

Aus dem Institut für Pathologie
der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Professor Dr.med. Steffen Hauptmann)

Ezrin als Prognosefaktor für das Ovarialkarzinom

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Elise Gradhand, geb. Knolle
geboren am 08.07.1981 in Halle/Saale

Gutachter:

1. Prof. Dr. St. Hauptmann
2. Prof. Dr. R. Moll (Marburg)

Verteidigungsdatum: 09.05.2008

urn:nbn:de:gbv:3-000013608

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000013608>]

Referat und bibliographische Beschreibung

Für die Prognose des Ovarialkarzinoms ist es entscheidend, ob der Tumor einerseits schnell und ausgedehnt metastasiert oder andererseits langsam und lokal begrenzt wächst. Diesem Prozess liegen molekularbiologische Vorgänge zugrunde, in deren Kette die Proteinfamilie ERM (Ezrin, Radixin und Moesin) eine wichtige Rolle spielt.

Zielsetzung: Anhand von Tumorgewebe eines umfangreich charakterisierten Kollektives von Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom wurde die Expression der Proteine Ezrin und Moesin untersucht. Es sollten mögliche Zusammenhänge zwischen der Expression der beiden Proteine und dem progressfreien bzw. gesamten Überleben überprüft werden.

Material und Methoden: Repräsentative Tumorgewebeproben von 108 Patientinnen mit dazugehörigen klinisch-pathologischen Daten waren die Basis dieser Arbeit. Das formalinfixierte und paraffineingebettete Tumorgewebe wurde immunhistochemisch auf die Expression von Ezrin und Moesin untersucht. Die Korrelation der Ergebnisse erfolgte sowohl univariat als auch multivariat.

Ergebnisse: Das Kollektiv stimmt mit den in der Literatur beschriebenen klinisch-pathologischen Parametern, wie Alter, Histologie und Überlebensdaten überein. Die Moesinexpression war nur in der univariaten Überlebensanalyse sowohl für das progressfreie als auch das gesamte Überleben statistisch signifikant. Dahingegen zeigte sich, dass Patientinnen mit einem das Protein Ezrin exprimierenden Tumor ein schlechteres Gesamtüberleben gegenüber den Frauen ohne Expression im Tumor haben. Weiterhin ergab sich in der multivariaten Analyse, dass die Ezrinexpression ein unabhängiger Parameter ist.

Schlussfolgerung: Moesin stellte sich nicht als ein unabhängiger prognoserelevanter Parameter dar.

Ezrin ist als unabhängiger Prognosefaktor für das Ovarialkarzinom anzusehen. Dies kann mit seinen biologischen Eigenschaften erklärt werden, da Ezrin als Ankerprotein für Aktin in der Zellmembran und für Signaltransduktionen verantwortlich ist. Bei fehlender Ezrinsynthese wären zum Beispiel Störungen der Zellmotilität und von apoptotischen Regelkreisen zu erwarten.

1	Einleitung	1
1.1	<i>Die Ezrin-Radixin-Moesin-Proteinfamilie</i>	<i>1</i>
1.2	<i>Ezrin</i>	<i>4</i>
1.2.1	Vorkommen und Expression	4
1.2.2	Ezrin und Tumoren	4
1.3	<i>Moesin</i>	<i>5</i>
1.3.1	Vorkommen und Expression	5
1.3.2	Moesin und Tumoren	6
1.4	<i>Radixin</i>	<i>6</i>
1.4.1	Vorkommen und Expression	6
1.5	<i>Epidemiologie des Ovarialkarzinoms</i>	<i>7</i>
1.6	<i>Entstehung des Ovarialkarzinoms</i>	<i>8</i>
1.7	<i>Histologie der Ovarialkarzinome</i>	<i>10</i>
1.8	<i>Prognosebestimmende Faktoren beim Ovarialkarzinom</i>	<i>12</i>
2	Ziele	13
3	Material und Methoden	14
3.1	<i>Das Kollektiv</i>	<i>14</i>
3.2	<i>Histopathologische Untersuchung</i>	<i>18</i>
3.3	<i>Immunhistologische Methoden</i>	<i>19</i>
3.4	<i>Immunhistologische Untersuchung</i>	<i>20</i>
3.5	<i>Statistische Auswertung</i>	<i>20</i>
4	Ergebnisse	21
4.1	<i>Die Kollektivdaten</i>	<i>21</i>
4.1.1	Alter und Überleben	21
4.1.2	Aszites und Überleben	23
4.1.3	Tumorrest und Überleben	24
4.1.4	Chemotherapie und Überleben	28
4.1.5	FIGO-Stadium und Überleben	29
4.1.6	Grading nach Silverberg	33
4.1.7	Histologie und Überleben	38
4.1.8	Lymphknotenstatus	40
4.1.9	Rezidiv- und Überlebensstatus	41
4.2	<i>Ezrin</i>	<i>42</i>
4.2.1	Färbeverhalten	43
4.2.2	Korrelationen von Ezrin mit verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern	45
4.3	<i>Moesin</i>	<i>47</i>
4.3.1	Färbeverhalten	48
4.3.2	Korrelationen von Moesin mit verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern	49
4.4	<i>Multivariate Analyse des Gesamtüberlebens</i>	<i>51</i>
5	Diskussion	52
5.1	<i>Das Patientenkollektiv</i>	<i>52</i>
5.2	<i>Ezrin</i>	<i>54</i>
5.3	<i>Moesin</i>	<i>57</i>
6	Zusammenfassung	59
7	Thesen	60
8	Literaturverzeichnis	62

Abkürzungsverzeichnis

aa	Aminosäuren
bp	Basenpaare
BRCA 1 und BRCA 2	breast cancer antigen 1 und 2
CD	Cluster of differentiation
Cdk5	cyclin dependent kinase 5
CFTR	cystic fibrosis transmembrane receptor
EGF	epidermal growth factor
EBP50	Ezrin-Binding-Protein 50kDA
ERMAD	Ezrin-Radixin-Moesin assoziierte
	Domäne
FERM	homologes Protein four point one Ezrin-Radixin-Moesin
FIGO	Fédération International de Gynecologiste et Obstetricians
HGF	hepatocyte growth factor
ICAM	intercellular adhesion molecule
Il	Interleukin
KRAS	GTPase
Lck	lymphocyte-specific-protein-tyrosine-kinase
LPA	lysophosphatid acid
OOE	ovarielles Oberflächenepithel
PIP	Phosphatidylinositol
PIP ₂	Phosphatidyl-4.5-bisphosphat
PKC	Protein kinase C
ROCK1 und 2	Rho-Kinase 1 und 2
TNF α	Tumornekrosefaktor α
Fas/CD95	Todesrezeptor
Thr	Threoninrest
Tyr	Tyrosinrest

1 Einleitung

Die Diagnose des Ovarialkarzinoms wird zumeist erst gestellt, wenn der Tumor schon über die Organgrenze hinaus in die Peritonealhöhle gestreut hat und somit eine kurative Therapie kaum noch möglich ist. In diesem Stadium haben die Tumorzellen nach Anhaftung an das Mesothel dieses durchwandert und dringen in das submesotheliale Bindegewebe ein. Hier kommt es zu einer starken begleitenden Entzündungsreaktion des Peritoneums, welche wiederum die Invasion beschleunigt. Würde man es schaffen, diesen Prozess zu hemmen, so könnte man die Prognose der Ovarialkarzinompatientinnen verbessern.

Um am Mesothel haften zu können, binden die Tumorzellen über ihren CD44-Rezeptor an den Hyaluronsäuremantel der Mesothelzellen. Da das desmoplastische Stroma der Peritonealkarzinose zusätzlich auch reich an Hyaluronsäure ist, scheint es auch bei folgender Invasion in das submesotheliale Gewebe förderlich zu sein. Die Funktion der Hyaluronsäure-CD44 Bindung entfaltet ihre Wirkung vermutlich abhängig von der Bindung von submembranalen Adapterproteinen an die zytoplasmatische Domäne von CD44. Diese Adapterproteine entstammen der ERM Proteinfamilie (Ezrin/Radixin/Moesin)^{10;11;65}.

1.1 Die Ezrin-Radixin-Moesin-Proteinfamilie

Der ERM-Komplex reguliert über diverse Signalkaskaden das submembranäre Aktin-Zytoskelett und verankert es an der Plasmamembran. Die ERM-Proteinfamilie setzt sich aus den drei Eiweißen Ezrin, Radixin und Moesin zusammen. Ihre Aminosäuresequenzen stimmen zu etwa 75% überein⁵². Sie besitzen eine homologe Domäne zum Protein 4.1 (FERM Domäne, für Protein 4.1 homologe Domäne⁷), was die Zugehörigkeit der ERM-Proteine zur Protein 4.1 Superfamilie determiniert. Zusätzlich besteht auch eine Homologie zum Tumorsuppressorgen Merlin/Schwannomin, welches bei der Entstehung der vererbaren Neurofibromatose Typ II eine Rolle spielt⁶⁵.

ERM-Proteine bestehen aus drei Domänen: der hoch konservierten N-terminalen FERM-Domäne, der zentralen α -helicalen Domäne in Form von „coiled coils“ und der C-terminalen aktinbindenden Domäne. Im inaktiven Zustand sind ERM-Proteine zusammengerollt im Zytoplasma lokalisiert^{7;10;25;29;93}. Sie zeigen starke intra- oder intermolekulare Assoziationen, welche diese Proteine durch Interaktionen der N-/C-ERMAD in einer geschlossenen Konformation halten. Die N-ERMAD beinhaltet die

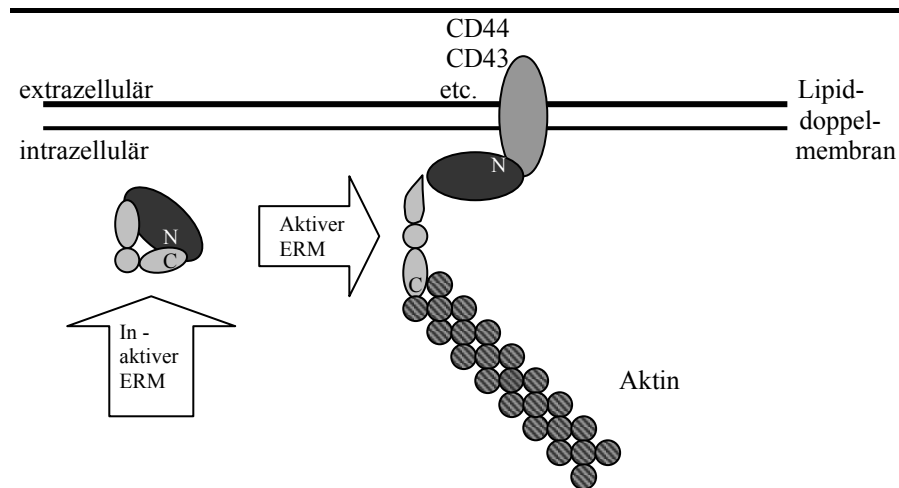


Abbildung 1

Die N-ERMAD und C-ERMAD sind im inaktivierten Zustand aneinander gelagert und somit unzugänglich. Die N-/C-terminalen Domänen bestehen zum einen aus der N-ERMAD, welche die Membranbindungsstelle darstellt und zum anderen aus C-ERMAD, welche die carboxyterminale F-Aktin Bindungsstelle beinhaltet. Die Konformationsänderung vom inaktiven zu einem aktiven Zustand erfolgt über zahlreiche intrazelluläre Signalkaskaden (nach Tsukita 1997⁹³)

FERM-Domäne, welche die Membranbindungsstelle darstellt. Die C-ERMAD, welche die carboxyterminale F-Aktin-Bindungsstelle beinhaltet, ist im geschlossenen Zustand nicht zugänglich.

Verschiedene Stimuli, welche noch nicht restlos aufgeklärt sind^{10;51;93}, wie zum Beispiel Thrombin, EGF und HGF aktivieren Ezrin⁷⁹. Diese Aktivierungen erfolgen mit der Phosphorylierung durch Serin/Threonin- und Tyrosinkinase über die Bindung von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP₂). Die Phosphorylierungsstellen für Ezrin befinden sich in einem konservierten Threoninrest im C-ERMAD (Thr 567). Dieser wird zum Beispiel durch die Rho-Kinase (ROCK, ein Rho-Effektor) oder eine atypische Proteinkinase-C (PKC θ) phosphoryliert⁴¹.

Eine andere Möglichkeit der Aktivierung besteht durch Bindung von PIP₂ an die FERM Domäne (Tyr 145) oder an die „coiled coils“-Domäne (Tyr353) von Ezrin. In vitro führt eine Überexpression der Phosphatidylinositol-4-Phosphat-5-Kinase, welche die PIP₂ Menge erhöht, zu einer Konformationsänderung von Ezrin. (Beispiele von Bindungspartnern des inaktivierten („dormant“) Ezrins und des aktivierten Ezrins sind der Abbildung 2 zu entnehmen¹⁰.)

Ist Ezrin nicht phosphoryliert, unterliegt es einer starken intramolekularen Selbstassoziation und befindet sich vorwiegend gelöst im Zytoplasma. Durch eine

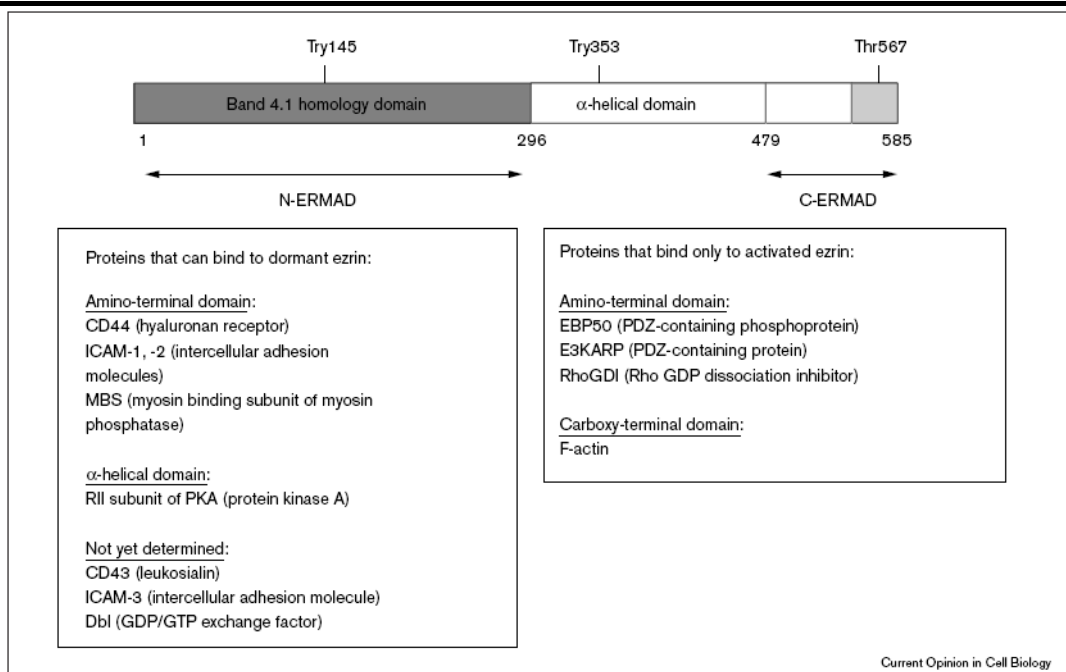


Abbildung 2

Darstellung der Domänen des Ezrins, welches hier stellvertretend für die Proteine der ERM-Familie steht. (Bretscher 1999¹⁰)

Aktivierung kommt es zu einer Umlagerungen, das heißt zuerst die Lösung der Selbstassoziation von N-ERMAD und C-ERMAD und danach folgen die zwischenmolekularen Interaktionen, wie die Bildung von Oligomeren und Anlagerung an die Zellmembran¹⁰. Letztendlich bildet Ezrin im phosphorylierten Zustand einen Komplex mit Aktin.

Die Phosphorylierung von Thr567 führt also zu einer membranären Lokalisation der ERMs und damit zur Bildung von fokalen Adhäsionskomplexen und Mikrovilli, was maßgeblich für eine Polarisierung der Zelle ist. Im Umkehrschluss wurde auch gezeigt, dass eine Dephosphorylierung durch Phosphatasen zu einer Abnahme der Mikrovilli führt und somit zur Aufhebung der Polarisierung der Zellen^{15;40}.

Es gibt aber alternative Phosphorylierungsstellen, welche Ziele von Phosphotyrosinkinasen sind: Tyr145 (In der Abbildung von Bretscher et al. 1999¹⁰ wird statt Tyr die Abkürzung Try für den Tyrosinrest benutzt.) oder Tyr353 (Abbildung 2). Phosphorylierung von Tyr145 oder Tyr353 steigert die Motilität von Zellen und hemmt die Apoptose durch Interaktion mit PI-3K/Akt^{16;42}.

Wie bereits erwähnt, haben ERM-Proteine zwei Bindungsstellen, eine am N-Terminus für Membranadhäsionsmoleküle und eine am C-Terminus für das aktinhaltige Zytoskelett³³ (Abbildung 1).

Der ERM-Komplex bindet über den N-Terminus direkt oder indirekt an Plasmamembranproteine. An transmembranären „single pass“ Proteinen wie dem Hyaluronsäurerezeptor CD44⁹¹, ICAM-1,-2,-3 und CD43 bindet ERM direkt⁹⁸. Die Bindung an die „seven pass“ transmembranären Proteine wie CFTR⁸², β 2-Adrenorezeptor¹² erfolgt indirekt über EBP50 (Ezrin-Binding-Protein 50kDA⁶³). Hierbei sind die molekularen Mechanismen nahezu unbekannt⁵¹. Die meisten Rezeptoren binden an alle drei Proteine Ezrin, Radixin und Moesin. Es gibt Ausnahmen, wie z.B. der „Todesrezeptor“ Fas/CD95 in T-Lymphozyten, welcher nur an Ezrin bindet⁶⁰. Es wird jedoch vermutet, dass die zum Teil unterschiedlichen Bindungsaffinitäten der drei Proteine eine Zusammenlagerung zum ERM zweckmäßig sind, um eine größere Vielfalt an Bindungspartnern bedienen zu können.

1.2 Ezrin

1.2.1 Vorkommen und Expression

Als erster Vertreter der ERM-Proteine wurde Ezrin als Substrat der Tyrosinkinase des EGF-Rezeptors und als Bestandteil von intestinalen Mikrovilli 1986 durch Bretscher et al.⁹ entdeckt. Das Protein wird physiologischerweise in diversen epithelialen Geweben, zum Beispiel: Darm, Lunge, Niere und Endometrium exprimiert. Im Gegensatz zu Radixin und Moesin kann Ezrin von seinen Bindungspartnern (zum Beispiel ICAMs, CD44) durch die beim Säuger vorkommende calciumabhängige Protease Calpain abgespalten und damit inaktiviert werden³³.

1.2.2 Ezrin und Tumoren

Ezrin wurde bereits bei verschiedenen Tumorentitäten sowohl in vivo als auch in vitro untersucht. In vivo konnte eine vermehrte Expression von Ezrin in Adenokarzinomen des Pankreas², in Endometriumkarzinomen⁵⁸, sowie Melanomen der Uvea⁵⁰ und der Haut³² im Vergleich zum Normalgewebe beobachtet werden. In vitro wurde bereits nachgewiesen, dass es beim Ovarialkarzinom mit einer vermehrten Ezrinexpression durch EGF und $Il-1\alpha$ über die Tyrosinphosphorylierung des Ezrins zu einer höheren Metastasierungsrate kommt^{10;16}. Bei stark Ezrin-exprimierenden, metastasierten Rhabdomyosarkom- und

Osteosarkomazelllinien^{34,99}, ließ sich durch Inhibition der Ezrinexpression die Metastasierungsrate der Zellen deutlich reduzieren. Diese Fakten deuten daraufhin, dass Ezrin mit der Zellbewegung und der Tumorinvasivität eng verbunden ist.

Tabelle 1 Kurzdarstellung des Proteins Ezrin

Synonym	Cytovillin, Villin2
Chromosom	6q25,2-26
mRNA	3155 bp (NCBI Accessionnummer : NP_003379)
Aminosäuren	586 (NCBI Accessionnummer : NP_003370)
Gewicht	69.417 Da
zelluläre Lokalisation	Zytoplasma Zellmembran
Expression im Gewebe	Vorwiegend in: epithelialen Zellen ⁷ Astrozyten der Hirnrinde, Basalganglien ²⁶
Phosphorylierungsstellen	Tyr 146 durch EGF Rezeptor Lck ¹⁰ Thr 235 durch Cdk 5 ⁹⁷ Tyr 353 durch EGF Rezeptor ¹⁰ Thr 567 durch PKC, ROCK1 ¹⁰

1.3 Moesin

1.3.1 Vorkommen und Expression

Moesin wurde erstmals aus einem bovinen Uterus 1991 durch Lankes et al. isoliert⁴⁶. Weiterhin wurde eine starke Moesinproduktion in Lymphozyten und auswachsenden Neuriten⁵⁷ nachgewiesen. Nach Castelo¹⁴ und Paglini^{14;59} sollen Moesin und Radixin des weiteren für die Stabilisierung von Neuriten und Axonen von großer Bedeutung sein. Es ist vor allem in Filopodien und anderen membranären Ausziehungen zu finden, die für Zell-Zellkontakte, die Signaltransduktion und die Zellmotilität von Bedeutung sind. Wichtig für die Aktivierung des Proteins ist der Threoninrest **Thr558** (siehe auch Tabelle 2)^{10;51;55}. Aktiviertes Moesin (wie auch seine Verwandten Ezrin und Radixin) kann die Polymerisation von Stressfasern initiieren und eine Gruppierung von Integrinen über

polymerisiertem Aktin induzieren. Genaue Kontrollmechanismen sind auch hier noch nicht geklärt⁴⁸. Moesin ist insensitiv für Calpain und kann somit nicht von diesem inaktiviert werden⁸⁰.

Tabelle 2 Kurzdarstellung des Proteins Moesin

Synonym	MSN (Membrane-organizing-extension-spike-protein)
Chromosom	Xq11.2-q12
mRNA	1734 bp (NCBI Accessionnummer : NP_002444 Region 199-1932)
Aminosäuren	577 (NCBI Accessionnummer : NP_002435)
Gewicht	67.824 Da
zelluläre Lokalisation	Zytoplasma Zellmembran Nukleus
Expression im Gewebe	- in allen Geweben
Phosphorylierungsstellen	- Thr 558 durch PKC, ROCK1 ^{55;62}

1.3.2 Moesin und Tumoren

So zahlreiche Untersuchungen wie für Ezrin existieren für Moesin nicht. Eine in vitro Studie konnte belegen, dass Moesin in östrogenrezeptornegativen Mammakarzinomzelllinien stark exprimiert ist¹³. Auch bei dem verhornenden Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle konnte eine stark erhöhte Moesinexpression festgestellt werden^{15;36}.

1.4 Radixin

1.4.1 Vorkommen und Expression

Radixin wurde erstmals durch Tsukita et al. 1989 aus einer Rattenleber isoliert⁹². Zum Zeitpunkt der Erhebung der Daten dieser Arbeit fanden sich nur sehr wenige Arbeiten zu Radixin. Dies könnte damit zusammenhängen, dass es keinen kommerziell erwerblichen Antikörper für Radixin gibt. Das Protein wird hauptsächlich in Kombination mit Ezrin und Moesin genannt.

1.4.2. Radixin in der Literatur

Eine der wenigen Arbeiten ausschließlich über Radixin war von Kitajiri et al. 2004. Sie konnten belegen, dass das Fehlen von Radixin in den Stereozilien der Kochlea zur Taubheit führt aber keine Störungen des Vestibularapparates hervorruft³⁵.

Tabelle 3 Kurzdarstellung des Proteins Radixin

Synonym	Keines
Chromosom	11q23
mRNA	1752 bp (NCBI Accessionnumber : NP_002906 Region 311..2062)
Aminosäuren	583 (NCBI Accessionnumber : NP_002897)
Gewicht	68.568 Da
zelluläre Lokalisation	Zellmembran Zytoplasma
Expression im Gewebe	natürliche Killerzellen Astrozyten
Phosphorylierungsstellen	Thr 564 durch ROCK1 ¹⁰ Thr 573 durch ROCK1 ¹⁰

1.5 *Epidemiologie des Ovarialkarzinoms*

Jährlich erkranken in Deutschland etwa 9.700 Frauen neu an einem Ovarialkarzinom. Das entspricht 5% aller malignen Tumoren der Frau. Im Jahr 2003 wurden 35.372 Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom in Deutschland behandelt und davon verstarben 5.479 Patientinnen⁸⁶. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei etwa 66 Jahren. Die Prognose für den Eierstockkrebs ist im Vergleich zu anderen malignen Erkrankungen des weiblichen Genitaltrakts die schlechteste. Die 5-Jahres-Überlebensrate beträgt für alle FIGO- Stadien nur 39 % und hat sich in den letzten zwanzig Jahren nur um etwa 5% verbessert.

Die in Deutschland ermittelten Erkrankungszahlen liegen mit ca. 16/100 000 im Vergleich mit anderen EU-Staaten recht hoch. Innerhalb Europas besteht ein Nord-Süd-Gefälle, die höchste Inzidenzrate ist in den skandinavischen Ländern (Dänemark und Schweden) zu finden und die niedrigste in den südeuropäischen Ländern (Italien, Portugal, Spanien und Griechenland)⁸.

Als Risikofaktoren für das Ovarialkarzinom gelten eine hohe Ovulationshäufigkeit (zum Beispiel kinderlose Frauen, die keine Ovulationshemmer eingenommen haben), früh einsetzende Menarche und spätes Eintreten der Menopause. Weiterhin sind genetische Prädispositionen bekannt, was aber nur bei ca. 10% der Patientinnen eine Rolle spielt^{44;45;94}.

1.6 Entstehung des Ovarialkarzinoms

Das Oberflächenepithel des Ovars leitet sich von der Serosa ab. Die Vermutung, dass das Ovarialkarzinom von Oberflächengewebe des Ovars abstammt, stellte schon Herr Wells im Jahr 1872 auf⁴. Aber erst 1980 wurde das Oberflächenepithel des Ovars kultiviert und untersucht^{1;3}. Heute wird angenommen, dass die verschiedenen Differenzierungen der Ovarialkarzinome das Müllersche Differenzierungsspektrum des OOE's wieder spiegeln⁶⁹. Für die Tumorgenese werden häufige Rupturen des OOE's, gefolgt von raschen, zum Teil überschießenden entzündlichen Reparaturmechanismen verantwortlich gemacht. Dies würde auch den Risikofaktor Nullipara und langjährige Menstruation mit vielen Ovulationen, das heißt vielen Rupturen des OOE's, erklären.

Außerdem wurde die Bildung von Inklusionszysten als Boden für Mutationen durch den Einfluss des steroidproduzierenden Stromas, vor dem es normalerweise durch die Tunica albuginea geschützt ist, verantwortlich gemacht^{23, 24}. Inklusionszysten entstehen durch die Tieferverlegung von OOE im Rahmen der Heilungsvorgänge der Ovulationswunde, bei paraovariellen Entzündungen und Adhäsionen⁷⁶. Insgesamt sind aber „Müllersche Metaplasien“ und Frühkarzinome häufiger in Inklusionszysten als im OOE zu finden^{20,24}.

Die schrittweise Tumorentstehung vom Adenom zum Karzinom, wie etwa beim Kolonkarzinom, ist beim Ovarialkarzinom nicht ohne weiteres zu postulieren, da selten Vorläuferläsionen oder Frühkarzinome gefunden werden. Deshalb wird vermutet, dass Ovarialkarzinome meist de novo entstehen, was für das seröse jedoch nicht für das muzinöse Karzinom gilt⁵. Für die anderen histologischen Typen ist die Entstehungsart noch unklar. Die malignen Neubildungen des Ovars sind eine heterogene Gruppe von Neoplasien mit unterschiedlichen molekulargenetischen Ursachen^{28;56}. Die Tumorentstehung ist gekennzeichnet durch eine meist starke chromosomale Instabilität. Es gibt die hereditären oder die erworbenen funktionellen Gendefekte.

Beim serösen Ovarialkarzinom wird eine dualistische Entstehung diskutiert. Erstens die des „low grade“ serösen Ovarialkarzinoms und zweitens die des „high grade“ serösen Ovarialkarzinoms. Die „low grade“ serösen und auch die muzinösen Ovarialkarzinome

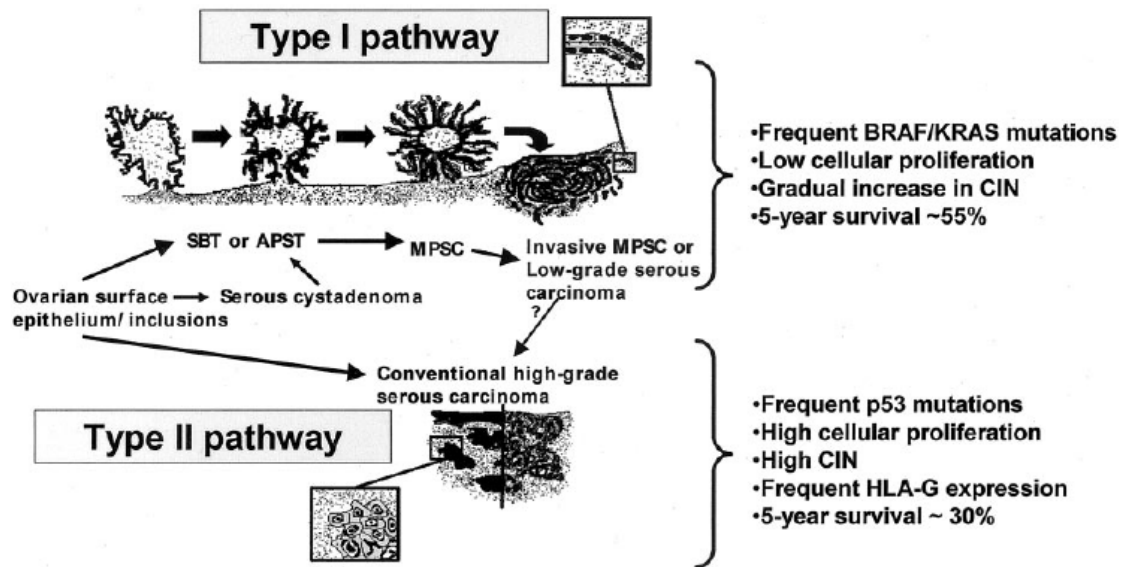


Abbildung 3

Schematische Darstellung der verschiedenen Entstehungsmechanismen für „low-grade“ und „high-grade“ Ovarialkarzinome.

Abkürzungen: SBT-Serous Borderline Tumour; APST-Atypical Proliferative Serous Tumour; MPSC-Micropapillary Serous Carcinoma⁸¹

entwickeln sich wahrscheinlich aus einer Adenom-Karzinom-Sequenz. Beim muzinösen Ovarialkarzinom steigert sich die KRAS- Mutationsrate vom benignen über borderline zum malignen Tumor¹⁹. Das „low grade“ seröse Ovarialkarzinom tritt oft im Gefolge mit benignen serösen Zystadenomen und serösen Borderlinetumoren auf. Auch hier ist die KRAS-Mutationsrate vom benignen bis hin zum malignen Tumor ansteigend^{81;84;85}.

Viele Patientinnen haben eine genetische Instabilität, verursacht durch die Mutationen von BRCA1 und BRCA2. Bei Uyei et al. 2006⁹⁴ weisen 14% aller Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom eine BRCA1-Mutation und 10% eine BRCA2-Mutation auf^{44;45;94}.

Für die Abstammung der endometrioiden Ovarialkarzinome werden drei Möglichkeiten diskutiert: Sie leiten sich 1. von endometrioiden Gewebe oder 2. von Adenomen oder 3. von einer vorbestehenden Endometriose ab. Auch klarzellige Ovarialkarzinome werden mit einer Endometriose in Verbindung gebracht⁶⁹.

Trotz der vielen Erklärungsansätze ist die Tumorentstehung der Ovarialkarzinome aufgrund ihrer Variabilität in ihrer Biologie und dem jeweiligen klinischen Verlauf nicht in allen Einzelheiten geklärt. Die schematische Abbildung 3 zeigt die Möglichkeiten der Entwicklung vom gesunden OOE zum Karzinom⁸¹.

1.7 Histologie der Ovarialkarzinome

In diesem Abschnitt werden nur die epithelialen Differenzierungen tabellarisch behandelt, die in dieser Arbeit berücksichtigt werden sollen. Dies entspricht den folgenden Subtypen entsprechend der aktuellen WHO Klassifikation⁸⁷:

Seröses Adenokarzinom, muzinöses Adenokarzinom, endometrioides Adenokarzinom, klarzelliges Adenokarzinom, transitionalzelliges Karzinom, gemischtes Karzinom und das undifferenzierte Karzinom.

Tabelle 4: Histologische Subtypen^{47;54;70-75}

Seröses Adenokarzinom des Ovars

Architektur	- papillär > solide > glandulär
Weitere Merkmale	- verzweigte Papillen - Psammomkörper - „high-grade“ Kerne (Ausnahme low-grade Karzinome)
Differentialdiagnosen	- primäres peritoneales Karzinom mit nur oberflächlichem Ovarbefall - Mesotheliom (Calretinin positiv) - Endometrioid (vorwiegend glandulär, plumpe Papillen, reichlich Zytoplasma) - Klarzellig (hyalines Stroma)

Muzinöses Adenokarzinom des Ovars

Architektur	- glandulär
Weitere Merkmale	- muzinöse Zellen, oft intestinal differenziert - rosettenförmige Anordnung von Drüsen - oft Kontinuum von Adenom-Borderline Tumor-Karzinom - Siegelringzellen möglich
Differentialdiagnosen	- muzinöser Bordeline-Tumor (keine Invasion) - Metastase: Kolonkarzinom, Appendixkarzinom, Magenkarzinom (Krukenbergtumor), Pankreaskarzinom

Endometrioides Adenokarzinom des Ovars

- Architektur** - glandulär > papillär > solide
- Weitere Merkmale** - reichlich Zytoplasma apikal glatt begrenzte Drüsen
- viele Mitosen
- Plattenepitheliale Differenzierung
- Differentialdiagnosen** - Metastase Kolonkarzinom
- synchrones und/oder metastatisches endometriales Endometriumkarzinom
- Serös

Klarzelliges Adenokarzinom des Ovars

- Architektur** - zystisch > papillär > solide
- Wichtige Merkmale** - Glykogenhaltige klare Zellen mit exzentrischen Kernen
- „hobnail“-Zellen
- Hyalines Stroma
- „Cherry red nucleoli“
- Differentialdiagnosen** - Keimzell- und Dottersacktumoren

Transitionalzelliges Karzinom

- Architektur** - urothelial grob papillär oder solide
- Wichtige Merkmale** - ähnelt den Neoplasien des Urothels
- Differentialdiagnosen** Transitionalzellkarzinom der Harnwege
- Maligner Brenner-Tumor (gutartige Brenner-Komponente muss vorhanden sein)

Gemischtes Karzinom des Ovars

- zeigt mindestens 10% eines zweiten Typen
- serös – klarzellig
- serös – endometrioid
- klarzellig - endometrioid
- serös - muzinös

Undifferenziertes Karzinom des Ovars

Architektur	- keine, Areale mit o.g. Architekturarten
Wichtige Merkmale	- viele Mitosen oder Atypien - hyperchromatische Kerne - kein spezifischer Immunphänotyp
Differentialdiagnosen	Granulosazelltumor, Plattenepithelkarzinom, kleinzelliges Karzinom, Metastasen

1.8 Prognosebestimmende Faktoren beim Ovarialkarzinom

Der wichtigste Prognosefaktor für Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom ist der Tumorrest nach der Primäroperation⁴³.

Verschiedene Studien^{17;21;61;88} stimmen darin überein, dass neben dem Tumorrest auch das FIGO-Stadium ein unabhängiger Prognosefaktor in der multivariaten Analyse für die 5-Jahres-Überlebensrate bei einer Erkrankung am Ovarialkarzinom ist. Andere Faktoren, wie das Alter, präoperativer Aszites, präoperatives Ca 125, histologische Differenzierung, Komorbidität und diverse molekulare Marker sind nicht überall in der Literatur in der multivariaten Analyse statistisch signifikant.

Eine Einteilung der Malignitätsgrade für das Ovarialkarzinom liefert das Grading nach Silverberg⁸³. Diese Einteilung spielt aber nur eine Rolle, wenn der Tumor auf das Ovar begrenzt ist. Außerdem unterliegt sie einer starken interpersonellen Variabilität was die Vergleichbarkeit schwierig macht. Nur „Low Grade“ und „High Grade“- Tumoren zeigen prognostisch relevante Unterschiede²⁷.

2 Ziele

Folgende Fragestellungen sollten in einer retrospektiven immunhistologischen Studie bearbeitet werden:

1. In welcher Quantität werden Ezrin und Moesin in Ovarialkarzinomen exprimiert?
2. Welche Korrelationen ergeben sich zu klinisch-pathologischen Parametern?
3. Welche prognostische Relevanz hat die Expression beider Proteine jeweils für das rezidivfreie und das Gesamtüberleben?

3 Material und Methoden

3.1 Das Kollektiv

Das Untersuchungsmaterial stammt von 108 Patientinnen, bei denen im Institut für Pathologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg ein Ovarialkarzinom diagnostiziert wurde. Die Diagnosen stammen aus den Jahren 1996 bis 2004 und wurden retrospektiv aus dem Befundsystem (PAS, Computersystem Paschmann) ermittelt. Die Frauen wurden in drei verschiedenen Krankenhäusern behandelt: in der Klinik für Gynäkologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Direktor: Prof. C. Thomssen), in der Klinik für Gynäkologie des Elisabeth-Krankenhauses in Halle (Chefarzt: Dr. T. Lantzsch) und in der Klinik für Gynäkologie des Carl-von-Basedow Krankenhauses in Merseburg (Chefarzt: Dr. M. Wolters).

Tabelle 5 Verteilung der Patientinnen mit Ovarialkarzinom

Krankenhaus	Häufigkeit	Prozent
Martin-Luther-Universität	55	50,9
Elisabeth-Krankenhaus	36	33,3
Carl-von-Basedow-Krankenhaus	17	15,7
Gesamt	108	100

Das Einverständnis der Patientinnen zur wissenschaftlichen Nutzung der Gewebe lag vor. Zusätzlich zu den pathohistologischen Befunden wurden die klinischen Akten der Patientinnen aus deren jeweiligen Krankenhäusern eingesehen (Tabelle 5). Diesen Akten entstammen die Angaben über präoperativen Aszites, primäre Operationsart (Tabelle 6), ggf. belassener Tumorrest (Tabelle 7), adjuvante Chemotherapie (Tabelle 8) und rezidivfreie – sowie Gesamtüberlebenszeit. Außerdem wurden bei fehlendem und unsicherem Follow-up die Einwohnermeldeämter angeschrieben, um den Überlebensstatus zu erfragen. Alle Daten wurden nach den Richtlinien des Datenschutzes behandelt.

Das Kollektiv der Patientinnen mit Ovarialkarzinom gliedert sich wie folgt auf:

Tabelle 6 Art der Operation bei Ovarialkarzinomen; in den Klammern die Abkürzungen

Art der Operation	Häufigkeit	Prozent
Bilaterale Salpingo-Oophorektomie (BSO)	5	4,6
Totale abdominale Hysterektomie mit bilateraler Salpingo-Oophorektomie (TAH +BSO)	7	6,5
Totale abdominale Hysterektomie mit bilateraler Salpingo-Oophorektomie und Omentektomie (TAH+BSO+OE)	27	25,0
Totale abdominale Hysterektomie mit bilateraler Salpingo-Oophorektomie mit Lymphnodektomie und peritoneales Sampling (+PS)	11	10,2
Totale abdominale Hysterektomie mit bilateraler Salpingo-Oophorektomie und Kolektomie (+Darm)	23	21,3
Totale abdominale Hysterektomie mit bilateraler Salpingo-Oophorektomie und Lymphnodektomie (+LNE)	27	25,0
Tumordebulking (Debulk)	8	6,5
Gesamt	108	100

Die Patientinnen waren zum Diagnosezeitpunkt im Median 64,4 (41 bis 89) Jahre alt. Einschlusskriterium war eine primäre Operation mit Versuch der primären Tumorentfernung.

Tabelle 7 Bei 94 (87%) Frauen waren Informationen zum Tumorrest verfügbar

Tumorrest	Häufigkeit	Prozent
kein Rest	40	37,0
<1cm	20	18,5
>=1cm	34	31,5
Fehlend	14	13,0
Gesamt	108	100

Tabelle 8 Art der Chemotherapie

Chemotherapie	Häufigkeit	Prozent
Carboplatin und Taxol	61	56,5
Andere platinhaltige Therapie	15	13,9
Platin in einer Monotherapie	5	4,6
Andere Chemotherapie	2	1,9
Keine Chemotherapie wegen FIGO IA	8	7,4
Chemotherapie verweigert	6	5,6
Vor Chemotherapie verstorben	7	6,5
Fehlende Angaben	4	3,7
Gesamt	108	100

Weiterhin erhielten 83 Frauen (79%) eine adjuvante Chemotherapie. Diese war in 81 Fällen eine adäquate, das heißt es wurde eine platinhaltige Chemotherapie für mindestens 6 Zyklen verabreicht. 8 Patientinnen bekamen auf Grund ihres niedrigen FIGO IA Stadiums keine Chemotherapie (Tabelle 8).

Der Rezidivstatus sowie das rezidivfreie Überleben (die Zeit in Monaten von der Diagnose des Primärtumors bis zur Diagnose des Rezidives) waren für 73 (67,6%) der 105 Karzinompatientinnen zu eruieren. Die mediane rezidivfreie Zeit lag bei 21,3 Monaten (1,5 bis 87,7 Monate).

Bei dem Überlebensstatus fehlten bis August 2004 die Angaben von nur 3 Patientinnen aus unserem Kollektiv. Um später eine differenziertere Aussage über die eventuelle Auswirkung des Tumorleidens auf die Patientinnen machen zu können, wurde der Überlebensstatus in folgende Kategorien nach Bell et al.⁶ aufgeteilt:

5 (4,6%) Patientinnen verstarben nicht eindeutig am Tumorleiden (DUC = Dead of Uncertain Cause), 42 (38,9%) der Frauen erlagen ihrem Ovarialkarzinom (DOD = Dead Of Disease).

Weitere 4 (3,7%) Patientinnen verstarben eindeutig nicht auf Grund des Ovarialkarzinoms (DOC = Dead of Other Cause).

Die weiterhin Lebenden wurden aufgeteilt in die Gruppen „am Leben, mit progredienten Krankheitsverlauf“ (AWPD = Alive with Progressing Disease), das waren 20 (18,5%); „am Leben, mit stabilem Krankheitsverlauf“ (AWS = Alive With Stabil Disease), darunter fielen 18 (16,7%) der Patientinnen und „keine Krankheitsanzeichen“ (NED = No Evidence of Disease), was bei 16 (14,8%) der Frauen zutraf. Für die Überlebensanalyse des progressfreien (Synonym verwandt: rezidivfrei) Überlebens war das Auftreten eines Rezidives der Endpunkt. Für das Gesamtüberleben gelten der Tod auf Grund der Erkrankung (DOD) und der Tod aus unsicherem Grund (DUC) als Endpunkt. Alle anderen Patientinnen, die in den beiden Analysen diese Ereignisse nicht erreichten, wurden zensiert.

Die mittlere Überlebenszeit ab Diagnosestellung bis zum Tod betrug 56 (0 bis 102) Monate, bzw. es bestand eine 5-Jahres-Gesamtüberlebensrate von 45,5 %.

Zusätzlich war von 50 (46,3%) Erkrankten bekannt, ob sie präoperativ einen Aszites hatten. Von 38 (32,2%) ist der Lymphknotenquotient, bei 41 (37,9%) der CA125-Wert prä-und postoperativ, bekannt. Diese Daten sind zurzeit aber noch zu lückenhaft, um sie für statistische Zwecke berücksichtigen zu können.

3.2 **Histopathologische Untersuchung**

Die Gewebe wurden unmittelbar nach der operativen Entnahme 24 Stunden in 4%igem gepuffertem Formaldehyd fixiert, danach in Paraffin (Schmelzpunkt 56°C) eingebettet und für die Studie 4 mm dünne Schnitte angefertigt. Für die mikroskopische Untersuchung wurden die Präparate routinemäßig mit Hämatoxylin–Eosin gefärbt.

Alle Tumoren wurden von zwei Pathologen (Prof. Dr. S. Hauptmann, Dr. M. Köbel) gemäß der aktuellen WHO-Richtlinien reklassifiziert⁸⁷ und nach dem Silverberg-System graduiert⁸³ (Tabellen 9 und 10).

Bei diagnostisch unklaren Fällen wurden immunhistologische Untersuchungen durchgeführt, vor allem um Metastasen auszuschließen.

Tabelle 9 Einteilung der Ovarialkarzinomen (nach den WHO- Richtlinien)

	Häufigkeit	Prozent (%)
Serös	62	57
Muzinös	2	2
Endometrioid	13	12
Klarzellig	10	9
Transitional	4	4
Undifferenziert	7	7
Gemischt	10	9
Gesamt	108	100

Tabelle 10 Grading der Ovarialkarzinome nach Silverberg⁸³

		Häufigkeit Prozent (%)		
Tumorarchitektur	glandulär	1	21	19
	papillär	2	41	38
	Solide	3	46	43
Kernpleomorphie	< 2	1	15	14
	< 4	2	55	51
	> 4	3	38	35
Mitosen	Bis 9/10HPF	1	30	28
	10-24/10HPF	2	37	34
	>24/10HPF	3	41	38
Score	3-5 Punkte	Grad 1	30	28
	6 u.7 Punkte	Grad 2	44	41
	8 u.9 Punkte	Grad 3	34	31

3.3 Immunhistologische Methoden

Im Median lagen fünf (1 bis 17) Gewebsblöcke pro Patientin vor. Davon erfolgte eine Auswahl eines repräsentativen Tumorblockes für die weiteren Untersuchungen und die Anfertigung von 4 mm dünnen Schnitten. Die Zielproteine Ezrin und Moesin wurden im Gewebe mit Hilfe der Immunhistologie (indirekte Avidin–Biotin Methode) detektiert^{37;38}. Für Ezrin kam der monoklonale Mausantikörper des Klons 3C12 von Sigma (Deisenhofen, Deutschland) zum Einsatz und für Moesin der monoklonale Mausantikörper des Klons 38/87 von NeoMarkers (Fremont, CA, USA).

Die Demaskierung der Antigene wurde dadurch erreicht, dass die Präparate mit Natriumzitat bei pH 6 für 40 Minuten in ein 94°C heißes Wasserbad gestellt wurden. Die Primärantikörper wurden 1:10.000 (Ezrin) und 1:2 (Moesin) in PBS verdünnt und die Gewebsschnitte für 30 Minuten bei 37°C inkubiert.

Nach einem Waschschrift mit PBS war der nächste Schritt, den mit Biotin konjugierten Sekundärantikörper hinzuzugeben. Als drittes Reagens wurde der mit Meerrettichperoxidase verbundene Streptavidin-Biotin Komplex hinzugefügt. Die rote Färbung entwickelte sich mit Aminoethylcarbazol (AEC, Zytomed, Berlin, Deutschland). Als Gegenfärbung der Kerne nutzte man Hämalaun blau.

Als Positivkontrolle für Ezrin bot sich Kolonmukosa⁶⁶ an, bei der sich das Epithel apikal anfärbt. Für Moesin konnte man die zytoplasmatische Färbung der Trophoblasten der Plazenta und das Endothel als Kontrolle nutzen⁴⁶. Als interne Kontrolle dienen für Ezrin die Lymphozyten und bei Moesin die Endothelzellen.

3.4 Immunhistologische Untersuchung

Zur semiquantitativen Einschätzung der Expression wurde der prozentuale Anteil der positiven Tumorzellen in 10%-Schritten ausgewertet. Sowohl der Ezrin- als auch der Moesinnachweis galten als positiv, wenn mehr als 10% der Tumorzellen angefärbt waren.

3.5 Statistische Auswertung

Die Korrelationen zwischen der Expression sowohl von Ezrin als auch von Moesin und verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern wurde mit Hilfe des Chi²-Tests nach Pearson beurteilt. Die Ergebnisse für das rezidivfreie Überleben und das Gesamtüberleben resultierten aus der Kaplan-Meier-Methode für die univariate Überlebensanalyse. Der Vergleich der verschiedenen Überlebenskurven erfolgte mit dem Log-Rank-Test. Die Variablen, welche in dieser Analyse signifikant mit dem Überleben korrelierten, wurden mit der multivariaten Methode Cox proportional hazard regression model auf ihre Unabhängigkeit überprüft. Als signifikant galten *p*-Werte kleiner als 0,05. Für alle statistischen Analysen wurde die SPSS Software Version v12.0 genutzt.

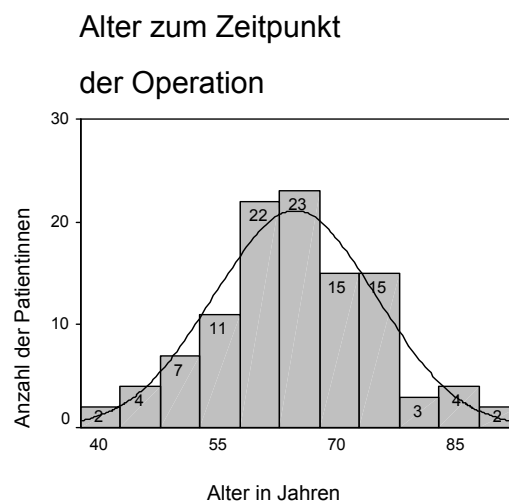
4 Ergebnisse

Das Ziel dieser Arbeit ist es, an Hand des ausführlich charakterisierten Kollektivs von Ovarialkarzinompatientinnen die Expression von Ezrin und Moesin sowie deren Korrelation zu klinisch-pathologischen Parametern zu untersuchen.

4.1 Die Kollektivdaten

4.1.1 Alter und Überleben

Die Altersangaben entsprechen einer Gauß'schen Verteilung mit einem typischen Median von 64 Jahren⁸.

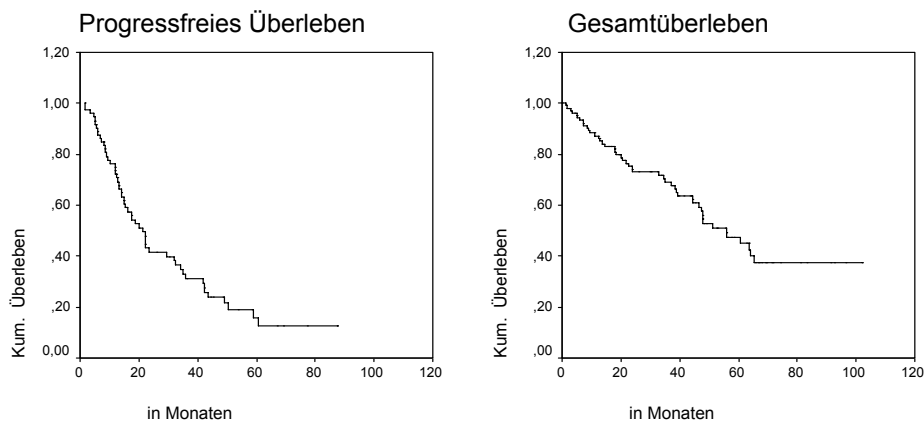


N= 108; Median 64 Jahre; Spannweite: 41-89 Jahre

Abbildung 4 Altersverteilung

Die progressfreie 5-Jahres Überlebenszeit (ereignisfreie Überlebenszeit) beträgt 14,3 % und das 5-Jahres-Gesamtüberleben ergibt wie in Abbildung 5 dargestellt 45,5 %, was besser war, als im Bundesdeutschen Durchschnitt von 39%.im Jahr 2000⁸.

Um zu überprüfen, ob jüngere Patientinnen einen Überlebensvorteil gegenüber den Älteren des Kollektivs haben, werden die Altersangaben in die zwei Gruppen „Alt“ und „Jung“ zusammengefasst „Alt“ sind die 58 Patientinnen (54%), die so alt wie der Median von 64 Jahren oder älter waren und als „jung“ galten die 50 Patientinnen (46%), die jünger als der Median waren.



N= 73; Median: 21,3;
 Spannweite: 1,5-87,7 Monate;
 5-Jahres- Progressfreie-Zeit-Rate: 14,3%

N= 105; Median: 56 Monate;
 Spannweite: 0-102,0 Monate;
 5-Jahres- Überlebensrate: 45,5%

Abbildung 5 Überlebenskurven für das Progressfreie Überleben und das Gesamtüberleben

Sowohl beim progressfreien Überleben, als auch beim Gesamtüberleben, ist ein Unterschied zu sehen, der knapp über der Signifikanzmarke $p < 0,05$ lag (Abbildung 6). Die „jüngeren“ Patientinnen hatten gegenüber den „Älteren“ eine längere progressfreie Zeit und ein längeres Gesamtüberleben.

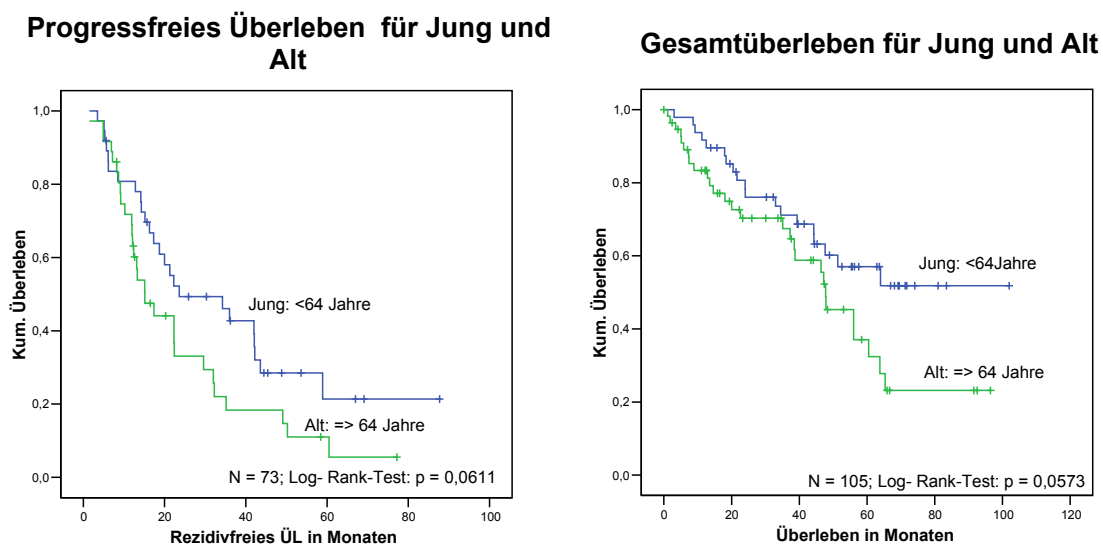


Abbildung 6 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Alter

Kreuzkorrelationen der Altersgruppe mit anderen klinisch-pathologischen Faktoren

Nur bei der Korrelation der Altersgruppen mit adäquater Chemotherapie (Definition: „adäquate“ Chemotherapie in Kapitel 4.1.5;) war statistisch ein signifikanter Zusammenhang zu finden. 13 der 17 Patientinnen (76%), die keine adäquate Chemotherapie erhielten, waren der Gruppe „alt“ zugehörig (Tabelle 11). Die im Folgenden genannten Parameter weisen keine signifikanten Korrelationen mit dem Alter auf: Aszites (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,145$); Tumorrest (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,365$); FIGO (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,067$); Grading nach Silverberg (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,183$); histologischer Typ (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,555$).

Tabelle 11 Statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Alter und adäquater Chemotherapie

		Alter		Gesamt	Chi ² -Test nach Pearson:
		(<64Jahre)	(>=64Jahre)		
Adäquate Chemotherapie	Ja	46	45	91	$p=0,015$
	nein	4	13	17	
Gesamt		50	58	108	

4.1.2 Aszites und Überleben

Die Angaben zum präoperativen Aszites liegt nur von 50 Patientinnen vor, wobei 25 der Frauen einen Aszites präoperativ hatten und Patientinnen nicht. Für das progressfreie Überleben zeigt sich ein schwacher Trend für ein frühes Rezidiv bei Vorhandensein von Aszites, währenddessen beim Gesamtüberleben eine deutliche Tendenz (Log-Rank-Test: $p=0,0642$) für ein schlechteres Überleben mit einem Aszites zu erkennen ist (Abb.7).

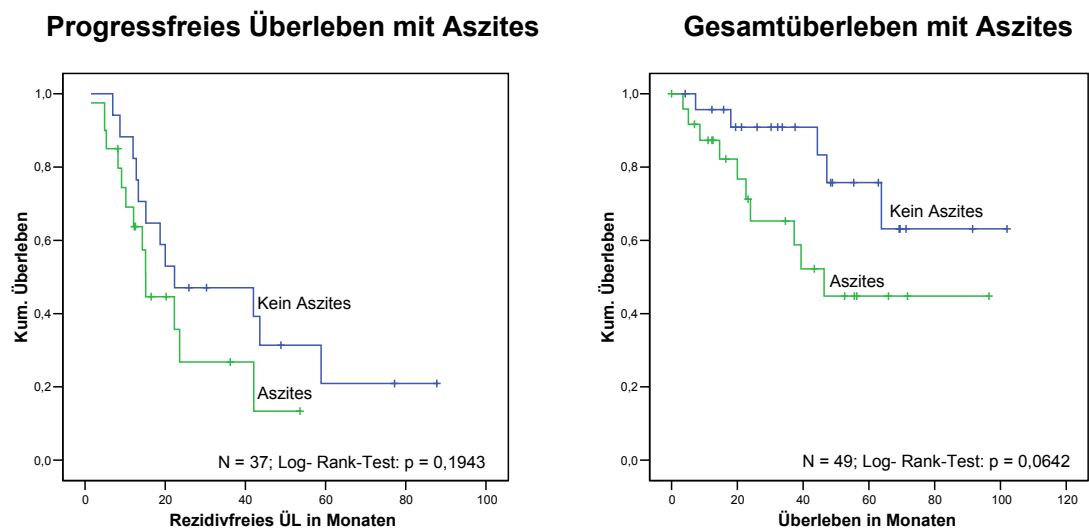


Abbildung 7 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Aszites

Kreuzkorrelationen des Aszites mit anderen klinisch-pathologischen Faktoren

Es sind keine statistischen Zusammenhänge mit anderen Faktoren festzustellen. So ergibt sich folgendes: adäquate Chemotherapie (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,684$); Tumorrest (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,127$); FIGO (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,150$); Grading nach Silverberg (Chi²-Test nach Pearson: $p= 0,362$); Histologie (Chi²-Test nach Pearson: $p= 0,729$).

4.1.3 Tumorrest und Überleben

Der Tumorrest ist in dieser Arbeit in folgende drei Gruppen unterteilt um den Krankheitsverlauf im Zusammenhang mit der Tumorrestgröße zu untersuchen:

1. kein Rest - kein makroskopisch sichtbarer Tumorrest in situ vorhanden
2. < 1cm - makroskopisch sichtbarer Tumorrest mit einem Durchmesser von weniger als 1cm in situ vorhanden
3. ≥ 1 cm - Tumorrest von makroskopisch sichtbaren Durchmesser größer 1cm

Die Patientinnen teilen sich wie in Abbildung 8 dargestellt auf.

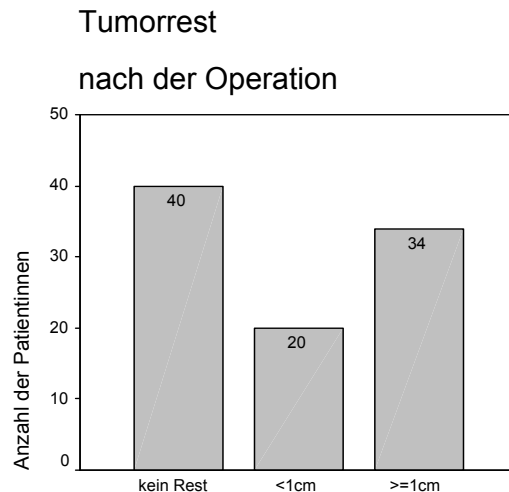


Abbildung 8 Tumorrest (3 Gruppen)

Für die Überlebensstatistik nach Kaplan-Meier zeigte sich, dass die Patientinnen ohne Tumorrest ein deutlich besseres progressfreies Überleben haben, sowie auch ein besseres Gesamtüberleben als die Patientinnen, die einen Tumorrest haben. Die Überlebenskurven bei „Tumorrest <1cm“ und „Tumorrest > 1cm“ verlaufen nahezu deckungsgleich und überkreuzen sich mehrfach (siehe Abbildung 9). Deshalb werden im Folgenden die Gruppen „Tumorrest <1 cm“ und „Tumorrest >1cm“ zu der einen Gruppe: „Tumorrest vorhanden“ zusammengefasst (siehe Abbildung 10).

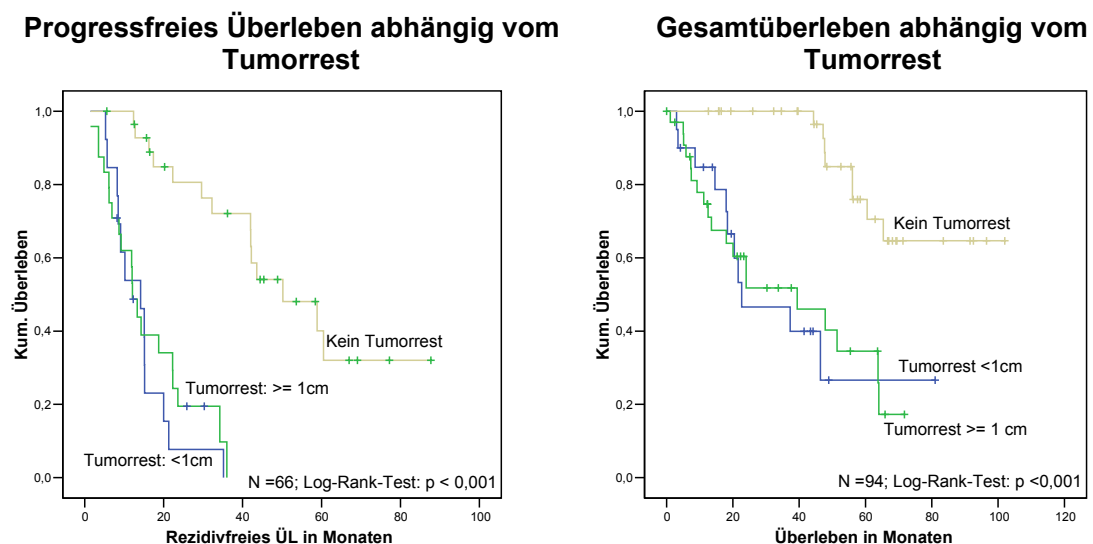


Abbildung 9 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Tumorrest (3 Gruppen)

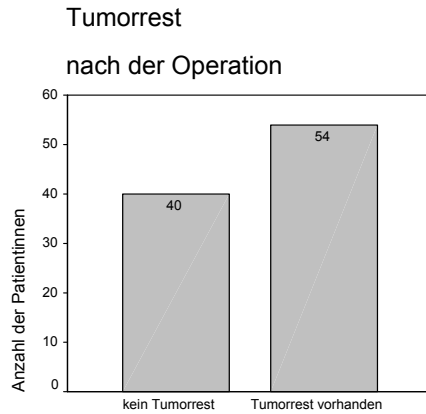


Abbildung 10 Tumorrest (2 Gruppen)

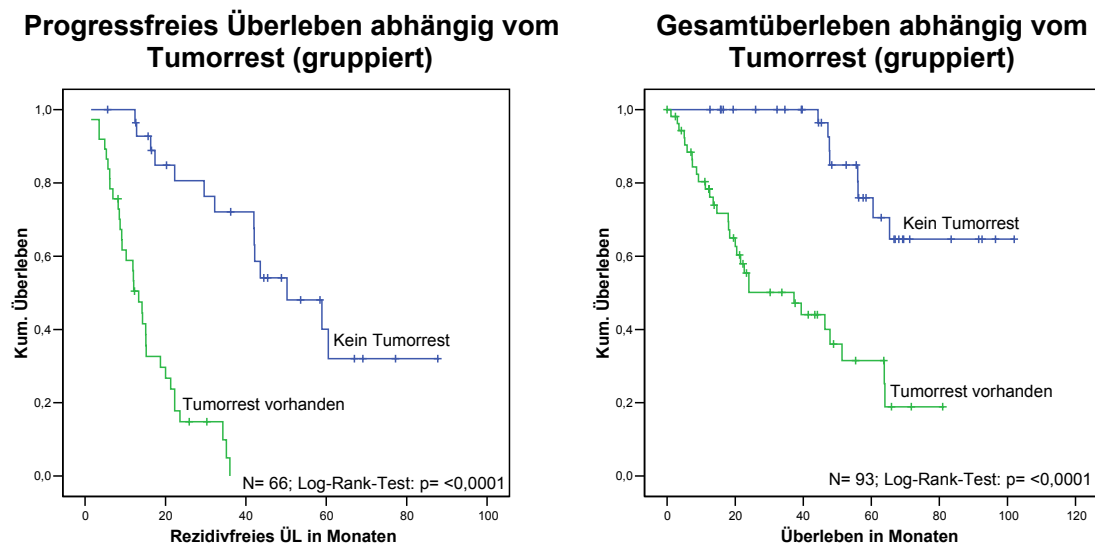


Abbildung 11 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Tumorrest (2 Gruppen)

Nach diesem Schritt stellt sich eindrucksvoll dar, dass eine postoperative Tumorfreiheit einen hohen Überlebensvorteil bringt (Log-Rank-Test: $p = <0,0001$, sowohl für das progressfreie Überleben als auch für das Gesamtüberleben (siehe Abbildung 11).

Kreuzkorrelationen des Tumorrests mit anderen klinisch-pathologischen Faktoren

Die Tabelle 12 stellt eine Übersicht der Gegenüberstellung des Tumorrests mit anderen Parametern dar. Darin zeigt sich, dass von den 35 Patientinnen mit einem FIGO I- oder II-Stadium 32 Patientinnen einen R0 –Status postoperativ haben. Andererseits besteht nach der Operation bei den 59 Patientinnen mit einem FIGO Stadium III oder IV von denen 54 (91,5%) Patientinnen einen Tumorrest haben.

Tabelle 12 Statistisch signifikante Zusammenhänge mit dem Tumorrest

Charakteristika		kein Tumorrest	Tumorrest vorhanden	Gesamt	Chi ² -Test nach Pearson
FIGO	I	25	1	26	<i>p</i> < 0,001
	II	7	2	9	
	III	6	46	52	
	IV	2	5	7	
	Gesamt	40	54	94	
Art der Operation	Explorativ	1	1	2	<i>p</i> < 0,001
	BSO	3	2	5	
	TAH+BSO	6		6	
	TAH+BSO+OE	7	12	19	
	+PS		11	11	
	+Darm	6	15	21	
	+LNE	17	7	24	
	Debulk		6	6	
	Gesamt	40	54	94	
Histologie	Serös	17	39	56	<i>P</i> = 0,002
	Muzinös		1	1	
	Endometrioid	9	3	12	
	Klarzellig	8	2	10	
	Transitionalzellig		4	4	
	Undifferenziert	1	3	4	
	Gemischt	5	2	7	
	Gesamt	40	54	94	
Rezidiv	nein	15	4	19	<i>p</i> < 0,001
	ja	14	33	47	
Gesamt		29	37	66	

Abkürzungen vergleiche Seite 19.

Bei den histologischen Typen ist hervorzuheben, dass besonders die endometrioiden (9 von 12; 75%) und klarzellig (8 von 10; 80%) Tumoren im Gesunden entfernt wurden. Anders sieht es bei den serösen (17 von 56; 30%) und den transitionalzelligen (0 von 4) Karzinomen aus. Interessanterweise haben aber 52% der Patientinnen (15 von 29), die R0 reseziert waren ein Rezidiv bekommen, dem gegenüber stehen die Patientinnen mit verbliebenen Tumorrest, die zu 89% (33 von 37) an einem Rezidiv erkrankten.

4.1.4 Chemotherapie und Überleben

Von 104 Patientinnen liegen Informationen zur Chemotherapie vor. Vier Patientinnen erhielten keine Chemotherapie. Insgesamt gibt es acht verschiedene Therapiemöglichkeiten, wobei diese in die Gruppen „adäquate Chemotherapie“ und „nicht adäquate Chemotherapie“ eingeteilt werden. In die Gruppe „adäquate Chemotherapie“ mit 91 Patientinnen fallen die Kategorien:

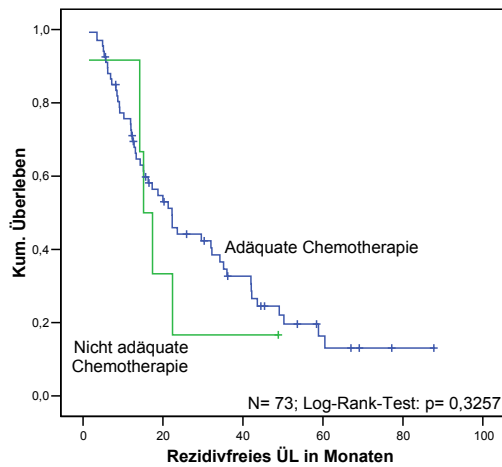
- Patientin erhielt mindestens 6 Zyklen Carboplatin und Taxol
- Patientin erhielt mindestens 6 Zyklen einer anderen platinhaltigen Chemotherapie
- Patientin erhielt mindestens 6 Zyklen einer Platin-Monotherapie
- Patientin hatte ein FIGO Ia Stadium und erhielt deshalb als „adäquate Therapie“ keine Chemotherapie

Der Gruppe „nicht adäquate Chemotherapie“, worunter 17 Patientinnen fallen, werden folgenden Patientinnen zugeordnet:

- Keine Angaben zur Chemotherapie dokumentiert
- Vor Antritt der Therapie verstorben
- Chemotherapie verweigert
- Andere, nicht platinhaltige Chemotherapie erhalten

Im progressfreien Überleben stellt sich hinsichtlich des Chemotherapiestatus („adäquat“ versus „nicht adäquat“) kein signifikanter Unterschied heraus (Log-Rank-Test: $p=0,3257$) Beim gesamten Überleben zeigt sich jedoch, wie wichtig eine adäquate adjuvante Chemotherapie ist (Log-Rank-Test: $p<0,0001$). So haben Patientinnen mit einer „inadäquaten“ Chemotherapie eine 5- Jahres- Überlebensrate von 15 %, währenddessen mehr als 50% der Patientinnen mit einer „adäquaten“ Chemotherapie mehr als 5 Jahre die Diagnose eines Ovarialkarzinoms überleben.

Progressfreies Überleben abhängig von der Chemotherapie



Gesamtüberleben abhängig von der Chemotherapie

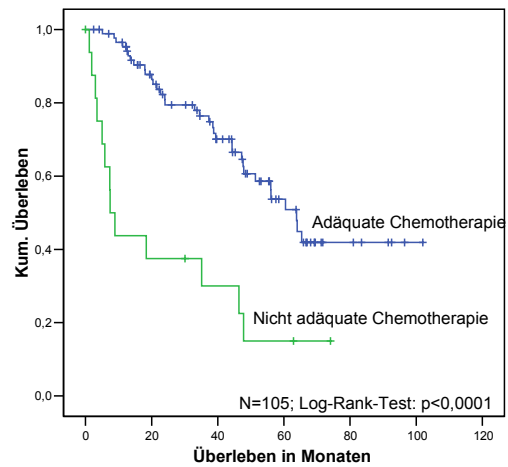


Abbildung 12 Überlebenskurven in Abhängigkeit von der adäquaten Chemotherapie

Kreuzkorrelationen der Chemotherapie mit anderen klinisch-pathologischen Faktoren

Wie oben beschrieben, stellt sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang nur mit dem Alter dar.

4.1.5 FIGO-Stadium und Überleben

Von allen Patientinnen wurde das FIGO- Stadium ermittelt.

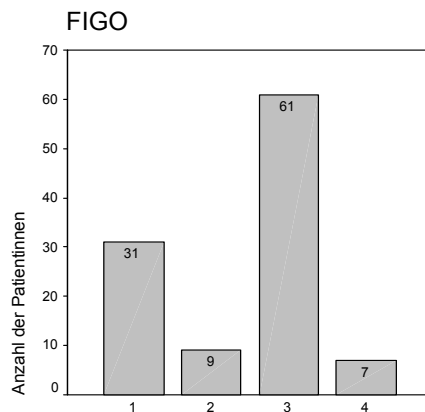
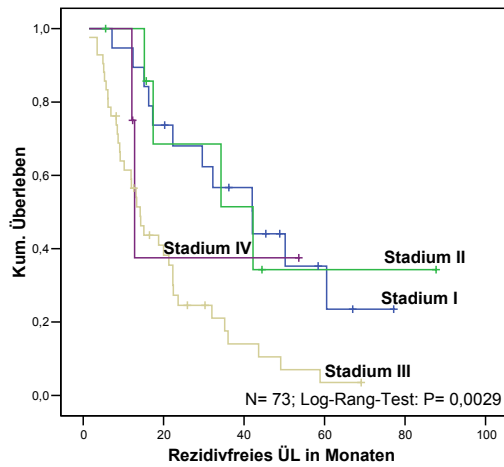


Abbildung 13 FIGO-Stadien(4 Gruppen)

Progressfreies Überleben abhängig vom FIGO-Stadium



Gesamtüberleben abhängig vom FIGO-Stadium

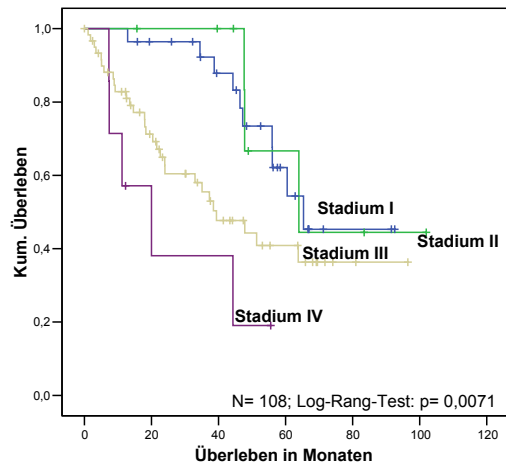
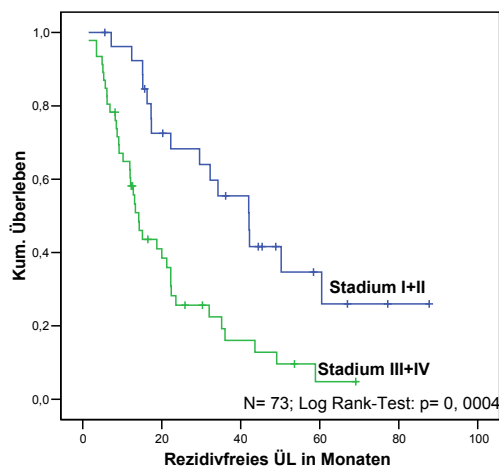


Abbildung 14 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium (4 Gruppen)

Die Graphen für das progressfreie und für das gesamte Überleben laufen parallel und überkreuzen sich mehrmals, auch wenn sich mit dem Log-Rank-Test: $p=0,0029$ bzw. $p=0,0071$ zeigt, dass die Kurven nicht übereinander liegen (siehe Abbildung 14), so kann man doch schwer eine Divergenz der Graphen der einzelnen FIGO-Stadien ausmachen. Das FIGO -Stadium ist daher aussagekräftiger, wenn man es zu zwei Gruppen zusammenfasst, das heißt, es entstehen die Gruppen „FIGO I & II“ und „FIGO III & IV“ (Abbildung 15).

Progressfreies Überleben abhängig vom FIGO-Stadium (gruppiert)



Gesamtüberleben abhängig vom FIGO-Stadium (gruppiert)

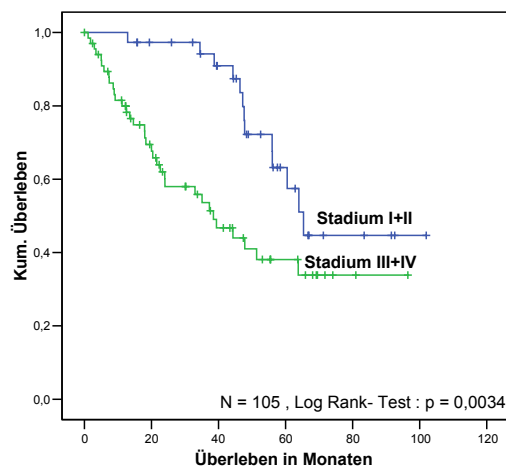


Abbildung 15 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom FIGO-Stadium (2 Gruppen)

Nun ist ein deutlicher Unterschied zu sehen zwischen niedrigen Stadien (I&II) und den höheren Stadien (III&IV), sowohl beim progressfreien also auch beim Gesamtüberleben. Es stellt sich ein signifikanter Überlebensvorteil für „FIGO I&II“ gegenüber dem Stadium „FIGO III&IV“ dar, sowohl für den Progress (Log Rank-Test: $p= 0,0004$) als auch für den Tod (Log Rank-Test: $p= 0,0034$) als Endpunkt (Abbildung 15).

Kreuzkorrelationen des FIGO-Stadiums mit anderen klinisch-pathologischen Faktoren

Das Grading nach Silverberg ist mit dem 4 -schichtigen FIGO-Stadium statistisch assoziiert (Chi²-Test nach Pearson: $p= 0,011$; Tabelle 13).

Tabelle 13 Statistisch signifikante Zusammenhänge der FIGO-Stadien (4 Gruppen)

	FIGO				Gesamt	Chi ² -Test nach Pearson:
	I	II	III	IV		
Silverberg-grading						
1	15	5	9	1	30	$p= 0,011$
2	10	3	28	3	44	
3	6	1	24	3	34	
Gesamt	31	9	61	7	108	

Wie in Tabelle 14 zu sehen ist, gibt es mit 7 klinisch-pathologischen Parametern statistisch signifikante Zusammenhänge. Ältere Patientinnen haben zu meist „FIGO III& IV“ (35 von 58; 60%; Chi-Quadrat-Test: $p=0,0321$). Von den 25 Patientinnen die einen Aszites haben, sind 21 Frauen der Gruppe „FIGO III& IV“zugehörig, somit ist zu sehen, dass Aszites fast immer mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium assoziiert ist (Chi-Quadrat-Test: $p=0,031$).

Weiterhin haben die Erkrankten mit „FIGO III & IV“ weit häufiger (51 von 59; 86%) einen postoperativen Tumorrest. Im Gegensatz zu den Frauen aus der Gruppe FIGO I&II, bei denen lediglich 8,6% (3 von 35) einen Tumorrest nach der Operation haben. Auch bei der Beurteilung des Zusammenhangs adäquate Chemotherapie und inadäquate Chemotherapie fällt auf, dass 14 der 17 Patientinnen (82,4%), die nicht mit einer regelrechten Chemotherapie versorgt wurden der Gruppe „FIGO III&IV“ angehören.

Auch die Zweiergruppierung des FIGO-Stadiums zeigt eine starke Assoziation mit dem Grading nach Silverberg, so dass wie zu erwarten, gering differenzierte Karzinome meist ein fortgeschrittenes FIGO Stadium haben.

Tabelle 14 Statistisch signifikante Zusammenhänge der FIGO-Stadien (2 Gruppen)

Charakteristik		FIGO I & II	FIGO III & IV	Alle Fälle	Chi ² -Test nach Pearson:
Alter bei Diagnose	< 64 Jahre	32	18	50	P=0,0321
	=> 64 Jahre	23	35	58	
	Gesamt:	55	53	108	
Präop. Aszites	Nein	11	14	25	P=0,031
	Ja	4	21	25	
	Gesamt	15	35	50	
Tumorrest	kein Rest	32	8	40	P<0,001
	< 1cm	2	18	20	
	=> 1cm	1	33	34	
	Gesamt:	35	59	94	
Adäquate Chemotherapie	Ja	52	39	91	P= 0,035
	Nein	3	14	17	
	Gesamt:	55	53	108	
Silverberg	1	20	10	30	P<0,001
	2	13	31	44	
	3	7	27	34	
	Gesamt	40	68	108	

4.1.6 Grading nach Silverberg

In Abbildung 16 kommt die Verteilung der Tumoren in die einzelnen Grade 1-3 nach Silverberg mit einem Schwerpunkt bei Grad 2 zur Darstellung. Es wurden die einzelnen Komponenten, aus denen sich das Grading zusammensetzt (Tabelle 10), getrennt betrachtet (siehe Abbildungen 18 bis 21). Hier zeigt nur die Tumorarchitektur einen statistisch signifikanten Zusammenhang für das progressfreie Überleben und das Gesamtüberleben (Log-Rank-Test: $p=0,0051$ bzw. $p= 0,0274$; Abbildung 19). Die Mitoserate hat einen Einfluss auf das Gesamtüberleben (Log-Rank-Test: $p=0,0054$). Aber in Kombination der drei Faktoren als Grading nach Silverberg war die Überlebensanalyse für das progressfreie Überleben und das gesamte Überleben hochsignifikant (Abbildung 17). Das mediane rezidivfreie Überleben bei Patientinnen mit einem Tumor Grad 1 beträgt ca. 43 Monate und mit Grad 3 weniger als 20 Monate. Das mediane Gesamtüberleben mit Grad 1 ist länger als die Beobachtungszeit von 112 Monaten. Die Frauen mit Grad 2 überleben im Median 58 Monate und mit Grad 3-Tumoren 40 Monate.

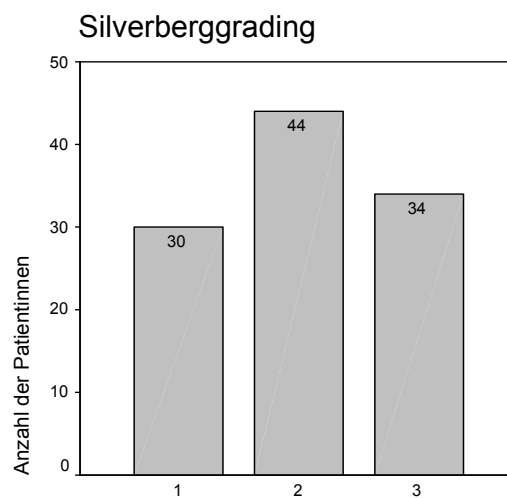
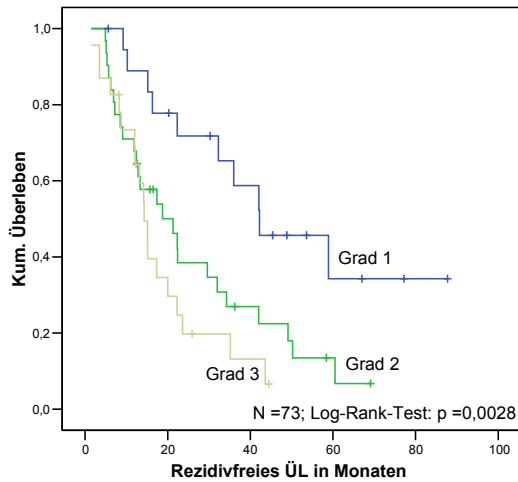


Abbildung 16 Grading nach Silverberg

Progressives Überleben abhängig vom Silberberggrading



Gesamtüberleben abhängig vom Silberberggrading

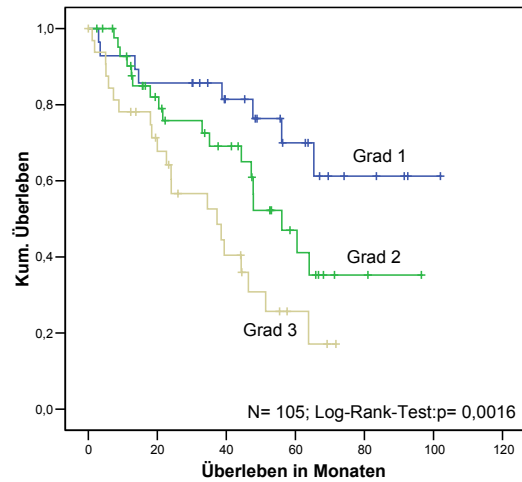


Abbildung 17 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Grad nach Silverberg

Tumearchitektur

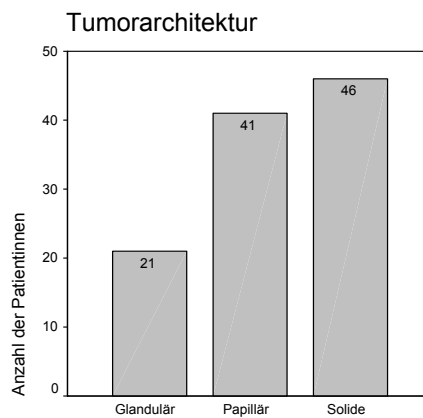
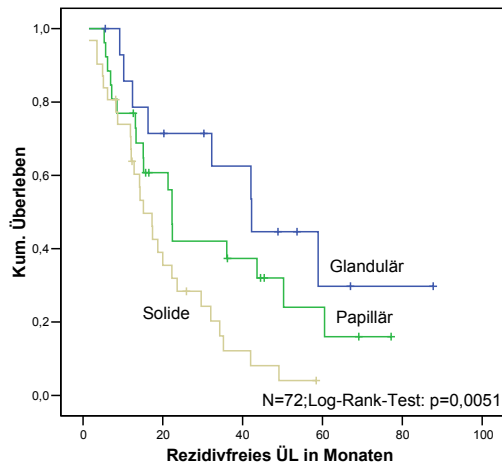


Abbildung 18 Tumorarchitektur

50 % der Patientinnen mit soliden Tumoren erleiden ein Rezidiv innerhalb der ersten 20 Monate und versterben nach 43 Monaten ab Diagnosestellung. Patientinnen mit glandulärem Karzinom erkranken im Mittel erst nach 42 Monaten an einem Rezidiv und überleben länger als die Beobachtungszeit ist. Frauen mit papillären Tumoren leben hinsichtlich ihres medianen rezidivfreien Überlebens nur 2 Monaten länger als die mit soliden Tumoren. Sie haben aber ein deutlich besseres medianes Gesamtüberleben mit 61 Monaten.

Progressivfreies Überleben abhängig von der Tumorarchitektur



Gesamtüberleben abhängig von der Tumorarchitektur

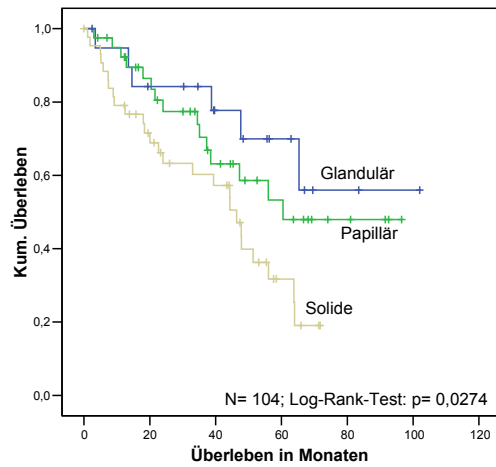


Abbildung 19 Überlebenskurven in Abhängigkeit von der Tumorarchitektur

Kernpleomorphie

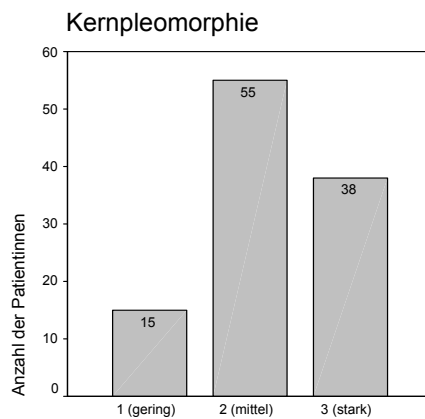
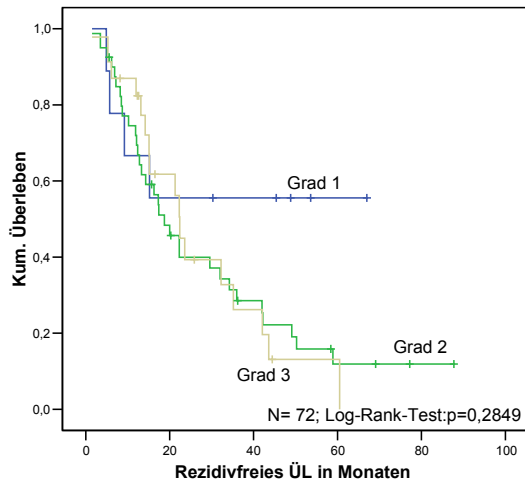


Abbildung 20 Kernpleomorphie

So eindeutige Unterschiede des Überlebens sind bei der Kernpleomorphie nicht darzustellen (Log-Rank-Test: $p=0,2489$ b.z.w. $p=0,0772$). Trotzdem ist zu sehen, dass Patientinnen mit niedriger Kernpleomorphie ein besseres rezidivfreies und Gesamtüberleben haben als Patientinnen mit einer höhergradigen Kernpleomorphie.

Progressfreies Überleben abhängig von der Kernpleomorphie



Gesamtüberleben abhängig von der Kernpleomorphie

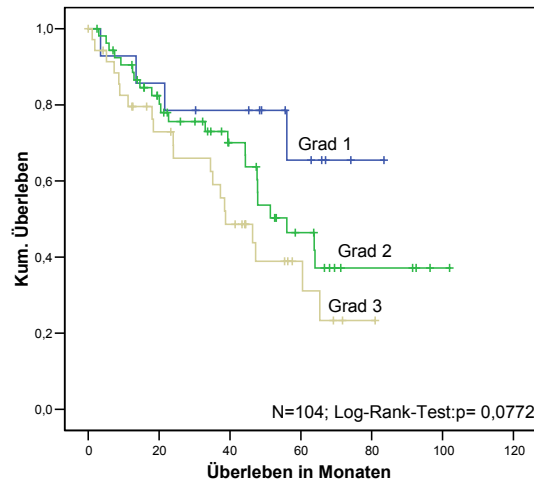


Abbildung 21 Überlebenskurven in Abhängigkeit von der Kernpleomorphie

Mitosegrading

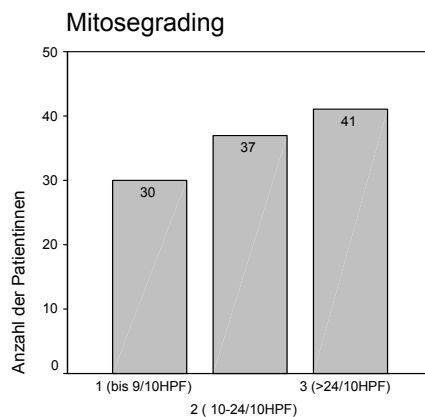


Abbildung 22 Mitosegrading

Beim Mitosegrading sieht man, dass Patientinnen mit weniger als 9 Mitosen/10HPF länger ohne Progress überleben und auch eine längere gesamte Überlebenszeit haben als Frauen mit Mitosegrad 2 oder 3. Signifikant ist das aber nur für das Gesamtüberleben (Log-Rank-Test: $p=0,0925$ bzw. $p=0,0054$).

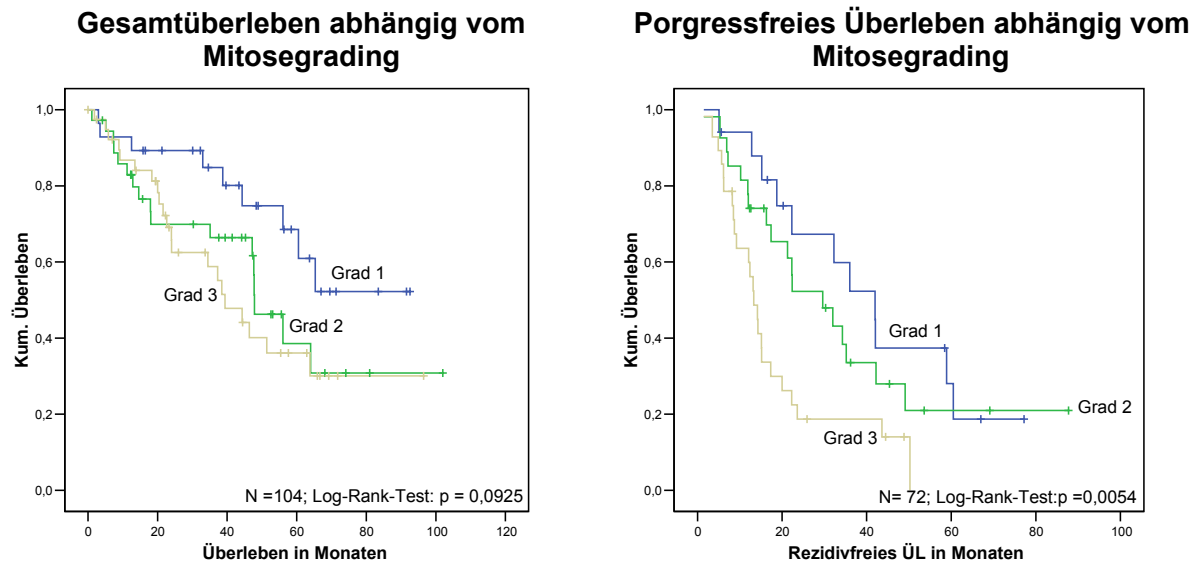


Abbildung 23 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Mitosegrading

Korrelationen des Gradings nach Silverberg mit verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern

Tabelle 15 Statistisch signifikanter Zusammenhang von dem histologischen Typ mit dem Grading nach Silverberg

		Silverberg-Grading			Gesamt	Chi ² -Test nach Pearson
		1	2	3		
Histologie	Serös	10	31	21	62	<i>p</i> < 0,001
	Muzinös	2			2	
	Endometrioid	10	3		13	
	Klarzellig	7	3		10	
	Transitionalzellig			4	4	
	Undifferenziert			7	7	
	Gemischt	1	7	2	10	
Gesamt		30	44	34	108	

Bei der Kreuzkorrelation des Gradings nach Silverbergs mit anderen Faktoren stellten sich ein Zusammenhang mit dem FIGO-Stadium I-IV (Tabelle 13; Chi²-Tes nach Pearsons: $p=0,011$) und in zwei Gruppen I&II u. III&IV (Tabelle 14: Chi²-Test nach Pearson: $p<0,001$) heraus. Weiterhin konnte ein Zusammenhang zwischen histologischem Typ und dem Grading nach Silverberg dargestellt werden (siehe Tabelle 15). Nur 30 von 108 (28%) sind als gut differenziert eingestuft, dem gegenüber stehen die mäßig- bis schlecht differenzierten mit 78 von 108 Fällen (72%). Muzinöse, endometrioiden und klarzellige Tumoren sind vorwiegend gut differenziert. Seröse, transitionalzellige und gemischtzellige Tumortypen müssen vor allem als mäßig- bzw. schlecht differenziert eingestuft werden. Undifferenzierte Tumoren sind per definitionem G3- Karzinome.

4.1.7 Histologie und Überleben

Die Abbildung 24 zeigt eine Übersicht zur Verteilung der histologischen Typen der Ovarialkarzinome innerhalb des Kollektives. Die Diagnose „serös“ ist bei 57,4% (62/108) der Patientinnen gestellt, danach folgen endometrioiden und klarzellige Tumoren. 6 der gemischten Tumoren bestehen aus einer serösen Komponente wovon 4 klarzellige Anteile und 2 endometrioiden Anteile besitzen. 4 gemischte Karzinome haben klarzellige und endometrioiden Anteilen.

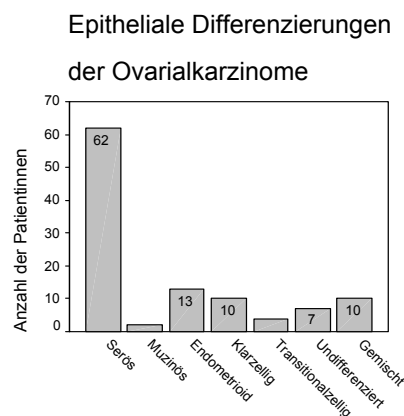
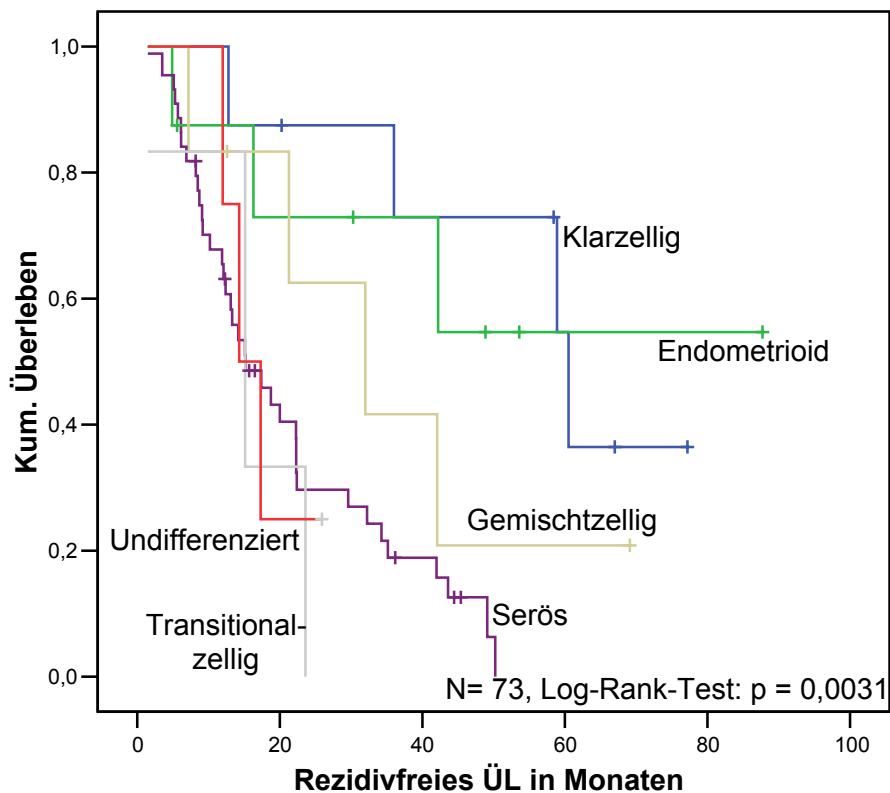


Abbildung 24 Histologische Typen

Das progressfreie Überleben (Abbildung 25) mit dem Log-Rank-Test: $p = 0,0031$ zeigt, dass es statistisch signifikant ist, dass die Überlebenskurven der einzelnen Tumortypen nicht deckungsgleich sind und es somit Unterschiede zwischen den verschiedenen

Progressfreies Überleben abhängig von der Histologie



N= 73, Log-Rank-Test: $p = 0,0031$

Abbildung 25 Überlebenskurve des progressfreien Überlebens in Abhängigkeit vom histologischen Typ

histologischen Typen gibt. Den besten progressfreien Verlauf hat in unserem Kollektiv das endometrioides und den schlechtesten das transitionalzellige Ovarialkarzinom. Zu den beiden muzinösen Karzinomen lagen keine Daten zum Rezidiv vor, weshalb sie auch nicht in der Grafik des progressfreien Überlebens erscheinen. Auch beim Gesamtüberleben kann nur von einer statistisch signifikanten Tendenz (Log-Rank-Test: $p = 0,0017$), eines nicht parallelen Verlaufs der Kurven der einzelnen Tumorentitäten gesprochen werden. Auch hier hat das endometrioides Karzinom den besten Verlauf. Die muzinösen, gefolgt von den undifferenzierten und serösen Tumoren haben die schlechtesten Überlebensdaten.

Gesamtüberleben abhängig von der Histologie

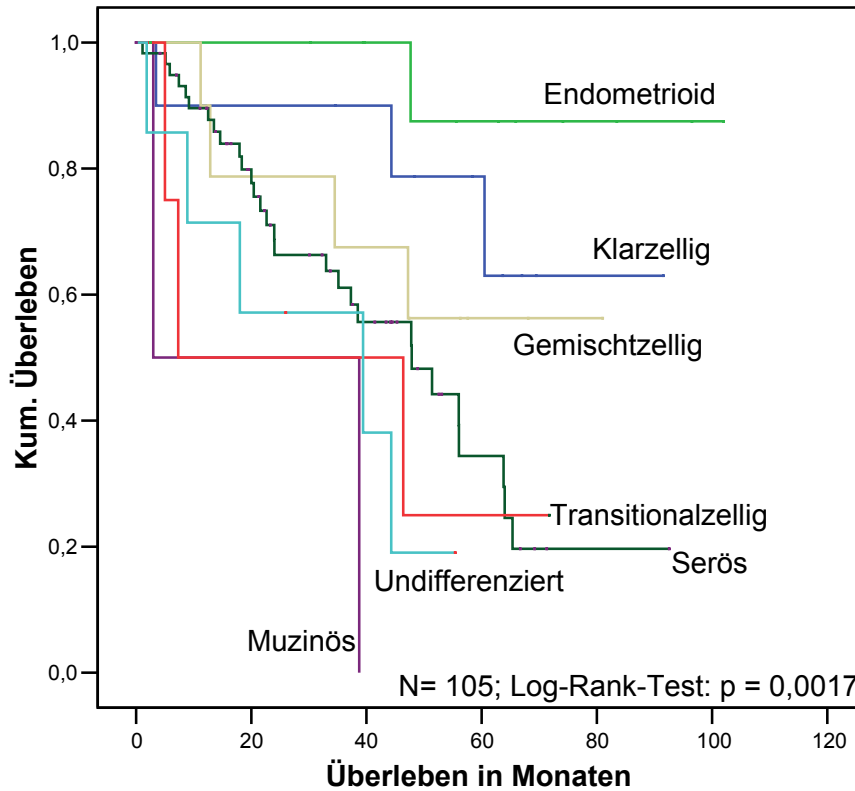


Abbildung 26 Überlebenskurve für das Gesamtüberleben in Abhängigkeit vom histologischen Typ

4.1.8 Lymphknotenstatus

Bei nur 36 Patientinnen wurde eine Lymphonodektomie durchgeführt. Dabei wurden bei 15 (41,7%) Lymphknotenmetastasen festgestellt. Die beiden Überlebensanalysen zeigen keinen signifikanten Unterschied für Frauen mit oder ohne Lymphknotenmetastasen (Log-Rank-Test: $p = 0,2647$ bzw. $p = 0,2408$).

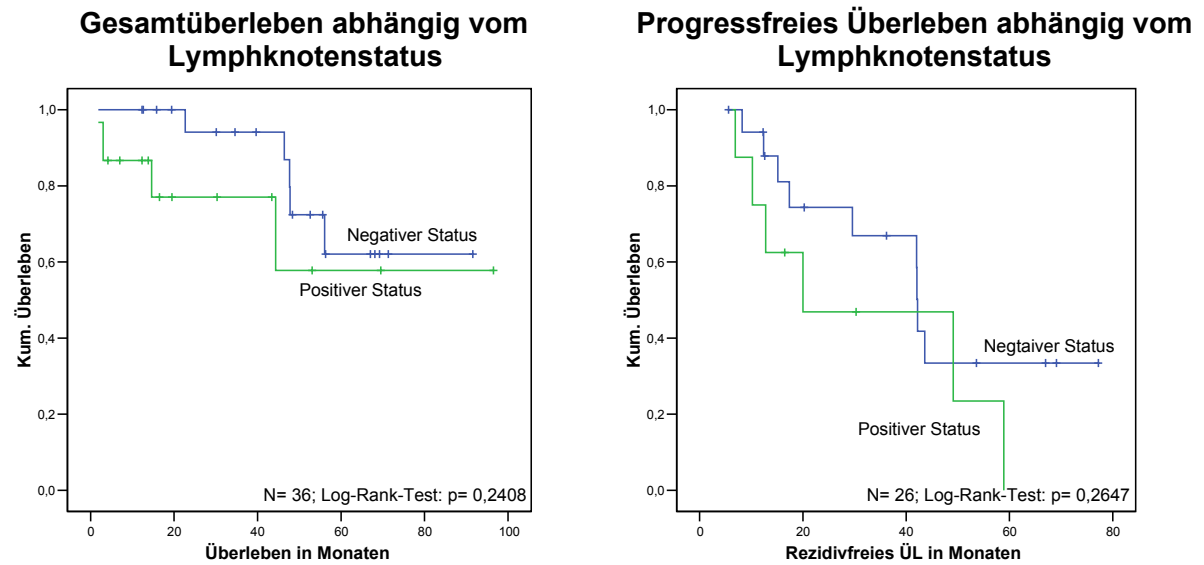
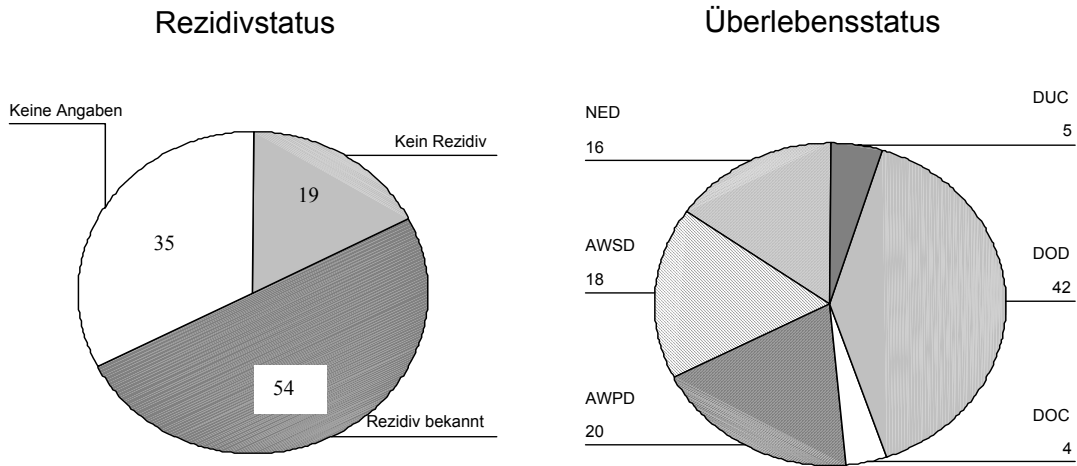


Abbildung 27 Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus

4.1.9 Rezidiv- und Überlebensstatus

Für 73 Patientinnen gibt es Informationen über den Rezidivstatus und für 105 Frauen sind Aussagen zum Überleben zu belegen (Abbildung 28). Das heißt, 5 Frauen sind nicht sicher am Ovarialkarzinom verstorben (DUC), 42 Patientinnen erlagen ihrem Tumorleiden (DOD), 4 Frauen verstarben nicht an ihrem Tumor, sondern an anderen Ursachen. Patientinnen, die am Beobachtungsende am Leben waren, wurden unterteilt in die Gruppen: mit fortgeschreitender Krankheit lebend (AWPD; 20 Patientinnen), stabiler Krankheitszustand (AWSO; 18 Patientinnen) und kein Nachweis des Tumorleidens mehr (NED; 16 Patientinnen).



N= 105;

Abkürzungen: **DUC**: Dead of Uncertain Cause; **DOD**: Dead Of Disease; **DOC**: Dead of Other Cause; **AWPD**: Alive With Progress Disease; **AWSD**: Alive With Stabil Disease; **NED**: No Evidence of Disease
Einteilung nach Bell et al ⁶

Abbildung 28 Übersichten für den Rezidiv- und den Überlebensstatus

4.2 Ezrin

Als „Ezrin-positiv“ (> 10% der Tumorzellen angefärbt) sind 53 der Fälle und 55 Fälle als „Ezrin-negativ“ (<10% der Tumorzellen angefärbt) zu diagnostizieren.

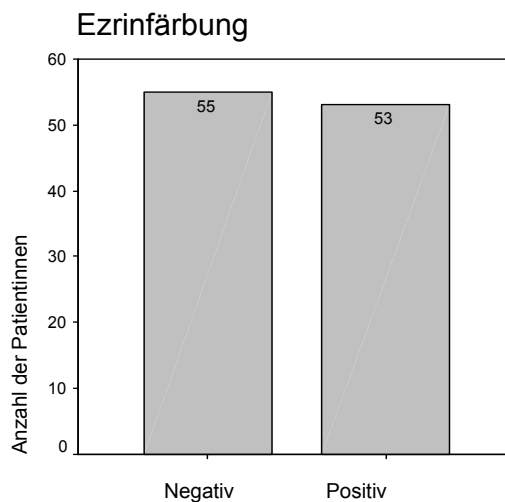


Abbildung 29 Ezrinexpression

Für das progressfreie Überleben zeigt sich, dass es keine statistisch signifikante Relevanz hat, ob der Tumor für Ezrin exprimiert oder nicht (Log-Rank-Test: $p= 0,3097$). Für das Gesamtüberleben ist ein negativer Ezrinstatus günstiger als ein positiver (Log-Rank-Test: $p= 0,0123$). Das mediane Überleben der Patientinnen mit Ezrin-positiven Karzinomen liegt bei 46 Monaten und das der Ezrin-negativen bei 67 Monaten.

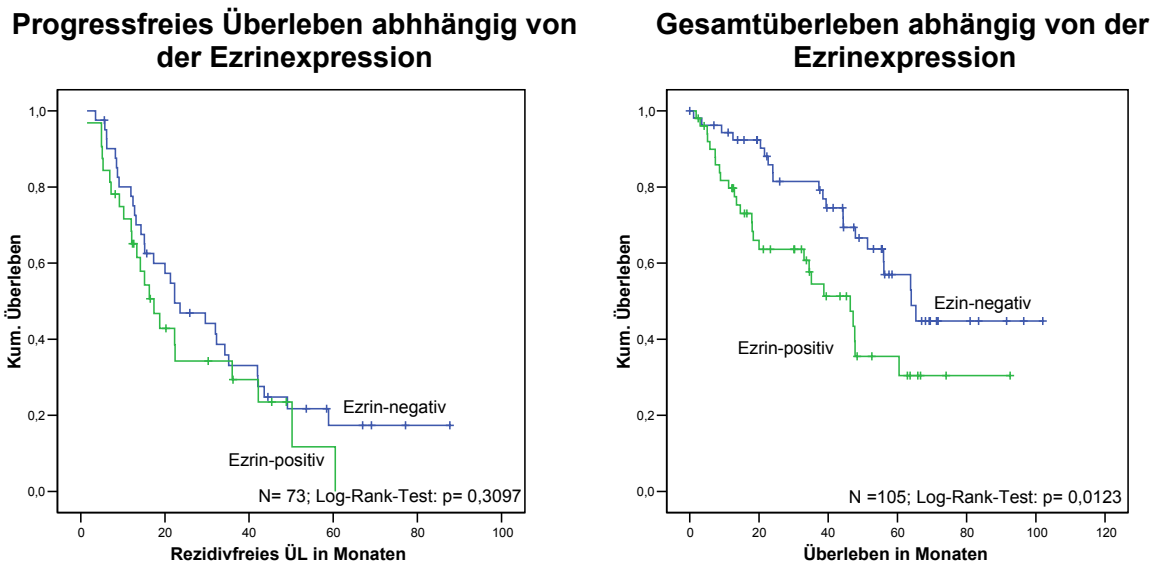


Abbildung 30 Überlebenskurven in Abhängigkeit von der Ezrinexpression

4.2.1 Färbeverhalten

Das zelluläre Expressionsmuster von Ezrin bei den Ovarialkarzinomen zeigt ein vielseitiges Bild. 11mal (10% der Tumoren) wird Ezrin nur an den apikalen Strukturen der Tumorzellen exprimiert. Bei den meisten Tumoren (48%, 52 von 108 Tumoren) kommt Ezrin ausschließlich zytoplasmatisch zur Darstellung. Bei 19 (18%) Tumoren ist Ezrin heterogen exprimiert, das heißt sowohl im Zytoplasma und als auch apikal (fleckig). 26 Fälle (24%) immunhistologisch Ezrin-negativ. Für das Überleben scheint es unerheblich, welches zelluläre Expressionsmuster der einzelne Tumor hat (progressfreies Überleben: Log-Rank-Test: $p= 0,1640$ und Gesamtüberleben: Log-Rank-Test: $p= 0,1702$).

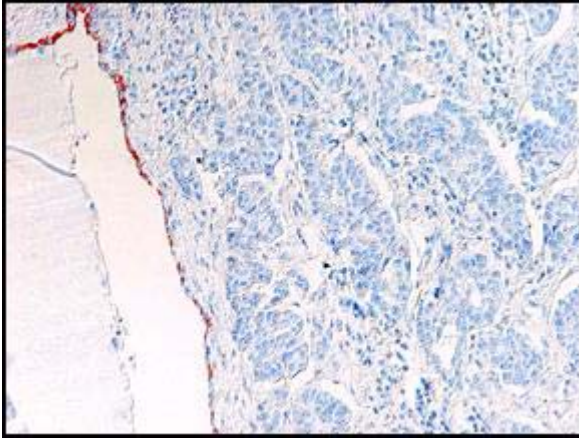


Bild 1 Seröses Ovarialkarzinom, keine Ezrin-Expression (vorbestehendes ovarielles Oberflächenepithel als endogene Positivkontrolle, Originalvergrößerung 400fach)

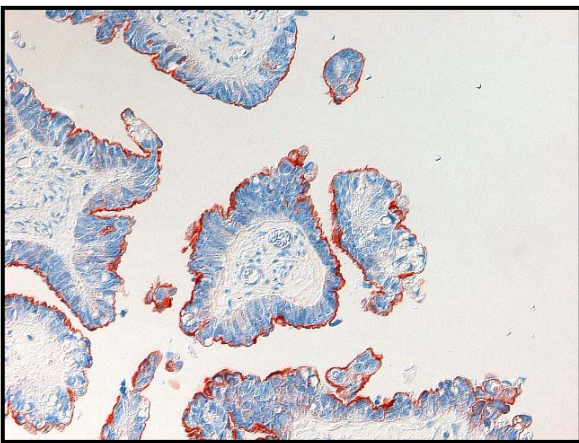


Bild 2 Apikale Expression von Ezrin in einem ovariellen Karzinom vom serösen Typ, „low-grade“ (Originalvergrößerung 400fach)

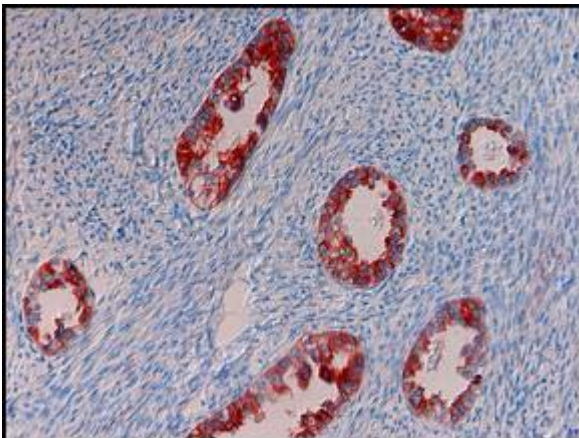


Bild 3 Zytoplasmatische Ezrin-Expression in einem serösen Karzinom (Originalvergrößerung jeweils 400fach)

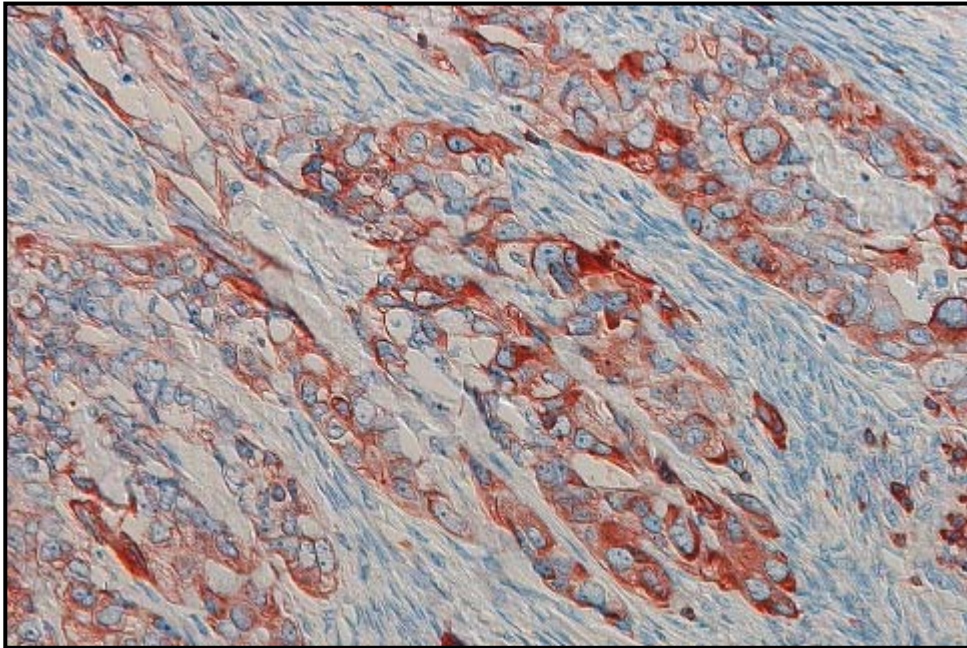


Bild 4
Vorwiegend
zytoplasmatische
Markierung
des Ezrins in
einem
serösen
Ovarialkarzinom
(Originalver-
größerung
600fach)

4.2.2 Korrelationen von Ezrin mit verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern

Die Expression von Ezrin korreliert mit dem Alter der Patientinnen. Die „jungen“ Patientinnen haben zu 64% (32/50) einen negativen Ezrinstatus, währenddessen die „älteren“ Frauen zu 40% (23/58) Ezrin negative Karzinome haben.

Tabelle 16 Statistisch signifikante Zusammenhänge mit der Ezrinexpression

Charakteristika		Ezrin negativ	Ezrin positiv	Alle Fälle	Chi ² - Test nach Pearson
Alter bei Diagnose	< 64 Jahre	32	18	50	0,012
	=> 64 Jahre	23	35	58	
	Gesamt	55	53	108	

Die nicht signifikanten Zusammenhänge sind in Tabelle 17 aufgelistet. Hier ist darauf hinzuweisen, dass der „Ezrin-Status“ weder mit dem FIGO-Stadium (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,155$), noch mit dem Grading nach Silverberg (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,459$) oder noch mit dem histologischen Typ (Chi²-Test nach Pearson: $p=0,572$) zusammenhängt.

Tabelle 17 Statistisch nicht signifikante Zusammenhänge mit der Ezrinexpression

Charakteristika		Ezrin negativ	Ezrin positiv	Alle Fälle	Chi²- Test nach Pearson
Präop. Aszites	Nein	12	13	25	$p=1,0$
	Ja	12	13	25	
	Gesamt	24	26	50	
Tumorrest	kein Rest	23	17	40	$p=0,564$
	< 1cm	12	8	20	
	=> 1cm	16	18	34	
	Gesamt	28	26	54	
FIGO-Stadium	I	13	18	31	$p=0,155$
	II	7	2	9	
	III	33	28	61	
	IV	2	5	7	
	Gesamt	55	53	108	
Silverberg-Grading	1	13	17	30	$p=0,459$
	2	22	22	44	
	3	20	14	34	
	Gesamt	55	53	108	
Histologie	Serös	34	28	62	$p=0,572$
	Muzinös	0	2	2	
	Endometrioid	5	8	13	
	Klarzellig	6	4	10	
	Transitionalzellig	1	3	4	
	Undifferenziert	4	3	7	
	Gemischt	5	5	10	
	Gesamt	55	53	108	

4.3 Moesin

52 Tumoren sind „Moesin-positiv“ und 56 der Fälle „Moesin-negativ“, das heißt bei 52 Tumorpräparaten sind mehr als 10% markiert und bei 56 Präparaten sind weniger als 10% der Tumorzellen durch Moesin markiert. Für das progressfreien Überleben (Log-Rank-Test: $p = 0,0172$) und für das Gesamtüberleben (Log-Rank-Test: $p = 0,0255$) ist die Expression von Moesin von Bedeutung. So haben Patientinnen ohne Moesinexpression ein medianes progressfreies Überleben von 32 Monaten und ein medianes Gesamtüberleben von 55 Monaten.

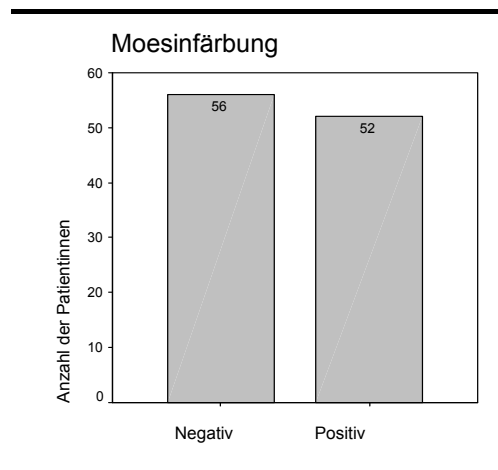


Abbildung 31 Moesinexpression

Dem gegenüber stehen die Patientinnen, deren Tumor Moesin exprimiert, mit einem medianen progressfreiem Überleben von 18 Monaten und dem medianen Gesamtüberleben von 48 Monaten.

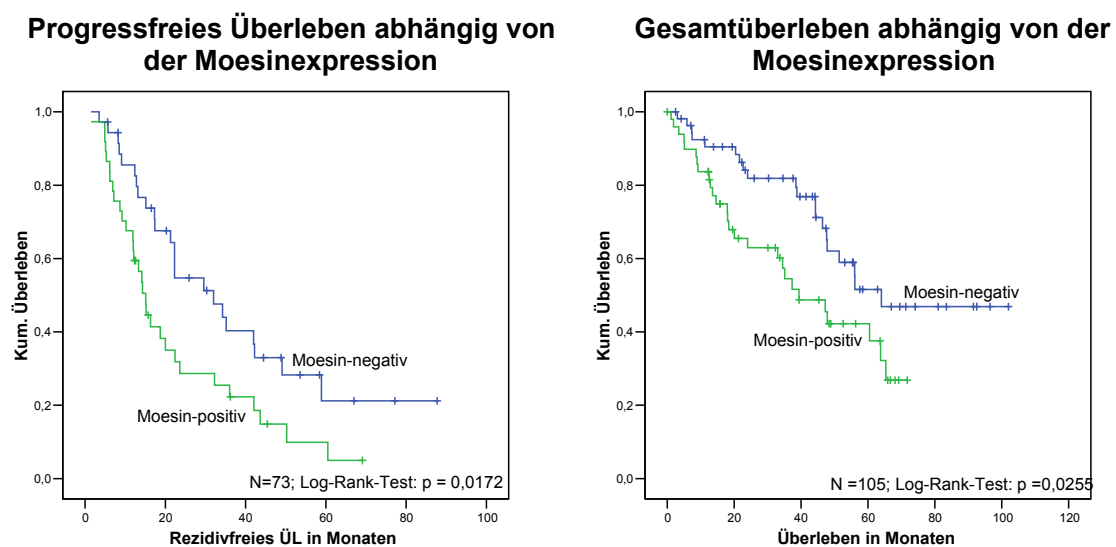


Abbildung 32 Überlebenskurven in Abhängigkeit von der Moesinexpression

4.3.1 Färbeverhalten

Auch beim Moesin sind unterschiedliche Muster der zellulären Expression in den Tumoren zu sehen (Bilder 5-8). Es zeigt sich, dass das Protein vorrangig zytoplasmatisch (40%; 43 von 108 Tumoren) zur Darstellung kommt. Bei 17 Ovarialkarzinomen (16%) war keine Moesinmarkierung sichtbar. Bei 29 (27%) der Tumore kam Moesin apikal und bei 19 (17%) kam Moesin fleckig zur Darstellung. Für die beiden Überlebensstatistiken stellt sich aber heraus, dass das Färbemuster unerheblich ist (progressfreies Überleben: Log-Rank-Test: $p=0,1240$ und Gesamtüberleben Log-Rank-Test: $p=0,2034$).

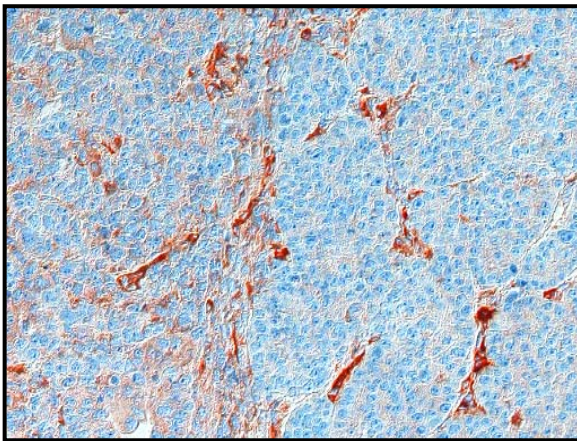


Bild 5 Fehlende Moesinmarkierung in den Tumorzellen eines undifferenzierten Ovarialkarzinoms (interne Positivkontrolle: Moesinexpression der Endothelien, Originalvergrößerung 400fach).

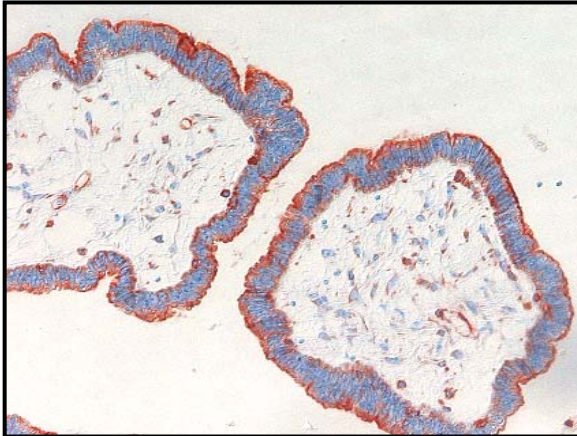


Bild 6 Apikale Moesinexpression bei einem serösen Karzinom (Endothel positiv, Originalvergrößerung 400fach).

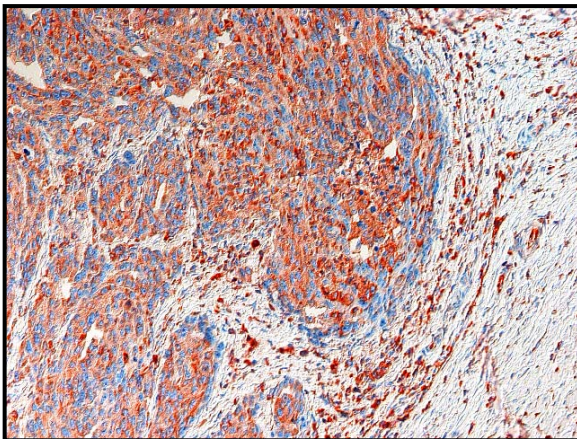


Bild 7 Moesinexpression diffus zytoplasmatisch in soliden Tumorzellformationen eines serösen Ovarialkarzinoms (tumorassoziierte Lymphozyten Ezrin positiv; Originalvergrößerung 400fach)

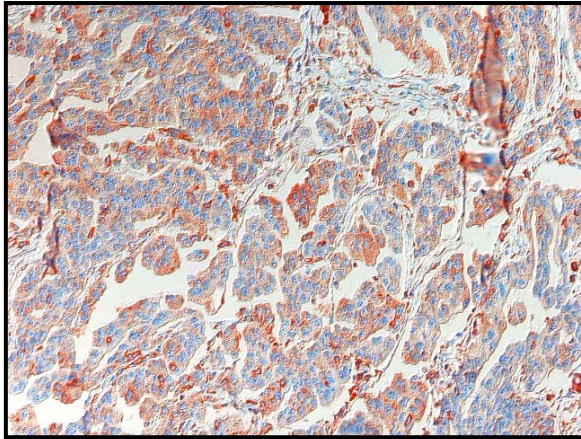


Bild 8 Papilläre Formationen eines serösen Tumors mit heterogener Detektion von Moesin sowohl zytoplasmatisch als auch apikal (Originalvergrößerung 400fach)

4.3.2 Korrelationen von Moesin mit verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern

Es können keine Zusammenhänge zu Alter, präoperativem Aszites, Tumorrest, Grading nach Silverberg, FIGO-Stadium und Histologie hergestellt werden (Tabelle 18).

Tabelle 18 Statistisch nicht signifikante Zusammenhänge

Charakteristika		Moesin negativ	Moesin positiv	Alle Fälle	Chi-Quadrat-Test nach Pearson :
Alter bei Diagnose	< 64 Jahre	26	24	50	0,977
	=> 64 Jahre	30	28	58	
Präop. Aszites	Nein	13	12	25	0,571
	Ja	11	14	25	
Tumorrest	kein Rest	24	16	40	0,213
	< 1cm	12	8	20	
	=> 1cm	14	20	34	

FIGO- Stadium	I	16	15	31	0,225
	II	7	2	9	
	III	28	33	61	
	IV	5	2	7	
Silverberg- Grading	1	17	13	30	0,543
	2	24	20	44	
	3	15	19	34	
Histologie	Serös	28	34	62	0,142
	Muzinös	2		2	
	Endometrioid	11	2	13	
	Klarzellig	6	4	10	
	Transitionalzellig	2	2	4	
	Undifferenziert	3	4	7	
	Gemischt	4	6	10	
Gesamt	56	52	108		

(Tabellenkopf siehe Seite 49, Tabelle 18)

4.4 Multivariate Analyse des Gesamtüberlebens

Um die Unabhängigkeit der Faktoren untereinander zu überprüfen, wird die multivariate Analyse der Cox-Regression getrennt für Ezrin und Moesin genutzt (Tabelle 19). Dabei stellt sich heraus, dass es signifikante Unterschiede für die Merkmale: 1. Tumorrest vorhanden versus nicht vorhanden ($p= 0,010$), 2. Ezrin -positiv versus -negativ ($p= 0,012$) und 3. der histologischen Unterscheidung serös versus nicht serös ($0,042$) gibt. Einschränkend muß darauf hingewiesen werden, dass der Aszites und der Nodalstatus in der multivariaten Analyse aufgrund ihrer geringen Anzahl nicht verwertet werden können. Für Moesin fand sich kein statistisch signifikantes Modell.

Tabelle 19 Multivariates Cox-proportional-hazard-regression-model, N=95

		Relatives Risiko	Konfidenzintervall 95%	p-Wert
<i>Tumorrest</i>	nein	1.00		
	ja	4.21	1.40 - 12.66	0.010
<i>Ezrinexpression</i>	negativ	1.00		
	positiv	2.39	1.21 - 4.74	0.012
<i>Histologie</i>	nicht-serös	1.00		
	serös	2.37	1.03 - 5.47	0.042
	undifferenziert	1.90	0.38 - 9.51	0.433
<i>FIGO-Stadium</i>	I /II	1.00		
	III/IV	1.47	0.50 - 4.35	0.480
<i>Silverberg Grad</i>	G1	1.00		
	G2/G3	1.10	0.45 - 2.81	0.834

5 Diskussion

In dieser Arbeit wurde die Expression zweier Vertreter der ERM-Proteinfamilie, Ezrin und Moesin in einem gut charakterisierten Kollektiv von 108 Patientinnen mit Ovarialkarzinomen untersucht. Es zeigte sich, dass das vermehrte Auftreten dieser submembranalen Adaptorproteine eine Korrelation mit dem Gesamtüberleben der Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom hat. Die Expression von Ezrin ist sogar als unabhängiger Prognosefaktor zu betrachten.

Zusätzlich bestätigte sich, dass der Tumorstadium der entscheidende Prognosefaktor beim Ovarialkarzinom ist, wobei es kaum eine Rolle spielt, wie groß der verbliebene Rest postoperativ ist. Nur allein die Tatsache eines vorhandenen Rests ist maßgebend für das weitere Überleben.

5.1 Das Patientenkollektiv

Gewebeproben und die klinische Daten von 108 Patientinnen, welche in den Jahren 1996 bis 2004 operiert wurden, standen für diese Studie zur Verfügung. Der Altersmedian der Patientinnen lag bei 64 Jahren, was auch mit der Literatur im Einklang ist^{8,39,39}. Natürlich spielt das Alter schon auf Grund der erhöhten Komorbidität und der schlechteren Verträglichkeit einer Chemotherapie, welche auch in höherem Alter signifikant weniger verordnet wurde (Chi²- Test nach Pearson: $p= 0,015$), eine Rolle für das Überleben, welches jedoch in dem vorliegenden Kollektiv nur als nicht signifikanter Trend auszumachen war (progressfreies Überleben Log-Rank-Test: $p= 0,0611$ und Gesamtüberleben Log-Rank-Test: $p= 0,0573$).

Die Gruppe der malignen epithelialen Oberflächentumoren des Ovars wird in folgende histologische Typen unterteilt: serös, klarzellig, muzinös, endometrioid, transitionalzellig, gemischt und undifferenziert. Den größten Anteil davon stellen die serösen Karzinome mit 57% (62 von 108), dann folgen die endometrioden mit 12% (13 von 108). Die klarzelligen und die gemischten machen jeweils 9% (10 von 108) der Tumoren aus. 6% (7 von 108) der Neubildungen sind undifferenziert, 4% (4 von 108) sind transitionalzellig und nur 2% (2 von 108) sind muzinös. Die Rangordnung der Tumoren nach ihrer Anzahl ist so auch im Allgemeinen etabliert, nur das muzinöse Ovarialkarzinom fällt hier heraus. In einigen Arbeiten ist das muzinöse Karzinom um ein mehrfaches häufiger als in diesem Kollektiv³⁹, wohingegen Seidman et al.⁷⁸ auch nur 2% muzinöse Tumoren in ihrem Kollektiv haben.

Die höhere Zahl muzinöser Karzinome in älteren Studien ist auf die Schwierigkeit der Abgrenzung zu ovariellen Metastasen zurückzuführen, was sich in neuerer Zeit durch den Einsatz der Immunhistologie immer besser gelingt. So wurden auch im vorliegenden Kollektiv durch den Einsatz der Immunhistologie, sowie durch die klinische Verlaufsbeobachtung von den vormals 11 muzinösen Karzinomen 6 als Metastasen mit Primum im Gastrointestinaltrakt reklassifiziert. Dieses Problem wurde auch in der Literatur aufgegriffen. Seidman et al.⁷⁸ meinten auch, dass etwa 77% Prozent der muzinösen Malignome des Ovars eigentlich extraovarielle Karzinome sind. Das bedeutet, dass die höheren Zahlen muzinöser Karzinome in älteren Studien durch fehldiagnostizierte Metastasen bedingt sind. Die zwei vorliegenden muzinösen Karzinome erlauben als Einzelfälle keinen Rückschluss auf die Prognose dieses histologischen Typs (ein Todesfall nach 39 Monaten). In einer aktuelleren Studie wird die 10-Jahresüberlebensrate muzinöser Karzinome mit 66% angegeben⁶⁴.

Eine schlechte Prognose (34% 5-Jahres-Gesamtüberlebensrate) haben die serösen Karzinome, sowie die gemischten Karzinome mit seröser Komponente. Noch schlechter sind die undifferenzierten Karzinome (25% 5-Jahres-Gesamtüberlebensrate). Die wenigen transitionalzelligen Karzinome lassen sich als Einzelfälle statistisch nicht fassen, wobei jedoch von Kommos³⁹ eine tendenziell bessere Prognose dieses histologischen Typs wegen besserer Chemosensitivität beschrieben wurde. Die endometrioiden Ovarialkarzinome haben sowohl in diesem Kollektiv (88% 5-Jahres-Gesamtüberlebensrate) als auch in der Literatur das beste Gesamtüberleben^{77;90}. Auch die klarzelligen Karzinome haben eine bessere Prognose als die serösen Tumoren. Dies wurde in der älteren Literatur anders dargestellt⁷¹. Hiernach sollen klarzellige Karzinome besonders maligne sein, was in dieser Arbeit nicht bestätigt werden kann. Eventuell gibt es hier einen Zusammenhang zwischen endometrioiden und klarzelligen Neubildungen und einem geringen FIGO-Stadium, sodass die Wahrscheinlichkeit, den Tumor komplett zu entfernen bei diesen beiden Typen hoch war (R0 bei 75% der endometrioiden und bei 80 % der klarzelligen Karzinome). Dem gegenüber stehen die serösen Karzinome, die nur zu 30% (17 von 56) komplett entfernt werden konnten und die transitionalzelligen Karzinome, bei denen keine Patientin (0 von 4) eine komplette Tumoresektion erhalten konnte. Diese ungünstigen postoperativen Verhältnisse wirken sich natürlich auf das Überleben aus.

Insgesamt haben Patientinnen ohne Tumorrest eine 5-Jahres-Gesamtüberlebensrate von 76% und Patientinnen mit in situ verbliebenen Tumorrest haben eine 5-Jahres-

Gesamtüberlebensrate von 32%. Dabei war die Größe des Tumorrestes unerheblich, da die Überlebenskurven von Tumorrest $\leq 1\text{cm}$ und Tumorrest $> 1\text{cm}$ parallel verlaufen und sich auch überkreuzen.

Ein weiterer wichtiger Prognosefaktor ist das FIGO-Stadium. Auch hier ist es zweckmäßig, die 4 Stadien zu 2 Gruppen zusammenzufassen. Hier zeigt sich, dass Patientinnen mit einem niedrigen FIGO-Stadium (I&II) eine 5-Jahres-Gesamtüberlebensrate von 58% haben und bei den Frauen mit einem hohen FIGO-Stadium(III&IV) leben nur noch 38% nach 5 Jahren.

Ein Prognosefaktor, der auch mit den histologischen Subtypen zusammenhängt, ist das Grading nach Silverberg (Chi²-Test nach Pearson: $p < 0,0001$). Auch hier stellt sich heraus, dass die endometrioiden Karzinome zu 77% (10 von 13) und die klarzelligen zu 70% (7 von 10) und die muzinösen zu 100% (2 von 2) gut differenziert sind. Mittel bis schlecht differenziert sind 84% (52 von 62) der serösen Karzinome, 100% der transitionalzelligen (4 von 4), per definitionem 100% (7 von 7) der undifferenzierten und 90% (9 von 10) der gemischten Karzinome.

Bestehender präoperativer Aszites zeigt einen nicht signifikanten Trend für eine schlechte Prognose, wobei die Aussage durch fehlende Angaben eingeschränkt ist.

Die Schwächen des Kollektivs bestehen in einer teilweise inadäquaten stadiengerechten Therapie. So hatten nur 44 Patientinnen eine adäquate Operation mit Lymphonodektomie oder Verzicht auf diese bei niedrigem Stadium und Grad. Es ist möglich, dass nicht adäquat operierte Patientinnen entweder noch Tumorrest besaßen oder in ein zu niedriges FIGO Stadium eingruppiert wurden, was sich in der relativ schlechten 5-Jahres-Gesamtüberlebensrate von 58% im FIGO-Stadium (I+II) zeigt. Des Weiteren hatten immerhin 91 Patientinnen eine ihrem Stadium adäquate Chemotherapie.

Trotzdem hat das Kollektiv im Vergleich mit den anderen Ovarialkarzinomkollektiven aus der Literatur eine gute Übereinstimmung in den wichtigsten Punkten, was eine gute Basis für die Validität der weiteren Aussagen darstellt.

5.2 Ezrin

Eine Expression von Ezrin (Anfärbung $> 10\%$ der Tumorzellen) konnte in 53 Fällen (49%) des Ovarialkarzinomkollektivs festgestellt werden. Die Ezrinexpression im Ovarialkarzinom geht mit einer verkürzten Überlebenszeit einher (Log-Rank-Test: $p = 0,0123$). Da keine Korrelation zu klassischen klinisch-pathologischen Parametern besteht,

folgt daraus, dass die Ezrinexpression ein unabhängiger Prognosefaktor ist, was $p=0,012$ in der multivariaten Analyse bestätigt. Diese Assoziation findet sich auch in Melanomen, Astrozytomen, Endometriumkarzinomen und kindlichen Weichteilsarkomen^{26;32;38;58;96} wieder. Weiterhin stellten sich auch in in-vitro-Studien des Osteosarkoms³⁴ und Adenokarzinoms der Lunge⁸⁹ Zusammenhänge zwischen hoher Ezrinexpression und einer höheren Metastasierungsrate der Tumorzellen dar. Eine in-vitro-Studie für Ovarialkarzinome zeigte ebenfalls, dass Zellen mit Überexpression von Ezrin stark metastasieren¹⁶. Im Gegensatz dazu wurde in der immunhistologischen Studie von Moilanen et al. 2003⁵³ eine Korrelation von Ezrinexpression mit einer guten Prognose beschrieben. Dieser Widerspruch dürfte folgende Ursachen haben: 1. In der Studie von Moilanen et al.⁵³ umfasste der Untersuchungszeitraum die Jahre von 1966 bis 1994: zum Vergleich bestand das hiesige Kollektiv aus Patientinnen, die 1996 bis 2004 operiert wurden, was bedeutet, dass die angewandten operativen und adjuvanten Therapien besser vergleichbar sind. 2. Es gibt erst seit 1978 eine adjuvante Chemotherapie mit platinhaltigen Zytostatika und sogar erst seit 1993 wird dazu eine kombinierte Chemotherapie mit Taxol empfohlen^{68;95}. Damit kommt eine nach heutigem Stand adäquate Chemotherapie bei Moilanen et al. 2003⁵³ nicht zum Tragen. 3. In der vorliegenden Studie wurde ein konventioneller histologischer Schnitt verwendet, der im Mittel eine Tumorfäche von 3 cm² darstellt. Dagegen beruht die Studie von Moilanen et al. 2003 auf sog. „tissue-microarrays“ bei denen die Gewebsprobe aus dem jeweiligen Tumor etwa 1mm² groß ist. Da gerade Ezrin in den Tumoren häufig nur fokal exprimiert wird, steigt die Gefahr, dass einige Tumoren als falsch negativ eingestuft werden.

Interessanterweise ist Ezrin auch im Normalgewebe des Ovars und der Tube sowohl in membranärer als auch zytoplasmatischer Lokalisation zu finden. Diese Unterschiede sind auch für andere physiologische Zellen beschrieben^{30;66}. In der Plazenta ist Ezrin im Synzytiotrophoblasten membranär vorhanden¹¹. Im Epithel der Tube gibt es zwei Zelltypen, einen mit apikal-membranärer Lokalisation und einem zweiten mit diffuser zytoplasmatischer Expression. Es ist bekannt, dass Ezrin in polaren Zellen membranär exprimiert ist¹¹. Die starke zytoplasmatische Lokalisation von Ezrin in einigen Epithelien der Tube spricht dafür, dass Ezrin die polare Orientierung verloren hat, in der Tat kann man beobachten, dass diese Zellen keinen Kontakt mehr zur Basalmembran besitzen. Bemerkenswert ist auch, dass der gleiche Zelltyp, nämlich ovariell Oberflächene epithel in unterschiedlicher Lokalisation eine unterschiedliche Ezrinverteilung zeigt. Faktoren, die dies beeinflussen könnten, wären das umgebene Stroma, so dass die Tunica albuginea für

das Oberflächenepithel eine andere Wirkung hätte, wie das kortikale Stroma für Inklusionszysten.

Eine vorrangig zytoplasmatische Lokalisation findet sich in 48% der Karzinome und in nur 10% zeigt sich rein membranäres Ezrin. Für andere Karzinome ist ebenfalls eine zytoplasmatische Lokalisation beschrieben^{22;38;49;67}, eine Studie an Bronchialkarzinomen beschreibt auch eine membranäre Lokalisation⁸⁹.

Eine besonders starke zytoplasmatische Ezrinexpression ist besonders in abgelösten Zellknospen nachweisbar. Es ist zu vermuten, dass diese Komplexe schlecht versorgt und somit hypoxisch sind. Hypoxie fördert die zytoplasmatische Lokalisation von Ezrin, was durch eine geringere Thr567 Phosphorylierung bei Veränderung der Kinase/Phosphataseaktivität zugunsten letzterer zu erklären ist¹⁵.

Auch in invasiven Nestern ist Ezrin besonders stark zytoplasmatisch darzustellen. Da die membranäre Lokalisation und der aktive Zustand von Ezrin von der Thr567 Phosphorylierung abhängig ist, ergeben sich daraus folgende Hypothesen:

1. Da es keine Hinweise dafür gibt, dass ein Funktionsverlust membranären Ezrins mit einem Vorteil für die Tumorzellen verbunden wäre sowie, dass Ezrin eventuell eine putative zytoplasmatische Funktion hätte, muss man folgende Möglichkeit favorisieren:

In invasiven Zellkomplexen ist Ezrin sowohl zytoplasmatisch als auch membranär, was sich aber durch die Auflösung der Immunhistologie nicht zeigen lässt. Wie in anderen Studien gezeigt, ist es mit phosphospezifischen Antikörpern, möglich die membranären, aktiven Anteile im Hintergrund darzustellen. Das zytoplasmatische Ezrin würde dann als Reservepool dienen. Für diese Hypothese spricht, dass eine Überexpression von Ezrin mRNA in Arrayversuchen als metastasenassoziiertes Gen gefunden wurde.

2. Es kann auch bedeuten, dass die Aktivität von Ezrin unabhängig von der Lokalisation ist und durch die alternativen Phosphorylierungen an Tyr154 und Tyr353 bestimmt werden.

Welche molekulare Funktion Ezrin für die Tumorzellen in vivo besitzt, kann nur diskutiert werden. Die wichtigsten Funktionen für Ezrin bestehen in der Tumorzellmigration und dem Zellüberleben. Aktives membranäres Ezrin reguliert die Aktinpolymerisation und verankert dieses an der Membran, was nach weiterer Phosphorylierung von Tyr353 mit einer erhöhten Tumorzellmigration einhergeht.

3. Eine wichtige Rolle spielt Ezrin auch für das Überleben der Tumorzellen in interstitieller Matrix, wobei Ezrin den Todesrezeptor Fas/ CD95 inaktiviert⁶⁰ bzw. an die p85 Untereinheit der PI-3K bindet, mit der Folge, dass PI-3K/Akt induziertes Zellüberleben gefördert wird⁴². Somit kann man postulieren, dass die Patientinnen mit einer gesteigerten

Ezrinexpression in ihrem Ovarialkarzinom Tumorzellen mit einem größeren metastatischen Potential haben, die außerdem nicht durch ihren apoptotischen Regelkreis gestoppt werden können, wie es aber, sicher im eingeschränkten Rahmen, bei ezrinnegativen Tumoren der Fall wäre. Dies würde auch ein Erklärungsansatz für das spätere Eintreten eines Rezidivs und das längere Überleben der Patientinnen mit ezrinnegativen Karzinomen sein.

5.3 Moesin

Eine Moesinexpression (>10% der Tumorzellen angefärbt) kann man in 52 Fällen (48%) erkennen. 56 Tumoren (52%) exprimieren entweder weniger als 10% der Tumorzellen Moesin oder Moesin ist nicht nachweisbar. Die univariaten Analysen des progressfreien Überlebens (Log-Rank-Test: $p=0,017$) und des Gesamtüberlebens (Log-Rank-Test: $p=0,0255$) für die Moesinexpression stellten sich für beide als signifikant heraus, so dass man insgesamt ein besseres Überleben hat, wenn der Tumor kein Moesin exprimiert. Allerdings konnte die Moesinexpression in der multivariaten Analyse nicht als unabhängiger Prognosefaktor bestätigt werden (Cox-Regression: $p= 0,343$). In der Literatur finden sich nur wenige Studien zu Moesin. So beschreiben Carmeci et al.¹³, dass Moesin vor allem in Östrogenrezeptor-negativen Mammakarzinomzelllinien exprimiert wird, wohingegen Zelllinien mit einem positiven Östrogenrezeptorstatus Moesin nicht exprimieren. Man nimmt hier an, dass Moesin eine wichtige Rolle für die Invasivität und für das Metastasierungsmuster hat. Weiterhin zeigt eine immunhistologische Studie³⁶, dass die Moesinexpression mit ihrer unterschiedlichen zellulären Verteilung genutzt werden könnte, um eine einfachere Differenzierung oraler Schleimhautläsionen wie der Dysplasie, dem verrukösem Karzinom oder einem Plattenepithelkarzinom zu gewährleisten. In gesundem Epithel und in Dysplasien wird Moesin vorrangig membränär vorgefunden, währenddessen im verrukösen Karzinom und Plattenepithelkarzinom Moesin vor allem zytoplasmatisch dargestellt wurde. Ähnlich Ergebnisse ergab die Arbeit von Ichikawa et al.³¹. Craven et al.¹⁸ konnte in Nierenkarzinomzelllinien eine gesteigerte Expression von aktinassoziierten Proteinen wie Moesin, Radixin und Fascin darstellen. Allerdings zeigen eigene Beobachtungen, dass eine Ausschaltung von Moesin mit siRNA keine Auswirkungen auf die Invasivität von Ovarialkarzinomzellen hat, im Gegensatz zu einer Reduktion bei Transfektion von siRNA Ezrin³⁷. Somit ist es sehr wahrscheinlich, dass die Expression von Ezrin in Ovarialkarzinomen bedeutsamer ist. Zumal in diesem Zusammenhang interessant

ist, dass Moesin kein „target“ der Phosphotyrosinkinasen ist und nur eine Phosphorylierungsstelle hat, die der Lokalisationsbestimmung dient.

6 Zusammenfassung

Die ERM-Familie, bestehend aus Ezrin, Radixin und Moesin, ist eine Gruppe von Proteinen, welche für die Verankerung des Aktinzytoskeletts an die Zellmembran und für Signaltransduktionen zuständig ist. Es zeigte sich in diversen Studien, dass eine erhöhte Ezrinexpression mit einer gesteigerten Metastasierungsrate bei verschiedenen Tumorarten einhergeht.

Das Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob es einen Zusammenhang gibt zwischen der Ezrinexpression beziehungsweise Moesinexpression und der Prognose hinsichtlich des progressfreien und gesamten Überlebens bei Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom.

Die Grundlage dieser retrospektiven Studie bildeten die Tumorproben und die dazu gehörigen klinischen Daten von 108 Patientinnen, die an einem Ovarialkarzinom in den Jahren 1996 bis 2004 erkrankt waren. Die Tumoren wurden alle nach den aktuellen WHO-Richtlinien reklassifiziert und später repräsentative Tumorareale mit Hilfe immunhistochemischer Methoden auf ihre Ezrin- beziehungsweise Moesinexpression untersucht.

Bei 53 (49%) Patientinnen wurde eine Ezrinexpression und bei 52 (48%) Patientinnen wurde eine Moesinexpression festgestellt. Für beide Proteine stellte sich die univariate Überlebensanalyse für das Gesamtüberleben als signifikant heraus. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass keine Korrelationen zu klinisch-pathologischen Parametern bestehen, sodass eine Abhängigkeit zu anderen Parametern nicht darzustellen war. Allerdings war nur die Ezrinexpression auch in der multivariaten Analyse signifikant.

Die Ergebnisse zeigen, dass Ezrin ein unabhängiger Prognosefaktor für das Ovarialkarzinom ist.

7 Thesen

1. Ovarialkarzinome sind sowohl histologisch als auch biologisch eine inhomogene Tumorart, welche sich aus unterschiedlichen Entitäten zusammensetzt. Häufig können sie nur mit Hilfe der Immunhistochemie diagnostiziert werden. Die zum Teil hohe Zahl an muzinösen Karzinomen in früheren Studien war meist in fehlgedeuteten Metastasen aus dem Gastrointestinaltrakt begründet.
2. Aufgrund der spät auftretenden Symptome des Ovarialkarzinoms ist dieser Tumor eine der häufigsten tumorbedingten Todesursachen der Frau.
3. Die Patientendaten, des der Arbeit zu Grunde liegende Kollektivs, entsprechen in den klinisch-pathologischen Parametern, wie Durchschnittsalter, 5-Jahres-Gesamtüberleben, Tumorrest, histologische Typen, Grading der Tumoren und FIGO-Stadium denen der Literatur.
4. Die Patientinnen dieses Kollektivs haben eine weitestgehend homogene stadiengerechte Therapie erhalten, da sie alle in dem kleinen Zeitraum von 1996-2004 therapiert wurden.
5. Die beste Überlebensprognose haben Karzinome vom endometrioiden Typ und die schlechteste haben die serösen und undifferenzierten Karzinome.
6. Der postoperative Tumorrest ist der wichtigste Prognosefaktor noch vor dem FIGO-Stadium, Tumorgrading und der Expression des Proteins Ezrin.
7. Die Immunhistochemie konnte gut die Quantität der Ezrinexpression und Moesinexpression darstellen.
8. Moesin und Ezrin haben keinen differentialdiagnostischen Wert für die Abgrenzung der histologischen Typen des Ovarialkarzinoms.
9. Die Moesinexpression korreliert in der multivariaten Analyse nicht signifikant mit der Prognose für Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom in.

10. Die erhöhte Ezrinexpression führt nach der Literatur sowohl in vitro als auch in vivo bei malignen Tumoren wie Astrozytomen, Melanomen, Pankreaskarzinomen, Lungenkarzinomen und Endometriumkarzinomen zu einer gesteigerten Invasivität.
11. Beim Ovarialkarzinom stellt sich in der multivariaten Analyse das vermehrte zelluläre Auftreten von Ezrin als unabhängiger Parameter für eine Prognosverschlechterung dar.
12. Die Aktinpolymerisation und membranäre Verankerung durch Ezrin ist wichtig für die Motilität der Tumorzelle. Weiterhin ist Ezrin auch für die Unterdrückung von Apoptosevorgängen nötig.
13. Die Kombination des etablierten Silverberggradings mit der Expression des Proteins Ezrin erhöht die Aussagekraft über das potentielle biologische Verhalten und somit über die Überlebenswahrscheinlichkeit der einzelnen Patientin mit einem Ovarialkarzinom.

8 Literaturverzeichnis

1. Adams AT, Auersperg N: Transformation of cultured rat ovarian surface epithelial cells by Kirsten murine sarcoma virus. *Cancer Res* 41 (1981) 2063-2072
2. Akisawa N, Nishimori I et al.: High levels of ezrin expressed by human pancreatic adenocarcinoma cell lines with high metastatic potential. *Biochem Biophys Res Commun* 258 (1999) 395-400
3. Auersperg N, Siemens CH et al.: Human ovarian surface epithelium in primary culture. *In Vitro* 20 (1984) 743-755
4. Bao R, Selvakumaran M et al.: Targeted gene therapy of ovarian cancer using an ovarian-specific promoter. *Gynecol Oncol* 84 (2002) 228-234
5. Bell DA: Origins and molecular pathology of ovarian cancer. *Mod Pathol* 18 Suppl 2 (2005) 19-32
6. Bell KA, Smith Sehdev AE et al.: Refined diagnostic criteria for implants associated with ovarian atypical proliferative serous tumors (borderline) and micropapillary serous carcinomas. *Am J Surg Pathol* 25 (2001) 419-432
7. Berryman M, Franck Z et al.: Ezrin is concentrated in the apical microvilli of a wide variety of epithelial cells whereas moesin is found primarily in endothelial cells. *J Cell Sci* 105 (1993) 1025-1043
8. Bertz, J., Kaatsch, P., et al. *Krebs in Deutschland - Häufigkeiten und Trends*. Saarbrücken, Arbeitsgemeinschaft Bevölkerungsbezogener Krebsregister in Deutschland (2004) 60-63
9. Bretscher A: Purification of the intestinal microvillus cytoskeletal proteins villin, fimbrin, and ezrin. *Methods Enzymol* 134 (1986) 24-37
10. Bretscher A: Regulation of cortical structure by the ezrin-radixin-moesin protein family. *Curr Opin Cell Biol* 11 (1999) 109-116
11. Bretscher A, Reczek D et al.: Ezrin: a protein requiring conformational activation to link microfilaments to the plasma membrane in the assembly of cell surface structures. *J Cell Sci* 110 (1997) 3011-3018
12. Cao TT, Deacon HW et al.: A kinase-regulated PDZ-domain interaction controls endocytic sorting of the beta2-adrenergic receptor. *Nature* 401 (1999) 286-290
13. Carmeci C, Thompson DA et al.: Moesin expression is associated with the estrogen receptor-negative breast cancer phenotype. *Surgery* 124 (1998) 211-217
14. Castelo L, Jay DG: Radixin is involved in lamellipodial stability during nerve growth cone motility. *Mol Biol Cell* 10 (1999) 1511-1520
15. Chen J, Mandel LJ: Unopposed phosphatase action initiates ezrin dysfunction: a potential mechanism for anoxic injury. *Am J Physiol* 273 (1997) C710-C716

16. Chen Z, Fadiel A et al.: Ovarian epithelial carcinoma tyrosine phosphorylation, cell proliferation, and ezrin translocation are stimulated by interleukin 1alpha and epidermal growth factor. *Cancer* 92 (2001) 3068-3075
17. Clark TG, Stewart ME et al.: A prognostic model for ovarian cancer. *Br J Cancer* 85 (2001) 944-952
18. Craven RA, Stanley AJ et al.: Proteomic analysis of primary cell lines identifies protein changes present in renal cell carcinoma. *Proteomics* 6 (2006) 2853-2864
19. Cuatrecasas M, Villanueva A et al.: K-ras mutations in mucinous ovarian tumors: a clinicopathologic and molecular study of 95 cases. *Cancer* 79 (1997) 1581-1586
20. Dubeau L: The cell of origin of ovarian epithelial tumors and the ovarian surface epithelium dogma: does the emperor have no clothes? *Gynecol Oncol* 72 (1999) 437-442
21. Eisenhauer EA, Gore M et al.: Ovarian cancer: should we be managing patients with good and bad prognostic factors in the same manner? *Ann Oncol* 10 Suppl 1:9-15. (1999) 9-15
22. Elliott BE, Meens JA et al.: The membrane cytoskeletal crosslinker ezrin is required for metastasis of breast carcinoma cells. *Breast Cancer Res* 7 (2005) R365-R373
23. Fathalla MF: Incessant ovulation--a factor in ovarian neoplasia? *Lancet* 2 (1971) 163
24. Feeley KM, Wells M: Precursor lesions of ovarian epithelial malignancy. *Histopathology* 38 (2001) 87-95
25. Gary R, Bretscher A: Ezrin self-association involves binding of an N-terminal domain to a normally masked C-terminal domain that includes the F-actin binding site. *Mol Biol Cell* 6 (1995) 1061-1075
26. Geiger KD, Stoldt P et al.: Ezrin immunoreactivity is associated with increasing malignancy of astrocytic tumors but is absent in oligodendrogliomas. *Am J Pathol* 157 (2000) 1785-1793
27. Hauptmann S and Kobel M. Prognosefaktoren des Ovarialkarzinoms. Kreipe HH. *Verh. Dtsch. Ges. Path* 89, 2005 S. 92-100
28. Hauptmann S, Denkert C et al.: Genetic alterations in epithelial ovarian tumors analyzed by comparative genomic hybridization. *Hum Pathol* 33 (2002) 632-641
29. Hirao M, Sato N et al.: Regulation mechanism of ERM (ezrin/radixin/moesin) protein/plasma membrane association: possible involvement of phosphatidylinositol turnover and Rho-dependent signaling pathway. *J Cell Biol* 135 (1996) 37-51
30. Hughes SC, Fehon RG: Understanding ERM proteins - the awesome power of genetics finally brought to bear. *Curr Opin Cell Biol* 19 (2007) 51-56

31. Ichikawa T, Masumoto J et al.: Expression of moesin and its associated molecule CD44 in epithelial skin tumors. *J Cutan Pathol* 25 (1998) 237-243
32. Ilmonen S, Vaeheri A et al.: Ezrin in primary cutaneous melanoma. *Mod Pathol* 18 (2005) 503-510
33. Ivetic A, Ridley AJ: Ezrin/radixin/moesin proteins and Rho GTPase signalling in leucocytes. *Immunology* 112 (2004) 165-176
34. Khanna C, Khan J et al.: Metastasis-associated differences in gene expression in a murine model of osteosarcoma. *Cancer Res* 61 (2001) 3750-3759
35. Kitajiri S, Fukumoto K et al.: Radixin deficiency causes deafness associated with progressive degeneration of cochlear stereocilia. *J Cell Biol* 166 (2004) 559-570
36. Kobayashi H, Sagara J et al.: Shifts in cellular localization of moesin in normal oral epithelium, oral epithelial dysplasia, verrucous carcinoma and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 32 (2003) 344-349
37. Kobel M, Gradhand E et al.: Ezrin promotes ovarian carcinoma cell invasion and its retained expression predicts poor prognosis in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 25 (2006) 121-130
38. Kobel M, Langhammer T et al.: Ezrin expression is related to poor prognosis in FIGO stage I endometrioid carcinomas. *Mod Pathol* 19 (2006) 581-587
39. Kommoss S, du BA et al.: Independent prognostic significance of cell cycle regulator proteins p16(INK4a) and pRb in advanced-stage ovarian carcinoma including optimally debulked patients: a translational research subprotocol of a randomised study of the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group. *Br J Cancer* 96 (2007) 306-313
40. Kondo T, Takeuchi K et al.: ERM (ezrin/radixin/moesin)-based molecular mechanism of microvillar breakdown at an early stage of apoptosis. *J Cell Biol* 139 (1997) 749-758
41. Koss M, Pfeiffer GR et al.: Ezrin/radixin/moesin proteins are phosphorylated by TNF-alpha and modulate permeability increases in human pulmonary microvascular endothelial cells. *J Immunol* 176 (2006) 1218-1227
42. Krishnan K, Bruce B et al.: Ezrin mediates growth and survival in Ewing's sarcoma through the AKT/mTOR, but not the MAPK, signaling pathway. *Clin Exp Metastasis* 23 (2006) 227-236
43. Kuhn W, du BA: Operative Therapie des fortgeschrittenen Ovarialkarzinoms. *Der Gynäkologe* 34 (2001) 1050-1057
44. Lakhani SR, Manek S et al.: Pathology of ovarian cancers in BRCA1 and BRCA2 carriers. *Clin Cancer Res* 10 (2004) 2473-2481

45. Lakhani SR, Van De Vijver MJ et al.: *The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2. J Clin Oncol* 20 (2002) 2310-2318
46. Lankes WT, Furthmayr H: *Moesin: a member of the protein 4.1-talin-ezrin family of proteins. Proc Natl Acad Sci U S A* 88 (1991) 8297-8301
47. Lee K.R., Tavassoli F.A., and et al. *Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press, Lyon, 2003*
48. Mackay DJ, Esch F et al.: *Rho- and rac-dependent assembly of focal adhesion complexes and actin filaments in permeabilized fibroblasts: an essential role for ezrin/radixin/moesin proteins. J Cell Biol* 138 (1997) 927-938
49. Madan R, Brandwein-Gensler M et al.: *Differential tissue and subcellular expression of ERM proteins in normal and malignant tissues: cytoplasmic ezrin expression has prognostic significance for head and neck squamous cell carcinoma. Head Neck* 28 (2006) 1018-1027
50. Makitie T, Carpen O et al.: *Ezrin as a prognostic indicator and its relationship to tumor characteristics in uveal malignant melanoma. Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 (2001) 2442-2449
51. Mangeat P, Roy C et al.: *ERM proteins in cell adhesion and membrane dynamics. Trends Cell Biol* 9 (1999) 187-192
52. Miller KG: *A role for moesin in polarity. Trends Cell Biol* 13 (2003) 165-168
53. Moilanen J, Lassus H et al.: *Ezrin immunoreactivity in relation to survival in serous ovarian carcinoma patients. Gynecol Oncol* 90 (2003) 273-281
54. Moinfar F. *Intensivkurs Diagnostische Gynäkopathologie. Handbuch, 2005*
55. Nakamura F, Amieva MR et al.: *Phosphorylation of threonine 558 in the carboxyl-terminal actin-binding domain of moesin by thrombin activation of human platelets. J Biol Chem* 270 (1995) 31377-31385
56. Nicosia SV, Bai W et al.: *Oncogenic pathways implicated in ovarian epithelial cancer. Hematol Oncol Clin North Am* 17 (2003) 927-943
57. Nikolic M: *The role of Rho GTPases and associated kinases in regulating neurite outgrowth. Int J Biochem Cell Biol* 34 (2002) 731-745
58. Ohtani K, Sakamoto H et al.: *Ezrin, a membrane-cytoskeletal linking protein, is highly expressed in atypical endometrial hyperplasia and uterine endometrioid adenocarcinoma. Cancer Lett* 179 (2002) 79-86
59. Paglini G, Kunda P et al.: *Suppression of radixin and moesin alters growth cone morphology, motility, and process formation in primary cultured neurons. J Cell Biol* 143 (1998) 443-455

60. Parlato S, Giammarioli AM et al.: CD95 (APO-1/Fas) linkage to the actin cytoskeleton through ezrin in human T lymphocytes: a novel regulatory mechanism of the CD95 apoptotic pathway. *EMBO J* 19 (2000) 5123-5134
61. Pecorelli S, Fallo L: Hormone replacement therapy in gynecological cancer survivors. *Crit Rev Oncol Hematol* 27 (1998) 1-10
62. Pietromonaco SF, Simons PC et al.: Protein kinase C-theta phosphorylation of moesin in the actin-binding sequence. *J Biol Chem* 273 (1998) 7594-7603
63. Reczek D, Berryman M et al.: Identification of EBP50: A PDZ-containing phosphoprotein that associates with members of the ezrin-radixin-moesin family. *J Cell Biol* 139 (1997) 169-179
64. Rodriguez IM, Prat J: Mucinous tumors of the ovary: a clinicopathologic analysis of 75 borderline tumors (of intestinal type) and carcinomas. *Am J Surg Pathol* 26 (2002) 139-152
65. Sainio M, Zhao F et al.: Neurofibromatosis 2 tumor suppressor protein colocalizes with ezrin and CD44 and associates with actin-containing cytoskeleton. *J Cell Sci* 110 (1997) 2249-2260
66. Saotome I, Curto M et al.: Ezrin is essential for epithelial organization and villus morphogenesis in the developing intestine. *Dev Cell* 6 (2004) 855-864
67. Sarrio D, Rodriguez-Pinilla SM et al.: Abnormal ezrin localization is associated with clinicopathological features in invasive breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* .98 (2006) 71-79
68. Saville MW, Lietzau J et al.: Treatment of HIV-associated Kaposi's sarcoma with paclitaxel. *Lancet* 346 (1995) 26-28
69. Scott M, McCluggage WG: Current concepts in ovarian epithelial tumorigenesis: correlation between morphological and molecular data. *Histol Histopathol* 21 (2006) 81-92
70. Scully RE, Young RH: Surface Epithelial-Stromal Tumors and Serous Tumors. In: Rosai J (Hrsg): *Tumors of the Ovary, Maldeveloped Gonads, Fallopian Tube and Broad Ligament. Atlas of Tumor Pathology. AFIP, Washington D.C., 1998, S. 51-79*
71. Scully RE, Young RH: Clear Cell Tumors. In: Rosai J (Hrsg): *Ovary, Maldeveloped Gonads, Fallopian Tube, and Broad Ligament. Atlas of Tumor Pathology. AFIP, Washington D.C. 1998, S. 141-151*
72. Scully RE, Young RH: Endometrioid Tumors. In: *Tumors of the Ovary, Maldeveloped Gonads, Fallopian Tube and Broad Ligament. AFIP, Washington D.C. 1998, S. 107-139*

73. Scully RE, Young RH: *Mixed Epithelial Tumors and Undifferentiated Carcinoma*. In: Rosai J (Hrsg): *Tumors of the Ovary, Maldeveloped Gonads, Fallopian Tube, and Broad Ligament. Atlas of Tumor Pathology. AFIP, Washington D.C. 1998, S. 165-168*
74. Scully RE, Young RH: *Mucinous Tumors and Pseudomyxoma Peritonei*. In: Rosai J (Hrsg): *Tumors of the Ovary, Maldeveloped Gonads, Fallopian Tube and Broad Ligament. Atlas of Tumor Pathology. AFIP, Washington D.C. 1998, S. 81-105*
75. Scully RE, Young RH: *Transitional and Squamous Cell Tumors*. In: Rosai J (Hrsg): *Ovary, Maldeveloped Gonads, Fallopian Tube, and Broad Ligament. Atlas of Tumor Pathology. AFIP, Washington D.C. 1998, S. 153-163*
76. Scully RE: *Early de novo ovarian cancer and cancer developing in benign ovarian lesions*. *Int J Gynaecol Obstet* 49 Suppl: (1995) 9-15
77. Seidman JD, Kurman RJ: *Pathology of ovarian carcinoma*. *Hematol Oncol Clin North Am* 17 (2003) 909-925
78. Seidman JD, Kurman RJ et al.: *Primary and metastatic mucinous adenocarcinomas in the ovaries: incidence in routine practice with a new approach to improve intraoperative diagnosis*. *Am J Surg Pathol* 27 (2003) 985-993
79. Shaw RJ, Henry M et al.: *RhoA-dependent phosphorylation and relocalization of ERM proteins into apical membrane/actin protrusions in fibroblasts*. *Mol Biol Cell* 9 (1998) 403-419
80. Shcherbina A, Bretscher A et al.: *Moesin, the major ERM protein of lymphocytes and platelets, differs from ezrin in its insensitivity to calpain*. *FEBS Lett* 443 (1999) 31-36
81. Shih I, Kurman RJ: *Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis*. *Am J Pathol* 164 (2004) 1511-1518
82. Short DB, Trotter KW et al.: *An apical PDZ protein anchors the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator to the cytoskeleton*. *J Biol Chem* 273 (1998) 19797-19801
83. Silverberg SG: *Histopathologic grading of ovarian carcinoma: a review and proposal*. *Int J Gynecol Pathol* 19 (2000) 7-15
84. Singer G, Oldt R, III et al.: *Mutations in BRAF and KRAS characterize the development of low-grade ovarian serous carcinoma*. *J Natl Cancer Inst* 95 (2003) 484-486
85. Singer G, Shih I et al.: *Mutational analysis of K-ras segregates ovarian serous carcinomas into two types: invasive MPSC (low-grade tumor) and conventional serous carcinoma (high-grade tumor)*. *Int J Gynecol Pathol* 22 (2003) 37-41
86. *Statistisches Bundesamt: Fachserie 12/ Reihe 6.2.1; 5.7.2005*

87. *Tavassoli F A., Devilee P. Tumours of the Breast and Female Genital Organs. IARC Press, Lyon, 2003*
88. *Tingulstad S, Skjeldestad FE et al.: Survival and prognostic factors in patients with ovarian cancer. Obstet Gynecol 101 (2003) 885-891*
89. *Tokunou M, Niki T et al.: Altered expression of the ERM proteins in lung adenocarcinoma. Lab Invest 80 (2000) 1643-1650*
90. *Tornos C, Silva EG et al.: High-stage endometrioid carcinoma of the ovary. Prognostic significance of pure versus mixed histologic types. Am J Surg Pathol 18 (1994) 687-693*
91. *Tsuda M, Makino Y et al.: Crk associates with ERM proteins and promotes cell motility toward hyaluronic acid. J Biol Chem 279 (2004) 46843-46850*
92. *Tsukita S, Hieda Y et al.: A new 82-kD barbed end-capping protein (radixin) localized in the cell-to-cell adherens junction: purification and characterization. J Cell Biol 108 (1989) 2369-2382*
93. *Tsukita S, Yonemura S: ERM (ezrin/radixin/moesin) family: from cytoskeleton to signal transduction. Curr Opin Cell Biol 9 (1997) 70-75*
94. *Uyei A, Peterson SK et al.: Association between clinical characteristics and risk-reduction interventions in women who underwent BRCA1 and BRCA2 testing: a single-institution study. Cancer 107 (2006) 2745-2751*
95. *Wani MC, Taylor HL et al.: Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from Taxus brevifolia. J Am Chem Soc 93 (1971) 2325-2327*
96. *Weng WH, Ahlen J et al.: Prognostic impact of immunohistochemical expression of ezrin in highly malignant soft tissue sarcomas. Clin Cancer Res 11 (2005) 6198-6204*
97. *Yang HS, Hinds PW: Increased ezrin expression and activation by CDK5 coincident with acquisition of the senescent phenotype. Mol Cell 11 (2003) 1163-1176*
98. *Yonemura S, Hirao M et al.: Ezrin/radixin/moesin (ERM) proteins bind to a positively charged amino acid cluster in the juxta-membrane cytoplasmic domain of CD44, CD43, and ICAM-2. J Cell Biol 140 (1998) 885-895*
99. *Yu Y, Davicioni E et al.: The homeoprotein six1 transcriptionally activates multiple protumorigenic genes but requires ezrin to promote metastasis. Cancer Res 66 (2006) 1982-1989*

Lebenslauf

Name: Elise Gradhand, geb. Knolle

Geburtsdatum: 08.07.1981

Geburtsort: Halle/Saale

Familienstand: verheiratet, 2 Kinder, *2004 und *2007

Eltern: Dr. med. Regine Knolle, geb. Müller
Dr. med. Jürgen Knolle

Schulbildung: 1988-1990 Grundschule „Hanns-Eisler“ in Halle/Saale
1990-1992 fremdsprachliche Grundschule „Kurt-Fischer“ in Halle/Saale
1992-2000 Erwerb der allgemeinen Hochschulreife im Landesgymnasium „Latina-August-Hermann-Francke“, Fremdsprachenzweig

Studium: Wintersemester 2000 Immatrikulation als Student der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
2002 Abschluss des Vorklinischen Abschnittes mit dem Physikum
November 2003 Beginn der Dissertation am Institut für Pathologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Sommersemester 2007 Abschluss des klinischen Abschnittes und des Studiums der Humanmedizin mit dem Dritten Staatsexamen

Halle/Saale, den

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich, Elise Gradhand, die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe angefertigt habe. Es wurden keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt. Das verwendete Schrifttum, sowie die Quellen anderer direkt und indirekt übernommener Daten und Konzepte sind vollständig erwähnt.

Halle/Saale,den

Erklärung über frühere Promotionsversuche

Ich versichere, dass von mir, Elise Gradhand, keine früheren Promotionsversuche mit dieser oder einer anderen Dissertation erfolgt sind. Es wurde nur dieser Antrag auf Eröffnung eines Promotionsverfahrens eingereicht.

Halle/Saale, den

Hinweise auf Veröffentlichung von Resultaten dieser Arbeit

Poster:

Köbel M., Gradhand E., Hauptmann S.: Ezrin as prognostic factor in ovarian carcinomas. Modern Pathology, 877, USCAP meeting San Antonio, USA, 2005

Vorträge:

Köbel M., Gradhand E., Hauptmann S.: Ezrin als Prognosefaktor im Ovarialkarzinom. 89. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie 2005 in Wiesbaden.

Köbel M., Gradhand E., Hauptmann S.: Ezrin als Prognosefaktor im Ovarialkarzinom. 2. Gemeinsame Tagung der Gesellschaft für Gynäkologie 2005 in Halle. Preis für den besten freien Vortrag.

Publikationen:

Köbel M., Gradhand E., Zeng K., Schmitt WD., Kriese K., Lantzsch T., Wolters M., Dittmer J., Strauss HG., Thomssen C., Hauptmann S.: Ezrin promotes ovarian carcinoma cell invasion and its retained expression predicts poor prognosis in ovarian carcinoma. Int J Gynecol Pathol 25 (2006) 121-130

Bartel F., Jung J., Böhnke A., Gradhand E., Zeng K., Thomssen C., Taubert H., Hauptmann S.: Both germ line and somatic genetics of p53 pathway effect ovarian cancer incidence and survival. Clin Cancer Res (Akzeptiert Oktober 2007)

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Vor allem Professor Dr. med. habil. Steffen Hauptmann gilt mein herzlicher Dank für die Überlassung des Themas, für die freundliche Unterstützung bei der histologischen Reklassifizierung jedes einzelnen Ovarialkarzinoms und für die hilfreichen Hinweise bei der Erstellung der Arbeit.

Ebenso möchte ich mich bei meinem Betreuer Dr. Martin Köbel für die engagierte Anleitung und Anregungen bei der Verwirklichung dieses Projekts bedanken.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei Jana Beer, stellvertretend für alle MTAs, die mir mit Rat und vor allem Tat bei der Immunhistologie zu Seite standen.