist die TGF $\alpha$ -Expression positiv mit der erbB-2-Expression korreliert. Es errechnet sich ein Spearman Korrelationskoeffizient von 0,577. Dies entspricht einer mittleren Korrelation.



*Abbildung 38: Koexpression von erbB-2 und CR-1 im Karzinom*

## Ergebnisse

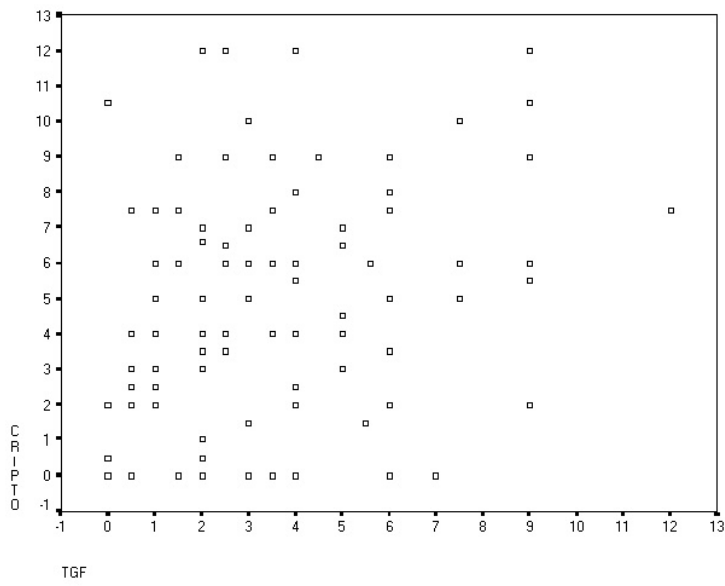


Abbildung 39: Koexpression von  $TGF\alpha$  und CR-1 im Karzinom

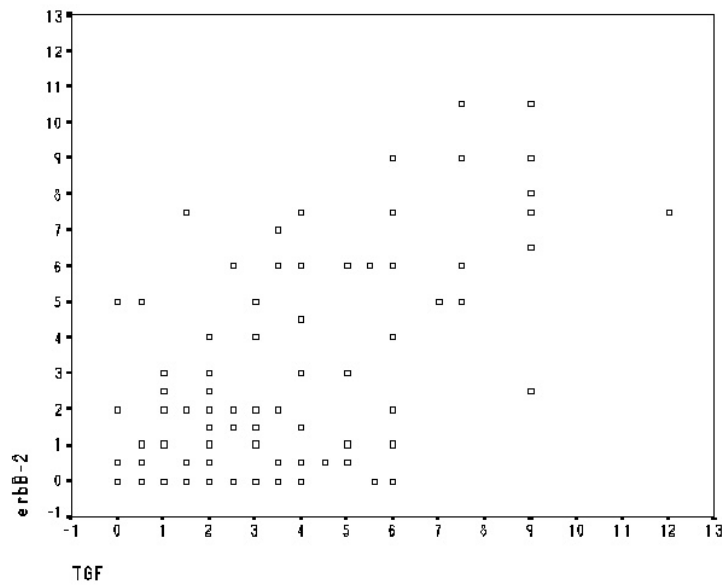


Abbildung 40: Koexpression von  $TGF\alpha$  und erbB-2 im Karzinom



### 3.3.4 Überleben abhängig von der Koexpression von TGF $\alpha$ und erbB-2

Die obigen Untersuchungen, die eine Koexpression von TGF $\alpha$  und erbB-2 zeigten, liessen es sinnvoll erscheinen, zu untersuchen, ob durch eine solche Koexpression klinische Parameter beeinflusst werden. TGF $\alpha$  war, wenn exprimiert, in den bestrahlten Patientinnen mit einer schlechteren Prognose verbunden. erbB-2 kann als bevorzugter Dimerisationspartner des EGF Rezeptors die Wirkung von TGF $\alpha$  als Liganden des EGF Rezeptors potenzieren. Insofern soll zunächst untersucht werden, ob die Koexpression dieser Antigene einen Einfluß auf die Prognose hat. Dazu wurden die Karzinome wieder jeweils für jeden Antikörper mittels eines Cut-Offs von 4 in positive und negative unterteilt. Anschließend lassen sich die Karzinome in 4 Gruppen zusammenfassen, nämlich

1. Die Gruppe der für erbB-2 und TGF $\alpha$  negativen Karzinome.
2. Die Gruppe der für TGF $\alpha$  negativen, aber für erbB-2 positiven Karzinome.
3. Die Gruppe der für TGF $\alpha$  positiven aber für erbB-2 negativen Karzinome.
4. Die Gruppe der sowohl für TGF $\alpha$  als auch für erbB-2 positiven Karzinome.

*Tabelle 15* zeigt das 5-Jahresüberleben der verschiedenen Gruppen und die Größe der einzelnen Gruppen. *Abbildung 41* beinhaltet die Kaplan Meier Überlebenskurven für die verschiedenen Gruppen. Es wird deutlich, daß das Überleben der Karzinompatientinnen, die beide Antigene exprimieren (Gruppe 4), schlechter ist als das der anderen Gruppen. Dieser Unterschied hat eine Tendenz zur Signifikanz gegenüber der für beide Antigene negativen Gruppe ( $p=0,0783$  Logranktest), die Überlebensunterschiede zwischen den anderen Gruppen sind jeweils nicht signifikant ( 1 gegen 2  $p=0,8369$ ; 1 gegen 3  $p=0,7316$ ; 2 gegen 3  $p=0,6417$ ; 3 gegen 4  $p= 0,3876$ ; 2 gegen 4  $p=0,1433$ ; jeweils Logranktest).

## Ergebnisse

Koexpression	5-Jahres-Überleben
TGF $\alpha$ negativ, erbB-2 negativ (N=65)	64,6% (N=42)
TGF $\alpha$ positiv, erbB-2 negativ (N=11)	54,4% (N=6)
TGF $\alpha$ negativ, erbB-2 positiv (N=14)	64,2% (N=9)
TGF $\alpha$ positiv, erbB-2 positiv (N=21)	47,6% (N=10)

Tabelle 15: 5-Jahresüberleben in Abhängigkeit von einer Koexpression von TGF  $\alpha$  und erbB-2 (Chi Quadrat Test  $p=0,539$ )

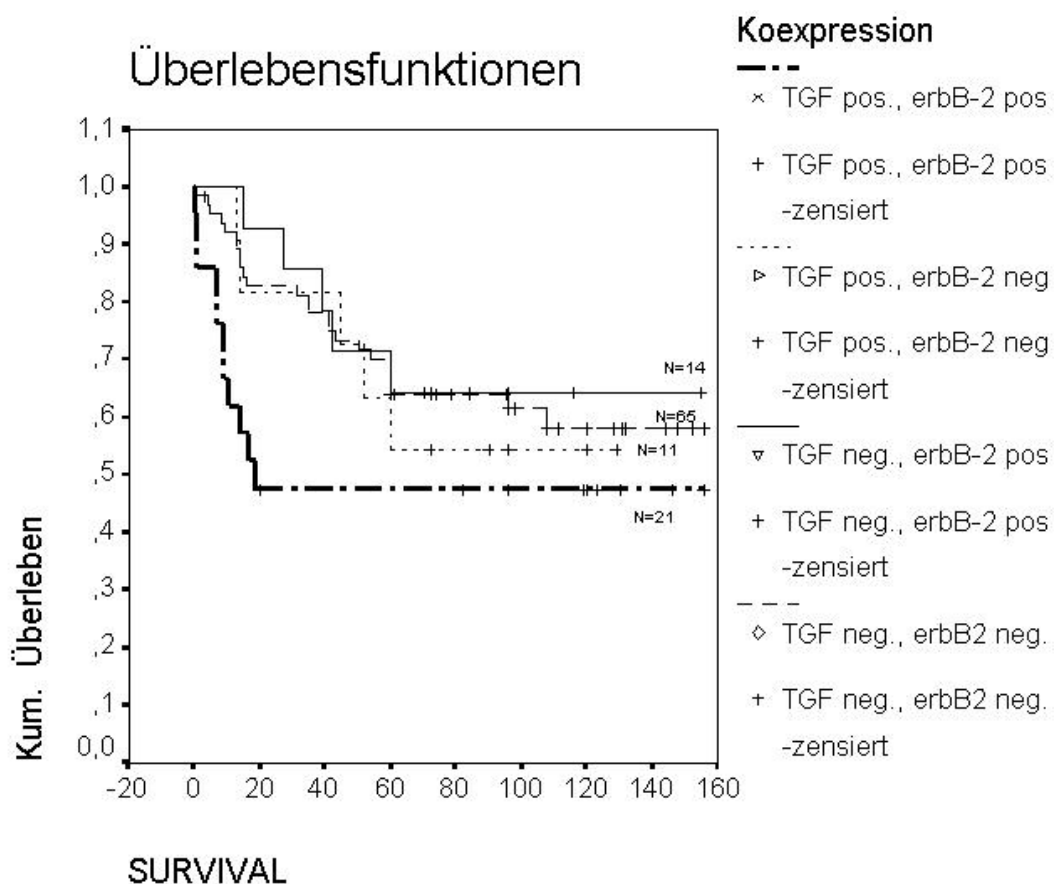


Abbildung 41: Überlebenskurven in Abhängigkeit von der TGF $\alpha$ /erbB-2-Koexpression. Die stärker hervorgehobene Kurve entspricht dem Überleben der Patientinnen mit für sowohl erbB-2 als auch TGF $\alpha$  positiven Tumoren ( TGF $\alpha$  negativ/ erbB2 negativ gegen TGF $\alpha$  positiv /erbB2 positiv  $p=0,0783$ , TGF $\alpha$ negativ/erbB2 negativ gegen TGF $\alpha$  negativ/erbB2 positiv  $p=0,8369$ ; TGF $\alpha$  negativ/erbB2 negativ gegen TGF $\alpha$  positiv/erbB2 negativ  $p=0,7316$ ; TGF $\alpha$  negativ/erbB2 positiv gegen TGF $\alpha$  positiv/erbB2 negativ  $p=0,6417$ ; TGF $\alpha$  positiv/erbB2 negativ gegen TGF $\alpha$  positiv/erbB2 positiv  $p= 0,3876$ ; TGF $\alpha$  negativ/erbB2 positiv gegen TGF $\alpha$  positiv/erbB2positiv  $p=0,1433$ ; jeweils Logranktest).