

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie der  
Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Komm. Direktor: apl. Prof. Dr. Dr. A. Eckert)

# **Einfluss von uPA und PAI auf die Prognose oraler Plattenepithelkarzinome**

## **Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)

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

von Julia Höhne  
geboren am 21.12.1984 in Sangerhausen

Gutachter:  
Prof. Dr. Dr. A. Eckert (Halle, Saale)  
Prof. Dr. Dr. A. Kolk (München)  
Prof. C. Wickenhauser (Halle, Saale)

26.06.2018  
11.02.2019

## Referat

In einer Datenbank im SPSS Format [20.0] wurden aus den Jahren 1998- 2003 folgende Parameter von Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle aus der Universitäts- und Poliklinik für Mund- Kiefer und Plastische Gesichtschirurgie der Martin- Luther Universität Halle- Wittenberg erhoben: TNM- Stadium, Grading, Alter und Geschlecht. Die Tumorgewebe dieser Patienten wurden immunhistochemisch gefärbt und hinsichtlich auf eine Expression von uPA und PAI untersucht und ausgewertet. Im Ergebnis zeigte sich, dass deutlich mehr Männer (76%) als Frauen (24%) an einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle erkrankten. Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 57,7 Jahren. Etwas mehr als die Hälfte der Patienten hatten Tumoren mit geringer Ausdehnung (T1, T2). Jedoch waren 35% der Patienten an einem Tumor größeren Ausmaß erkrankt (T4). 45% der Präparate wiesen keine Lymphknotenmetastasen des Tumors in entfernten Gebieten auf. Hingegen zeigte sich bei 42% der Patienten eine Metastasierung in den umliegenden Lymphknoten. Die Expression von PAI in den Tumorgeweben wurde getrennt betrachtet und hinsichtlich der Lokalisation zwischen PAI nukleär und cytoplasmatisch unterschieden. Die Präparate wiesen eine unterschiedliche mäßig bis starke Expression des jeweiligen Proteins auf (56%, 51% und 89% für PAI (cytoplasmatisch), PAI (nukleär) und uPA). Mit Hilfe der Cox Regressionsanalyse wurde von den genannten Proteinen untersucht, ob die Expression des jeweiligen Proteins als unabhängiger Prognosemarker genutzt werden könnte. Adjustiert wurde die Analyse nach Grading, T- und N Stadium. Im Falle von PAI cytoplasmatisch lag das relative Risiko des tumorbedingten Versterbens lediglich um das 1,5-fache erhöht, wenn PAI nukleär mäßig bis stark exprimiert wurde ( $p=0,33$ ). Eine positive Tendenz ( $p=0,11$ ) zeigte die Analyse, wenn PAI nukleär mäßig bis stark gebildet wurde. Hier lag das Risiko des tumorbedingten Versterbens um das 2- fache erhöht. Bei der Expression von uPA zeigte sich deutlich, dass das Risiko am Tumor zu versterben um das 3,8- fache erhöht war, wenn uPA mäßig bis stark vom Tumor exprimiert wurde. Das Ergebnis war signifikant [ $p=0,04$ ]. Demzufolge können uPA und PAI als unabhängige prognostische Faktoren zur Prognosekalkulation in Mundhöhlenkarzinomen herangezogen werden.

Höhne, Julia: Einfluss von uPA und PAI auf die Prognose oraler Plattenepithelkarzinome, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 60 Seiten, 2018

# Inhaltsverzeichnis

Referat.....	I
Abkürzungsverzeichnis.....	III
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	VI
1 Einleitung .....	7
1.1 Epidemiologie von Tumoren im Kopf/ Hals Bereich in Deutschland .....	7
1.2 Ätiologie vom oralen Plattenepithelkarzinom .....	7
1.3 Therapie vom oralen Plattenepithelkarzinom .....	8
1.4 Biomarker.....	10
1.5 Bestandteile des Plasminogen- Aktivierungssystems .....	11
1.6 Funktionen des Plasminogen- Aktivierungssystems.....	12
1.7 Plasminogen- Aktivierungssystem und Mundhöhlenkarzinom .....	14
2 Zielsetzung .....	15
3 Material und Methoden.....	17
3.1 Patienten.....	17
3.2 Immunhistochemische Färbung.....	17
3.3 Auswertung der immunhistochemischen Untersuchungen .....	18
3.4 Statistik.....	18
4 Ergebnisse .....	20
4.1 Patienten.....	20
4.2 Immunhistochemische Färbung gegen PAI (cytoplasmatisch und nukleär) und uPA .....	24
4.2.1 PAI cytoplasmatisch .....	24
4.2.2 PAI nukleär .....	28
4.2.3 uPA .....	32
4.3 Überlebensraten nach Kaplan- Meier.....	35
5 Diskussion.....	37
5.1 Überlebenswahrscheinlichkeit von Mundhöhlenkarzinomen .....	37
5.2 Therapie .....	39
5.3 Biomarker.....	42
5.4 Plasminogen - Aktivierungssystem .....	44
5.5 Kritik .....	48
6 Zusammenfassung .....	51
7 Literaturverzeichnis.....	53
8 Thesen.....	60

## Abkürzungsverzeichnis

1	Abb	Abbildung
2	AJCC	American Joint Committee on Cancer
3	ASA	American Society of Anesthesiologists
4	BSA	Bovines Serumalbumin
5	DÖSAK	Deutsch-Österreichisch-Schweizerischer Arbeitskreis für Tumoren im Kiefer- und Gesichtsbereich
6	EGFR	Epithelial-Growth-Factor-Receptor
7	ELISA	Enzyme- linked immunosorbent assay
8	FPRL 1	Formyl peptide receptor type 1
9	GLUT-1	Glukosetransporter 1
10	HIF1 alpha	Hypoxie-induzierbarer Faktor 1 alpha
11	HPV	Humane Papillom Viren
12	IG 1 AK	Immunglobulin 1 Antikörper
13	IRS	Immunreaktiver Score
14	Ki- 67	Protein, das zur Markierung von sich teilenden menschlichen Zellen geeignet ist
15	LSAB Methode	Labelled (Strept-)Avidin-Biotin-Methode
16	M- Stadium	Klassifikation bezüglich eventueller Fernmetastasen
17	MMP	Matrixmetallproteinasen
18	N- Stadium	Klassifikation bezüglich eventueller regionaler Metastasen
19	NEJM	The New England Journal of Medicine
20	PAI	Plasminogen- Aktivator- Inhibitor
21	PBS	Phosphate buffered saline
22	PCR	Polymerase chain reaction
23	pN1	N1- Stadium nach pathologischer Untersuchung
24	pRb	Retinoblastom Protein
25	pT2	T2- Stadium nach pathologischer Untersuchung
26	R- Klassifikation	Klassifikation für das Fehlen oder das Vorhandensein eines Residualtumors
27	RKI	Robert Koch Institut
28	SRSRY	Synthetic linear peptide
29	T- Stadium	Klassifikation bezüglich der Tumorgröße/ -ausdehnung
30	TMA	tissue microarray
31	TNM- System	Zusammenfassung von T-, N- und M-Stadium
32	TPI	Therapieabhängiger Prognoseindex
33	UICC	Union Internationale Contre Le Cancer
34	uPA	Urokinase- Plasminogen- Aktivator
35	uPAR	Urokinase- Plasminogen- Aktivator Rezeptor
36	VEGFR	Vascular- Endothelial- Growth- Factor- Receptor

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Der Zusammenhang zwischen uPA und uPAR und die Aktivierung von Plasmin (Shi und Stack 2007).....	12
Abbildung 2 Mögliche Bindungspartner von uPAR und Funktion des PAS- Systems in der Tumorprogression (Shi und Stack 2007) .....	12
Abbildung 3 Der Zusammenhang zwischen Integrin und uPAR im gesunden und im malignen Gewebe (Shi und Stack 2007) .....	13
Abbildung 4 Verteilung des Geschlechts von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle .....	20
Abbildung 5 Alter und Geschlecht der Patienten in Jahren eingeteilt in Jahrzehnte bei 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle.....	20
Abbildung 6 Verteilung der T- Stadien von 54 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle.....	21
Abbildung 7 Verteilung der N- Stadien von 52 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle.....	21
Abbildung 8 Fernmetastasen (M- Stadium) von 54 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle.....	22
Abbildung 9 Differenzierungsgrad bei 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle.....	22
Abbildung 10 Kaplan- Meier Analyse, 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 55 Patienten .....	23
Abbildung 11 Kaplan- Meier Analyse für die Expression von PAI cytoplasmatisch von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle.....	24
Abbildung 12 Verteilung des Geschlechts von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch.....	25
Abbildung 13 Verteilung des T- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch.....	25
Abbildung 14 Verteilung des N- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch.....	26
Abbildung 15 Verteilung des M- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch.....	27
Abbildung 16 Verteilung des Grads der Differenzierung des Tumorgewebes von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch..	27
Abbildung 17 Kaplan- Meier Analyse für die Expression von PAI nukleär von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle .....	28
Abbildung 18 Verteilung des Geschlechts von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär .....	29
Abbildung 19 Verteilung des T- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär.....	30
Abbildung 20 Verteilung des N- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär.....	30
Abbildung 21 Verteilung des M- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär.....	31
Abbildung 22 Verteilung des Grads der Differenzierung des Tumorgewebes von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär .....	31

Abbildung 23 Kaplan- Meier Analyse für die Expression von uPA von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle .....	32
Abbildung 24 Verteilung des Geschlechts von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von uPA.....	33
Abbildung 25 Verteilung des T- Stadiums von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von uPA.....	33
Abbildung 26 Verteilung des N- Stadiums von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von uPA.....	34
Abbildung 27 Verteilung des M- Stadiums von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von uPA.....	34
Abbildung 28 Verteilung des Grads der Differenzierung des Tumorgewebes von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und uPA Expression .....	35
Abbildung 29 Kaplan- Meier Analyse, Expression von PAI (cytoplasmatisch), Cox Regression adjustiert nach G, T- und N- Status, n= 55, RR: 1,5, p= 0,33 .....	36
Abbildung 30 Kaplan- Meier Analyse, Expression PAI (nukleär), Cox Regression adjustiert nach G, T- und N- Status, n=55, RR: 2,0, p= 0,11 .....	36
Abbildung 31 Kaplan- Meier Analyse, Expression uPA, Cox Regression adjustiert nach G, T- und N- Status, n=55, RR: 3,8, p= 0,04.....	36

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner .....	18
Tabelle 2 Anzahl der 55 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und PAI (cytoplasmatisch) Expression entsprechend dem IRS 0-12 .....	24
Tabelle 3 Anzahl der 55 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und PAI (nukleär) Expression entsprechend dem IRS 0-12 .....	28
Tabelle 4 Anzahl der 44 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und uPA Expression entsprechend dem IRS 0-12.....	32

# 1 Einleitung

## 1.1 Epidemiologie von Tumoren im Kopf/ Hals Bereich in Deutschland

Die Neuerkrankungszahl von 2013 in Deutschland lag bei 259906 Krebsneuerkrankungen bei Männern und 225219 Krebsneuerkrankungen bei Frauen. Laut Prognose für 2016 liegt die Neuerkrankungszahl für Männer bei 266800 und für Frauen bei 231900 (Katalinic 2013). Bezogen auf Tumoren im Mund und Rachen liegt die Anzahl der Neuerkrankungen 2013 für Männer bei 9913 und für Frauen bei 3723. Im Vergleich waren im Jahr 2003 9113 Männer und 2902 Frauen betroffen (Robert-Koch-Institut). Die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit lag zwischen 2012 und 2013 bei 43% für Männer und bei 55% für Frauen (Robert-Koch-Institut). Bei der Auswertung des DÖSAK Tumorregisters, indem aus 30 Kliniken von 4/89 bis 6/99 9002 Patienten registriert sind, zeigte sich anhand der Cox Analyse eine 5- Jahres- Überlebenswahrscheinlichkeit von 54,3% und die Kaplan- Meier- Analysen kalkulierte eine minimal geringere 5- Jahres- Überlebenswahrscheinlichkeit von 52,4% (Wolff et al. 2012). Eine Veröffentlichung von 2013 zeigt, dass die 5- Jahres- Überlebenswahrscheinlichkeit von Patienten aus 11 deutschen Krebsregistern zwischen 2002 und 2006 bei 54,6 % lag (Listl et al. 2013). Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose im Jahr 2012 waren die T- Stadien bei Männern wie folgt verteilt: T1 27%, T2 29%, T3 20%, T4 24% und bei Frauen T1 35%, T2 30%, T3 15%, T4 20% (Robert-Koch-Institut). Patienten mit T1/T2 Stadium haben eine deutlich höhere Überlebenschance als Patienten mit fortgeschrittenem Tumorstadium (T3 und T4) (Wolff et al. 2012).

## 1.2 Ätiologie vom oralen Plattenepithelkarzinom

Ein Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle wird als derber flacher Tumor mit granulierter papillomatöser und verhornender Oberfläche beschrieben. Im Zentrum befindet sich eine Ulzeration mit Randbildung (Siewert und Brauer 2010). Die Auslöser für Krebserkrankungen der Mundhöhle und des Rachens sind Tabak- und Alkoholkonsum. Besonders schädlich ist die Kombination beider Noxen. Weitere mögliche Risikofaktoren sind eine einseitige und vitaminarme Ernährung. Auch eine unzureichende Mundhygiene und mechanische Irritationen, beispielsweise durch schlechtsitzenden Zahnersatz, gelten als mögliche Risikofaktoren (Robert-Koch-Institut). Die Pathogenese der Wirkung von Alkohol und Tabak ist nicht vollständig geklärt (Seifert 2014). Es gibt Hinweise, dass die genotoxische Wirkung auf Intermediärabbauprodukten beruht (Maier und Tisch 2009). Alkohol dient in der Mundhöhle als Lösungsmittel und ermöglicht somit karzinogenen Substanzen die Zellmembran zu passieren. Alkoholkonsum verstärkt den Stoffwechsel in der Leber und könnte dadurch karzinogene Stoffverbindungen aktivieren. Hinzu kommt, dass Alkoholkonsum den intrazellulären Stoffwechsel in Epithelzellen



verändert. Unter anderem nimmt die Funktion der Mitochondrien ab und die Alkylierung der DNA zu (La Vecchia et al. 1997). Des Weiteren zeigen chronisch inflammatorische Zustände der Mundschleimhaut z.B. Lichen planus, ein Potenzial zur malignen Entartung (Barnes 2005). Besonders im Bereich des Oropharynx werden HPV Infektionen im Zusammenhang mit dem Auftreten von Plattenepithelkarzinomen gebracht (Scully und Bagan 2009). Die Rolle der HPV bei der Karzinogenese ist noch nicht vollständig geklärt, jedoch gilt eine durch sie induzierte Deaktivierung von Tumorsuppressorgenen als wahrscheinlich. Es wird angenommen, dass die viralen Onkoproteine E6 und E7 für die karzinogene Wirkung verantwortlich sind. Sie deaktivieren die Tumorsuppressorgene p53 und pRb, verlangsamen dadurch die Zelldifferenzierung und sind somit für die Zelltransformation und -proliferation essenziell (Smith et al. 2010). Durch die Infektion kommt es zur Degradierung vom p53 und zur Hochregulierung des p16. Bei einer Inaktivierung von pRb durch das virale Onkoprotein E7 kommt es zu einer Überexpression von P16 (Marur et al. 2010, Rietbergen et al. 2013). Demzufolge greifen die Viren in den Zellzyklus ein und begünstigen die Entstehung vom oralen Plattenepithelkarzinom (Gillison 2000). Eine aktuelle Arbeit aus dem Jahr 2016 zeigt jedoch, dass lediglich 5% der untersuchten oralen Plattenepithelkarzinome eine HPV Infektion aufweisen (Götz, Drecoll et al. 2016). Weitere jedoch untergeordnete Risikofaktoren sind berufliche Noxen wie Farben, Lacke, Lösungsmittel, Asbest und andere Stäube (Gustavsson et al. 1998, Wang et al. 2009).

### 1.3 Therapie vom oralen Plattenepithelkarzinom

Das Mittel der Wahl bei der Behandlung eines Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle ist die chirurgische Entfernung des Tumors. Die Resektion erfolgt en bloc mit einem Sicherheitsabstand von 10-15mm (Woolgar und Triantafyllou 2009). Sind zervikale Lymphknoten nachgewiesen, ist die Neck dissection die chirurgische Standardtherapie. Aktuell wird ein modifiziert radikales oder selektives Vorgehen durchgeführt, indem die Lymphknotenausräumung der Level I bis V erfolgt. Eine radikale Neck dissection mit Resektion von M. sternocleidomastoideus, N. accessorius und V. jugularis erfolgt nur bei sehr ausgedehnten zervikalen Lymphknotenmetastasen und bei Infiltration dieser Strukturen. Es wird zunächst von okkulten Lymphknotenmetastasen ausgegangen, sodass bei jeder Neck dissection die Level I bis III ausgeräumt werden (Robbins et al. 2002, Chen 2010, Hullmann und Reichert 2011, Harisinghani 2013). Entscheidend für den Umfang der Lymphknotenausräumung sind die betroffenen Lymphstationen. Ist Level 1-5 betroffen, findet eine modifizierte Ausräumung statt (Iype et al. 2008). Nachhaltig verbesserte Möglichkeiten der Diagnostik und die Einführung der Mikrochirurgie in das Fachgebiet brachten keine deutliche Erhöhung der 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit (Doz et al. 1994, Wolff 2010). Es wird ein einzeitiges chirurgisches Verfahren angestrebt. Sowohl die Entfernung des

Tumors als auch die Rekonstruktion des Hart- und Weichgewebes erfolgt in einer Operation. Nicht selten findet man eine Tumoradhärenz an den Unterkieferknochen. Ist das Periost infiltriert oder penetriert, ist eine Unterkieferresektion indiziert (Frerich 2010). Nach dem chirurgischen Eingriff können entstandene Defekte durch eine Vielzahl von Möglichkeiten behandelt werden. Bei kleinen Weichteildefekten werden Verschiebelappen aus den umliegenden Regionen genutzt. Zur Auswahl der Defektdeckung nach der Tumorentfernung werden die Patienten je nach Alter und ASA- Score in 3 Kategorien eingeteilt. Kategorie A umfasst die Patienten unter 50 Jahren und ASA I. Kategorie B beinhaltet Patienten zwischen 50 und 60 Jahren und ASA II-III. Kategorie C vereint Patienten über 60 Jahre und ASA  $\geq$  III. Für die Kategorie A sind mikrochirurgische Transplantate empfohlen, wie beispielsweise das Radialistransplantat. Für Kategorie B sollten entweder mikrochirurgische Transplantate oder gestielte Lappen zur Defektdeckung herangezogen werden. Schließlich sind für die Kategorie C ausschließlich gestielte Lappen empfohlen, beispielsweise der Pectoralis- major- Lappen (Wolff et al. 2012). Neben der TNM- Klassifikation entscheidet die erfolgte Resektion über die postoperative Bestrahlung. Ist der Tumor nicht vollständig mit Sicherheitsabstand entfernt, sowie bei jedem Tumorstadium schlechter als pT2, pN1, besteht die Indikation einer Bestrahlung. Ebenfalls wird bei einer R1 Resektion eine Radio-/ Chemotherapie erfolgen. Bei einer R2 Resektion wird je nach Zustand des Patienten eine Radio-/ Chemotherapie oder Radio-/ Immuntherapie veranlasst. Weitere Bestrahlungsparameter sind die Lymphknotenkapselruptur und Lymphagiosis carcinomatosa (Glöggler 2008). Generell werden Patienten mit einem fortgeschrittenen Stadium der Tumorerkrankung postoperativ einer Radiatio unterzogen (Wolff et al. 2012). Eine Radiatio führt aus Sicht der Tumorprogression dazu, dass die Expression des EGFR erhöht wird und blockiert die Zielzellen vom EGFR. Der EGFR ist eine membranständige Rezeptorproteinkinase. Mit Hilfe von mehreren Liganden bildet es ein Homo- bzw. Heterodimer. Durch Autophosphorylierungsprozesse werden bestimmte Signalkaskaden initiiert. Im Ergebnis werden das Zellwachstum stimuliert und der apoptotische Zelltod verhindert. Nachweislich ist die Aktivität des EGFR bei Plattenepithelkarzinomen erhöht. Cetuximab ist ein monoklonaler Ig1 Antikörper und bindet an die Ligandenbindungsstelle des EGFR, sodass die Wirkung der Bestrahlung verstärkt wird (Bonner et al. 2006). Bei inoperablen Tumoren, d.h. wenn der Defekt des Knochens und Weichgewebes nach chirurgischer Entfernung des Tumors funktionell inakzeptabel für den Patienten ist, besteht die Indikation für eine Radiotherapie oder simultane Radio- /Chemotherapie. Ebenfalls kann bei großen Rezidivtumoren und inoperablen Tumoren ein chirurgischer Palliativeingriff erfolgen. Sind die chirurgischen und radiotherapeutischen Optionen ausgeschöpft, kann palliativ eine chemotherapeutische Monotherapie veranlasst werden (Glöggler 2008). Die Bedeutung derartiger additiver Biomarker, wie beispielsweise der

oben beschriebene EGFR und weiterer Tumormarker werden im nachfolgenden Abschnitt im Detail erläutert.

#### 1.4 Biomarker

Der Gedanke über Biomarker bei Mundhöhlenkarzinomen ist nicht neu. Ende der 80er, Anfang der 90er Jahre des vergangenen Jahrhunderts boten sich eindeutig faszinierende Möglichkeiten der additiven prognostischen Aussagen in Form des sogenannten TPI (therapieabhängiger Prognoseindex) an (Platz et al. 1983). Zum jetzigen Zeitpunkt sind Prognoseparameter zu denen die klinischen Faktoren wie Tumorlokalisierung, -größe und Tumorstadium gehören (Eiband et al. 1989, Tytor und Olofsson 1992) und patientenbezogene Faktoren etabliert. Dazu zählen das Alter und Geschlecht der Patienten, das Konsumverhalten von Alkohol und Tabak und der Hämoglobinwert im Hinblick auf den Therapieerfolg bei Strahlentherapie (Bagnardi et al. 2001, Silva et al. 2007). Als weitere Prognoseparameter gelten histomorphologische Faktoren wie der Differenzierungsgrad, der Kapseldurchbruch der Tumorzellen in die Lymphknotenmetastase, Tumordicke, Tumorzellinfiltration in Blutgefäße, Lymphspalten und des Perineuriums und der Resektionsstatus (Jacobs et al. 1993, Noguchi et al. 1999, Shingaki et al. 2003, Sutton et al. 2003). Zu den neuartigen Prognosefaktoren zählen molekulare Marker. Diese können wie folgt kategorisiert werden:

- Zellzyklusacceleratoren und Proliferationsmarker (z. B. EGFR)
- Tumorsuppressor und Apoptosemarker (z. B. p53)
- Angiogenesemarker (z. B. VEGFR)
- Adhäsionsmoleküle und Matrixdegeneration (z. B. MMPs) (Schliephake 2003).

In Anlehnung an Wittekind, sollte ein Prognosefaktor eine Variable sein, die unabhängig von anderen den Krankheitsverlauf beeinflusst. Man unterscheidet patientenabhängige (Alter, Geschlecht, Immunstatus, Begleiterkrankungen) und tumorabhängige Prognosefaktoren (anatomische Ausbreitung, histologischer Typ, Differenzierungsgrad, Proliferationsverhalten) (Wittekind et al. 2001). Als allgemeines Kriterium für einen Prognosemarker gilt die Sensitivität bei der Diagnose eines Tumors sowie eines Rezidivs. Diesbezüglich sollte dieser den klinischen Verlauf skizzieren und das Ansprechen auf die Therapie vorhersagen. Momentan gelten Tumorgöße, ein positiver Halslymphknotenstatus, perineurale Tumordinfiltration und Lymphknotenmetastasen mit Kapseldurchbruch als anerkannte und in der klinischen Routine auch angewandte Prognosefaktoren bei oralen Plattenepithelkarzinomen hinsichtlich der Rezidivgefahr und der Entstehung von Fernmetastasen. Derzeit mangelt es jedoch an Prognosemarkern, die Risikopatienten vor einem chirurgischen Eingriff filtern, um eine

entsprechende individuelle Therapie abzuleiten (Lehnerdt et al. 2010). Dies sind in der Regel Faktoren, die auf molekularer Ebene untersucht werden und im Fokus der Wissenschaft stehen. In einem Review von Schliephake aus dem Jahr 2003 wurden 129 Artikel ausgewertet. 29 verschiedene Marker wurden einer Relevanz beim Mundhöhlenkarzinom zugesprochen. Im Detail zeigte sich, dass 12 von 23 Studien, die der Kategorie Zellzyklusaccelatoren und Proliferation zu zuordnen sind, ein signifikantes Ergebnis bezogen auf die Prognose zeigten. Aus der Kategorie Tumorsuppression und Apoptose wiesen 20 von 29 Studien einen signifikanten Zusammenhang bezüglich der Expression und der Prognose auf (Schliephake 2003). Eine Untersuchung von 2006 analysierte die Biomarker EGFR, p53 und Angiogenemarker und kam zu dem Ergebnis, dass der Zusammenhang von den genannten Biomarkern und der Entstehung vom oralen Plattenepithelkarzinom gegeben ist, aber im klinischen Bereich bisher keinen Einzug fand (Lothaire et al. 2006). Relativ viel ist mittlerweile beim Pathway der Tumorphoxie bekannt. Somit gelten derzeit die hypoxieabhängigen Proteine HIF 1 alpha und GLUT-1 als gesicherte additive prognostische Faktoren beim Mundhöhlenkarzinom und haben eine entscheidende Funktion bei der Tumorprogression und dem Therapieansprechen (Eckert et al. 2012).

### 1.5 Bestandteile des Plasminogen- Aktivierungssystems

Der Zusammenhang des Plasminogen- Aktivierungssystems und der Prognosekalkulation beim Mundhöhlenkarzinom ist bis jetzt noch nicht ausreichend untersucht. Das Plasminogen-Aktivierungssystem besteht aus Plasmin, seinem Vorläufer Plasminogen, den beiden Aktivatoren urokinase-type plasminogen activator (uPA) und tissue-type plasminogen activator (tPA), dem uPA- Rezeptor (uPAR) sowie den beiden Inhibitoren plasminogen activatorinhibitor type-1 und type-2 (PAI-1, PAI-2) (Andreasen et al. 1997, Andreasen et. al. 2000). Plasmin ist eine Serinprotease. Es besteht aus zwei Polypeptidketten, die über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Typisch für Serinproteasen ist das C- terminale Ende, an dem Katalysatoren oder Inhibitoren binden. Am N- terminalen Ende befinden sich fünf Kringledomänen (Andreasen et al.1997, Andreasen et. al 2000). UPA ist ebenfalls eine Serinprotease und besteht aus zwei Polypeptidketten, die ebenso über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Neben dem C- terminalen Ende, hängt am N- terminalen Ende eine Kringledomäne und eine growthfactor Domäne. Auch uPA hat eine Vorstufe, das sogenannte single chain uPA (Andreasen et al. 1997, Andreasen et al. 2000). UPAR ist ein stark glykolisiertes Protein, das überwiegend durch einen Glykosyl- Phosphatidyl- Inositol- Anker an der Zellmembran gebunden ist (Andreasen et al. 1997, Andreasen et al. 2000). Die Inhibitoren des Plasminogen-Aktivierungssystems PAI- 1 und PAI- 2 gehören zur Familie der Serinprotease inhibitors, der sogenannten SERPINE. An ihrer Oberfläche besitzen sie einen reactive center peptide loop mit

einem reactive center peptid bond. Diese Bindungsstelle dient dafür von der aktiven in die reaktive Form zu wechseln, indem sich die Targetenzyme daran binden (Andreasen et al. 1997, Andreasen et al. 2000).

### 1.6 Funktionen des Plasminogen- Aktivierungssystems

Die Funktion des Plasminogen- Aktivierungssystems ist komplex. In Abbildung 1 ist schematisch dargestellt, wie der uPAR- Rezeptor inaktives uPA bindet. Durch die Bindung wird uPA in eine aktive Form überführt. Während dieser Konvertierung wird die Bildung von Plasmin aus seiner Vorstufe Plasminogen angeregt. Somit hat uPA Einfluss auf die perizelluläre Proteolyse (Shi und Stack 2007).

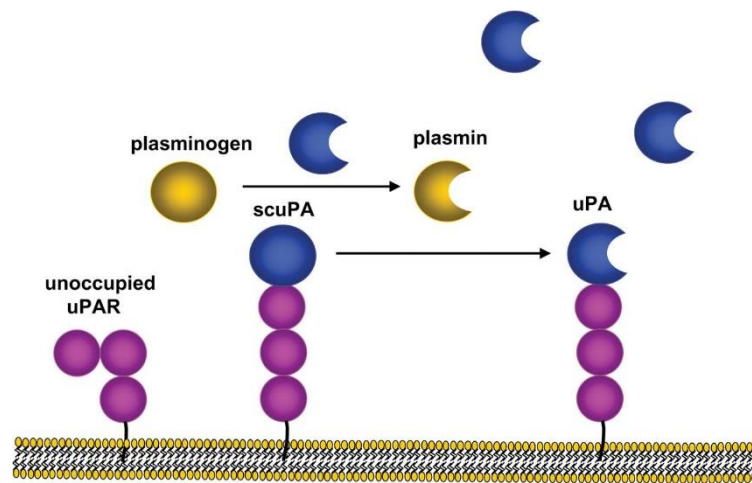


Abbildung 1 Der Zusammenhang zwischen uPA und uPAR und die Aktivierung von Plasmin (Shi und Stack 2007)

Nachfolgend soll auf die Aktivierungskaskade des uPA/ uPAR- Systems näher eingegangen werden. Gemäß Abbildung 2 kann man die Aktivitäten des uPA/ uPAR- Systems folgendermaßen formulieren:

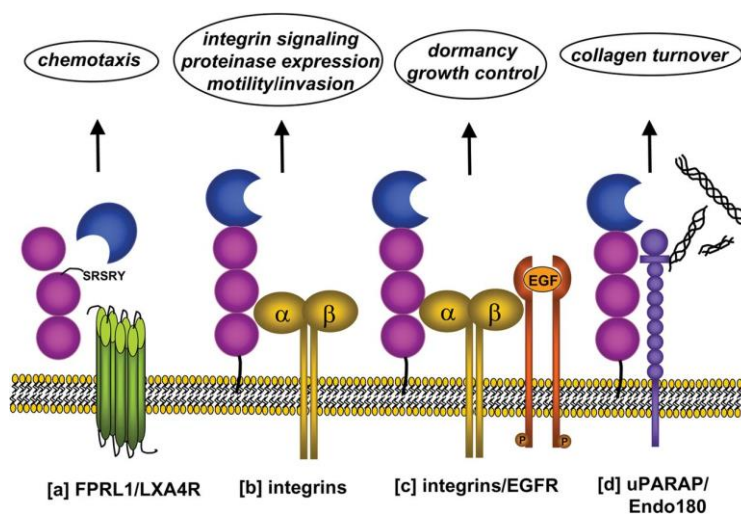


Abbildung 2 Mögliche Bindungspartner von uPAR und Funktion des PAS- Systems in der Tumorprogression (Shi und Stack 2007)

Die Bindung von uPA an seinen Rezeptor uPAR führt zur Spaltung des Rezeptors. Dadurch zeigt sich ein Pentapeptid (SRSRY), welches mit dem FPRL 1 Rezeptor interagiert. Dementsprechend wirkt dieser Komplex als chemotaktischer Agonist [a in Abb. 2].

Durch die Bindung von uPA an seinen Rezeptor uPAR, ist dieser Komplex in der Lage an Integrine zu binden. Dieses Zusammenspiel hat Einfluss auf die Expression von Proteinasen [b in Abb. 2]. UPAR- Integrin- Komplexe können an EGFR Liganden binden und somit die Proliferation des Tumors beeinflussen [c in Abb. 2].

Durch die Bindung an defektes Kollagen, hervorgerufen durch Kollagenasen, hat der uPA- uPAR- Komplex Einfluss auf die Endozytose und den Abbau von Kollagen [d in Abb. 2] (Shi und Stack 2007)

Letztlich können folgende essentielle Schritte im Rahmen der Tumorprogression formuliert werden [Abb. 3]:

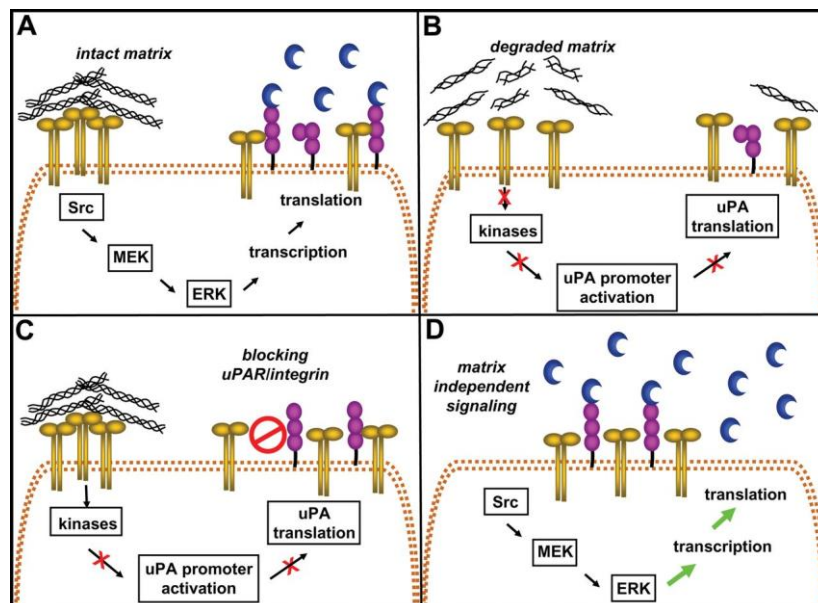


Abbildung 3 Der Zusammenhang zwischen Integrin und uPAR im gesunden und im malignen Gewebe (Shi und Stack 2007)

Im gesunden Gewebe sind Integrine dafür verantwortlich, die uPA Produktion und die Umverteilung von uPAR durch bestimmte Kinasen zu steuern [A in Abb. 3].

Sind defekte Matrixbestandteile perizellulär, verlieren die Integrine ihren Stimulus, die uPA-Produktion zu kontrollieren [B in Abb. 3].

Durch eine Blockade des uPAR -/ Integrin- Komplexes, beispielsweise durch mutierte Integrine, welche keine Bindungsstelle für uPAR besitzen, resultiert eine verminderte Expression von uPA [C in Abb. 3].

In hochinvasiven Zellen eines Plattenepithelkarzinoms zeigt sich eine hohe matrixunabhängige uPA Expression. Die Interaktion mit Integrin ist vollständig ausgeschaltet [D in Abb. 3] (Shi und Stack 2007).

### 1.7 Plasminogen- Aktivierungssystem und Mundhöhlenkarzinom

In den letzten Jahren wurde das Plasminogen- Aktivierungssystem in einigen Studien auf dem Zusammenhang zwischen der Tumorentstehung eines oralen Plattenepithelkarzinoms und dem Verhalten des Tumors untersucht (Nozaki et al. 1998). UPA und PAI könnten in der Diagnostik vom oralen Plattenepithelkarzinom eine bedeutende Rolle spielen, um eine individuelle Therapie von betroffenen Patienten planen zu können (Zeilhofer et al. 1997). Dass die Überlebenschancen mit erhöhter Konzentration von uPAR und PAI im oralem Tumorgewebe signifikant geringer ist, wies eine Studie aus dem Jahr 2014 nach (Magnussen et al. 2014). Demnach ist uPAR heterogen im Tumor verteilt. Meist befindet es sich in der Nähe von hochdifferenziertem Gewebe und in der Nähe der Basalmembran (Magnussen et al. 2014). Das Invasionsverhalten des Tumors korreliert mit der Expression von uPA und uPAR im Tumorgewebe. UPA- positive Plattenepithelkarzinome im Kopf/ Hals Bereich waren gleichzeitig hoch invasiv und zeigten häufig Lymphknotenmetastasen (Nozaki et al. 1998). 2008 zeigte eine Veröffentlichung, dass die uPAR Expression mit dem Differenzierungsgrad des Tumors korreliert. Über 70% positiver uPAR Präparate zeigten eine schlechte Differenzierung (G3) (Bacchiocchi et al. 2008). Eine weitere Studie belegt, dass uPA und PAI eine entscheidende Rolle im Prozess der Metastasierung spielen. Patienten mit erhöhter uPA oder PAI Konzentration im Primärtumor besitzen ein erhöhtes Risiko, ein Rezidiv zu entwickeln (Zeilhofer et al. 1999). Eine weitere Arbeit in diesen Kontext ist jene von Yoshizawa und Koautoren. Sie stellten fest, dass je undifferenzierter das Tumorgewebe ist, desto höher ist die uPAR Expression in den Tumorzellen. Er erweiterte das Wissen dahingehend, indem er nachwies, dass sich der Tumor umso aggressiver verhält je höher die Konzentration von uPA und uPAR im Tumorgewebe ist (Yoshizawa et al. 2011).

## 2 Zielsetzung

Das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle gehört zu den 10 häufigsten Tumorerkrankungen in Deutschland (Katalanic 2013). Die Hochrechnung des Robert Koch Instituts prognostiziert für das Jahr 2016 eine Neuerkrankungsrate von 9900 bei Männern und 3900 bei Frauen (Robert-Koch-Institut).

Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle zeigen seit Jahren eine geringe 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von etwa 50%. Fällt die Diagnose, bedeutet dies für die Patienten, dass ein umfassender chirurgischer Eingriff notwendig wird. Oft kommt es in Folge der Operation zur Reduktion der Lebensqualität und zu Funktionseinschränkungen im Mund- und Rachenraum (Wiltfang et al. 2003). Trotz der vollständigen chirurgischen Entfernung des Tumors ist die hohe Rezidivquote verantwortlich für die schlechte Prognose. Demnach besteht der Wunsch, molekulare Zusammenhänge zwischen der Entstehung des Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle und seinem pathobiologischen Verhalten zu verstehen, um die Behandlung individueller und effektiver gestalten zu können (Braakhuis, B J M et al. 2012).

Momentan erfolgt die Abschätzung der Überlebenswahrscheinlichkeit mit Hilfe des TNM-Systems nach den Vorgaben des American Joint Committee on Cancer (AJCC) bzw. der Union Internationale Contre Le Cancer (UICC). Es gilt seit den 1970er Jahren als der Prognosefaktor bei Tumorerkrankungen (Lehnerdt et al. 2010). Mit dieser stichwortartig zusammengefassten Methode wird sowohl das Ausmaß der Tumorerkrankung als auch die Tumorprogression zu diesem Zeitpunkt zusammengefasst (Greene et al. 2006). Zudem wird die Behandlungsplanung von der TNM- Klassifikation abgeleitet.

Aktuell wird das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle primär chirurgisch behandelt. Darüber hinaus sind die alleinige Bestrahlung oder in Kombination mit einer Chemotherapie (Radiochemotherapie) etabliert (Wolff 2010). In anderen Fachgebieten ist es bereits etabliert, dass Tumorgewebe auf eine Expression bestimmter Proteine im Gewebe zu untersuchen (Zeilhofer et al. 1997). Diese sogenannten Tumormarker könnten auch beim oralen Plattenepithelkarzinom einen Durchbruch erzielen und die Therapie individueller gestalten, sodass die Überlebenswahrscheinlichkeit möglicherweise verbessert werden kann. Vielversprechend ist im Falle des Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle das Plasminogen-Aktivierungssystem (Zeilhofer et al. 1997, Nozaki et al. 1998, Hundsdorfer et al. 2005, Bacchiocchi et al. 2008, Yoshizawa et al. 2011, Magnussen et al. 2014). Dieses recht komplexe



System ist in der Lage, zahlreiche Signaltransduktionen zu initiieren und nachfolgend entscheidende zelluläre Adaptationsprozesse zu stimulieren (Shi und Stack 2007).

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss des Plasminogen- Aktivierungssystems auf die Entstehung des oralen Plattenepithelkarzinoms zu untersuchen. Im Fokus stand, ob es Zusammenhänge zwischen dem TNM- Stadium, Grading, der Überlebenswahrscheinlichkeit und der Expression der Proteine uPA und PAI gab. Darüber hinaus galt es zu klären, ob die Proteine als unabhängige additive Prognosefaktoren bei Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle genutzt werden könnten.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Patienten

Die für die Arbeit verwendeten Tumorschnitte stammen alle von Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle aus der Klinik für Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg aus den Jahren zwischen 1998 und 2003. Bei der Auswahl der Patienten wurde darauf geachtet, dass ein 5-jähriger Nachbeobachtungszeitraum erreicht wurde. Folgende klinische Parameter wurden bei allen Patienten erhoben: Alter, Geschlecht, Zeitpunkt der Diagnosestellung durch eine Probeentnahme sowie die Noxen Alkohol und Nikotin. Des Weiteren wurde das TNM Stadium nach den aktuellen Richtlinien des American Joint Committee on Cancer erhoben. Ferner wurden das Auftreten von Rezidiven, das eventuelle Vorhandensein von Rezidivtumoren, die histologische Differenzierung, der etwaige Todestag und die Todesursache erfasst. Alle genannten Parameter wurden eindeutig in einer SPSS 20.0- Datenbank zusammengeführt und statistisch ausgewertet.

### 3.2 Immunhistochemische Färbung

Aus dem entnommenen Tumorgewebe der jeweiligen Patienten wurden zur Archivierung Paraffinblöcke hergestellt. Anschließend wurden Schnittpräparate erstellt und auf Objektträgern fixiert. Es schloss sich daran eine Standard- Immunhistochemie an. Die Präparate wurden demnach nach einer indirekten Methode gefärbt. Dabei bindet ein unkonjugierter Primärantikörper an das Antigen. Darauffolgend wird ein zweiter markierter Sekundärantikörper appliziert, der gegen den Primärantikörper (jetzt das Antigen) gerichtet ist. Sichtbar wurde das Ausmaß der Bindung der Antikörper durch eine Färbelösung. Somit konnte eine semiquantitative Auswertung unter dem Lichtmikroskop erfolgen. Die verwendeten Antikörper stammen von der Firma Sekisui Diagnostics (Boenisch und Henne 2003).

Im Detail beinhaltet die Färbung folgende Schritte:

- 2- maliges 10-minütiges Bad in Xylene
- 10- minütiges Bad in Methanol
- 10- minütiges Bad in 100%, 95%, 75%, 50% und 25% Ethanol (verdünnt mit PBS)
- 30- minütiges Bad in 10% normal goat serum
- 3- maliger Waschgang mit PBS
- 60- minütige Inkubation des Antikörpers in einer 1:25 Verdünnung mit 0,15M PBS und 1%BSA
- 3- maliger 5- minütiger Waschgang mit PBS

- 30- minütige Inkubation mit dem konjugierten goat- anti- mouse IgG Antikörper
- 3- maliger 5- minütiger Waschgang mit PBS
- Inkubation mit der Substratlösung für maximal 10 Minuten
- maximal 3- maliger Waschgang mit destillierten Wasser
- Gegenfärbung mit Hämalaun- Eosin

### 3.3 Auswertung der immunhistochemischen Untersuchungen

Zur Auswertung der immunhistochemischen Färbungen wurde der immunreaktive Score nach Remmele und Stegner herangezogen. Die Kriterien dieses Verfahrens sind in der folgenden Tabelle 1 zusammengefasst (Remmele und Stegner 1987).

*Tabelle 1 Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner*

Anzahl der gefärbten Zellen	Punkte	Färbeintensität	Punkte
Keine pos. Zellen	0 Punkte	keine Färbeintensität	0 Punkte
10% pos. Kerne	1 Punkt	schwache Färbeintensität	1 Punkt
10-50% pos. Kerne	2 Punkte	mäßige Färbeintensität	2 Punkte
51-80% pos. Kerne	3 Punkte	Starke Färbeintensität	3 Punkte
80% pos. Kerne	4 Punkte		

Aus dem Produkt der Punkte der gefärbten Zellen und der Punkte der Färbeintensität ergibt sich der IRS Score. Er beträgt mindestens 0 und maximal 12.

Sämtliche Auswertungen erfolgten unter dem Lichtmikroskop bei einer 100- bzw. 200-fachen Vergrößerung. Dieser Teil der Arbeit wurde fachlich vom pathologischen Institut der Martin-Luther- Universität Halle- Wittenberg durchgeführt. Der Pathologe hatte weder Kenntnis über die Patienten noch deren Krankheitsverlauf. Bei der lichtmikroskopischen Auswertung von PAI wurde zwischen cytoplasmatisch und nukleärer Expression unterschieden.

### 3.4 Statistik

Die bereits erwähnten patho- histologischen Parameter wurden in die Datenbank inkludiert und mit Hilfe des Statistik Programms SPSS 20.0 ausgewertet. Der Zusammenhang der Expression des Proteins und den klinisch pathologischen Parametern erfolgte mittels Chi<sup>2</sup>- Tests. Die Überlebenswahrscheinlichkeiten der Patienten konnte anhand der Kaplan- Meier Analysen verglichen werden. Zwecks Überprüfung einer Korrelation zwischen den Überlebenswahrscheinlichkeiten und den jeweiligen Proteinexpressionen wurde die multivariate Cox Regressionsanalyse (adjustiert nach T-, N-Stadium und dem Grading) herangezogen. Zudem wurde nachgewiesen, ob das jeweilige Protein als unabhängiger

Prognosemarker gewertet werden kann. Bei allen Betrachtungen des Signifikanzniveaus galten Werte  $p < 0,05$  als signifikant.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Patienten

Für die Studie wurden insgesamt 55 Patienten mit einem oralen Plattenepithelkarzinom berücksichtigt. Das Patientengut teilte sich in 24% [13] Frauen und 76% [42] Männer auf. Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung war der jüngste Patient 23 Jahre alt und der älteste 88 Jahre alt. Das Durchschnittsalter betrug 57,7 Jahre. Die überwiegende Mehrheit der Patienten war somit zwischen 50 und 69 Jahren. [ siehe Abbildung 4 und 5].

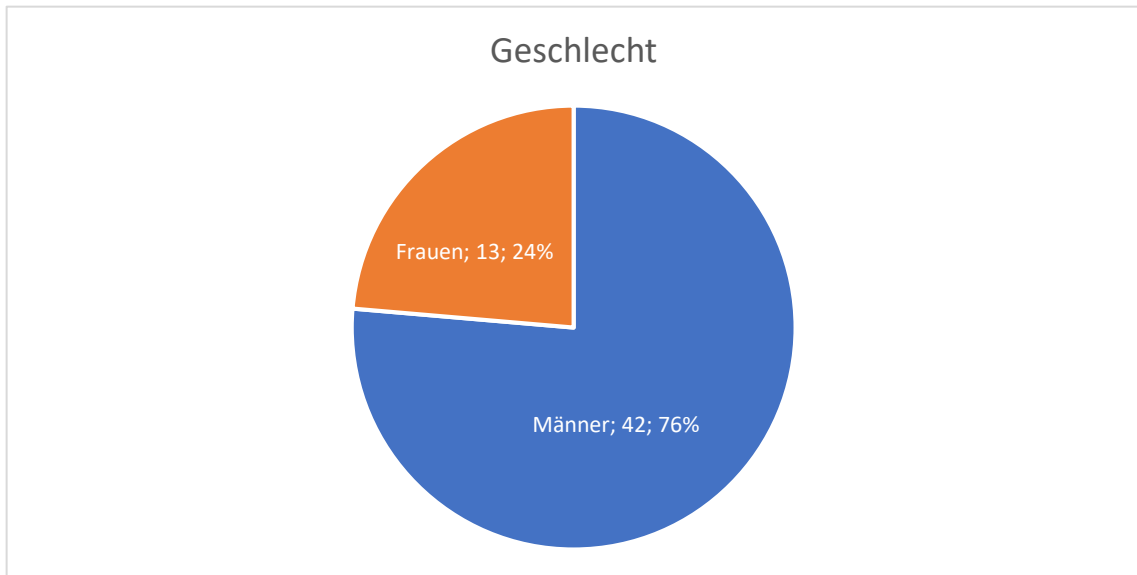


Abbildung 4 Verteilung des Geschlechts von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

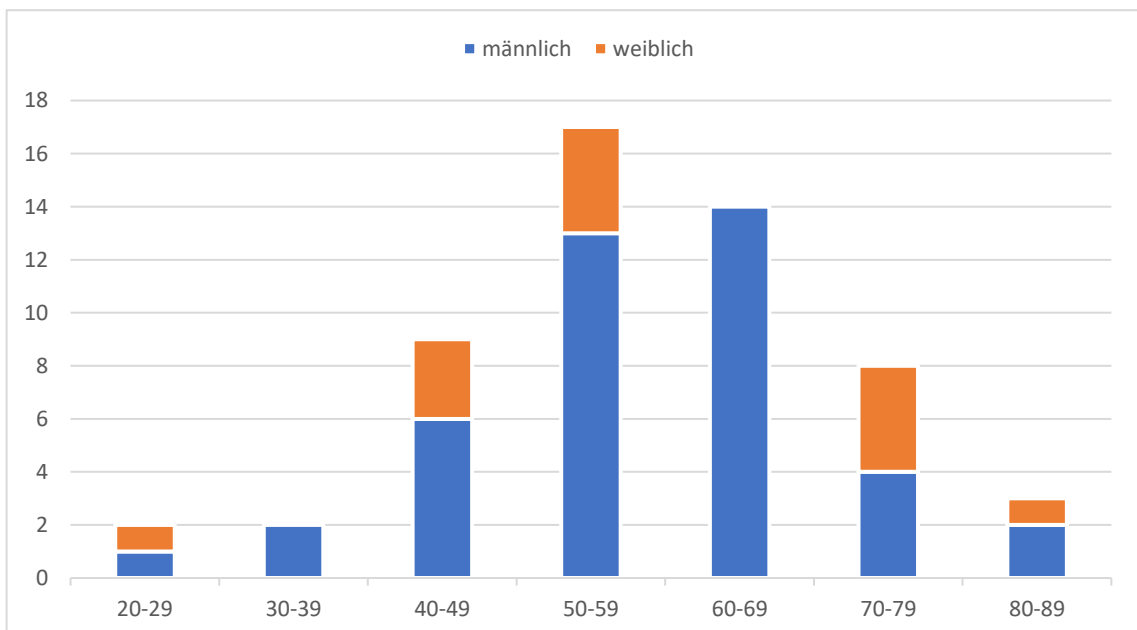


Abbildung 5 Alter und Geschlecht der Patienten in Jahren eingeteilt in Jahrzehnte bei 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

Neben dem Geschlecht war auch die Verteilung der T- Stadien von Interesse. Von 54 der 55 Patienten konnte das T- Stadium berücksichtigt werden. Betrachtet man die Abbildung 6 wird

deutlich, dass 56% [30] der Primärtumoren eine geringe Ausdehnung hatten (T1- und T2-Tumoren). Dem gegenüber steht, dass 35% [19] der Patienten ein Karzinom im fortgeschrittenen Stadium (T4) aufwiesen. T3- Tumoren fanden sich vergleichsweise selten [5 Patienten, 9%].

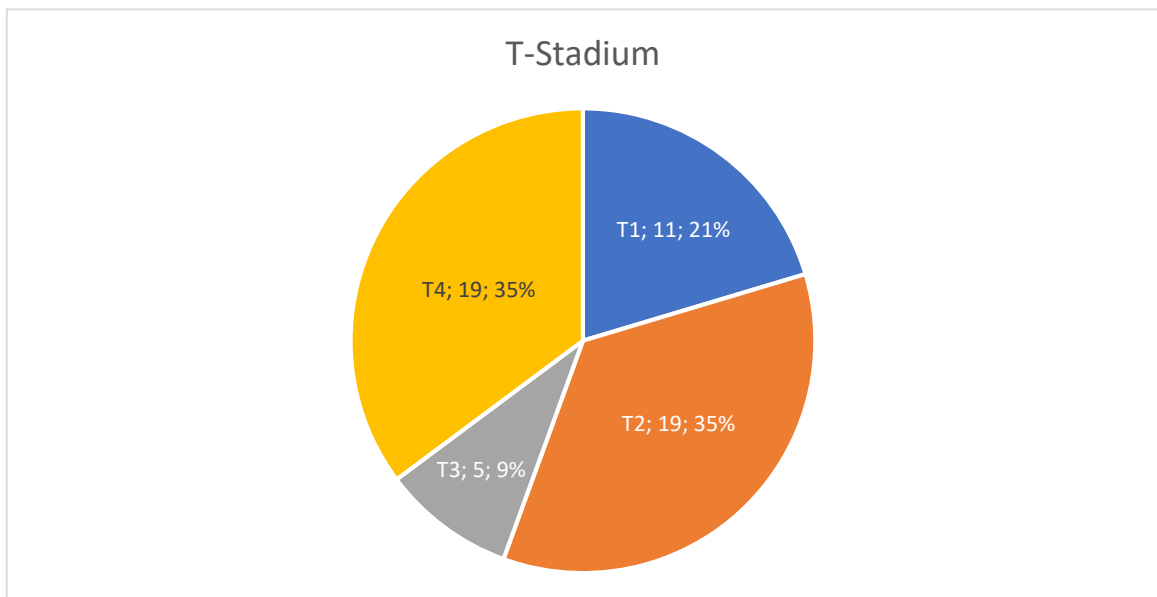


Abbildung 6 Verteilung der T- Stadien von 54 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

Bei den Betrachtungen des N- Stadiums konnte auf 52 Patientendaten zurückgegriffen werden und bei den Betrachtungen des M- Stadiums auf 54 Patientendaten [siehe Abbildung 7 und 8]. 25 von 52 [48%] vorliegenden Patientendaten zeigten keinen Lymphknotenbefall. Eine lymphonodale Metastasierung (N1 und N2) konnte bei 26 Patienten [50%] beobachtet werden. Bei lediglich 2% der beobachteten Patienten fand man das prognostisch ungünstigste N3-Stadium vor [siehe Abbildung 7].

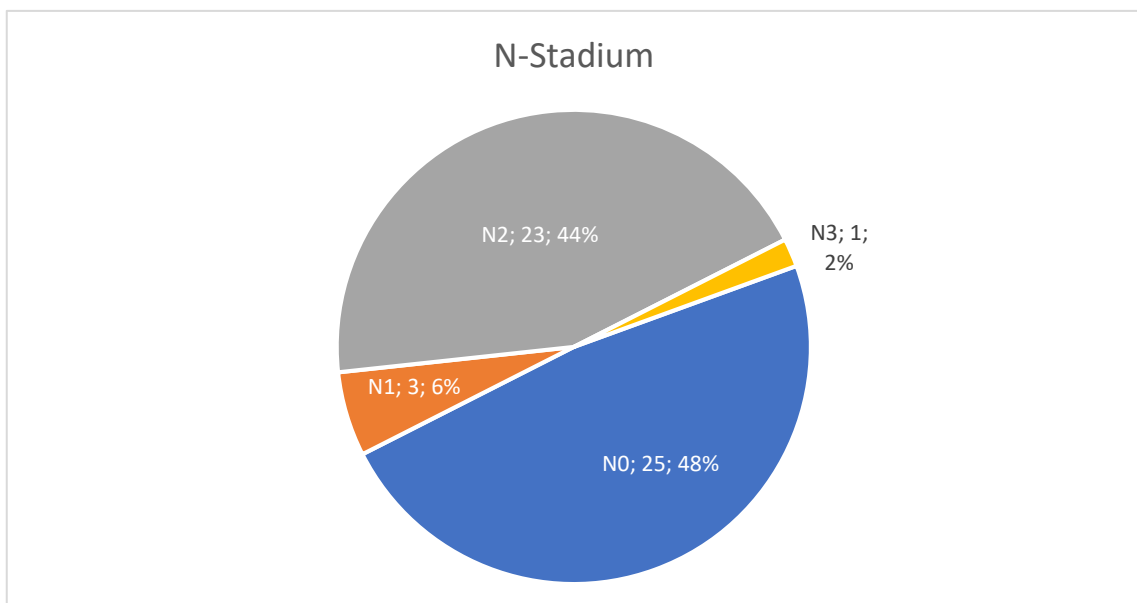


Abbildung 7 Verteilung der N- Stadien von 52 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

Basierend auf 54 Patientendaten kann man dem folgenden Kreisdiagramm die Verteilung des M- Stadiums der Patienten entnehmen. Durch das präoperative Staging der Patienten konnte festgestellt werden, dass 89% [48] der Erkrankten zu diesem Zeitpunkt keine Fernmetastasen aufwiesen. Bei 11% [6] der Patienten waren Fernmetastasen vorhanden [siehe Abbildung 8].

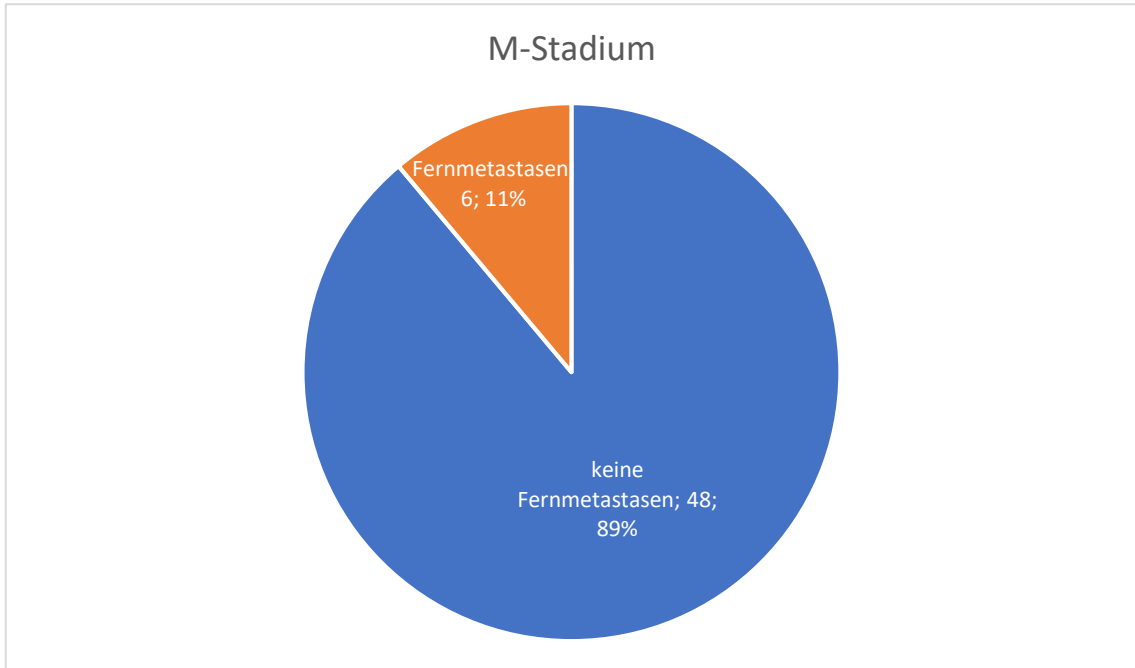


Abbildung 8 Fernmetastasen (M- Stadium) von 54 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

In Abbildung 9 ist der Differenzierungsgrad der Tumorpräparate schematisch dargestellt. Bei etwas mehr als der Hälfte (53%) der Patienten überwogen die gut bis mäßig differenzierten Plattenepithelkarzinome. Demzufolge hatten 26 der 55 berücksichtigten Patienten [47%] einen schlecht differenzierten Tumor.

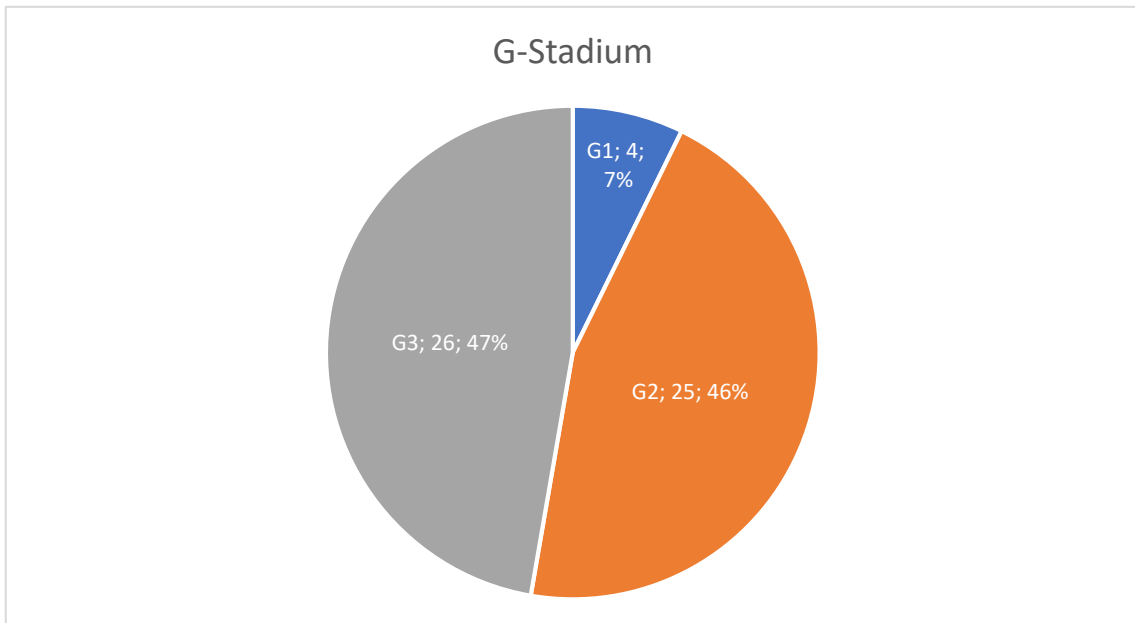


Abbildung 9 Differenzierungsgrad bei 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

Die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit für alle zur Studie herangezogenen Patienten lag bei 40 % [ siehe Abb. 10].

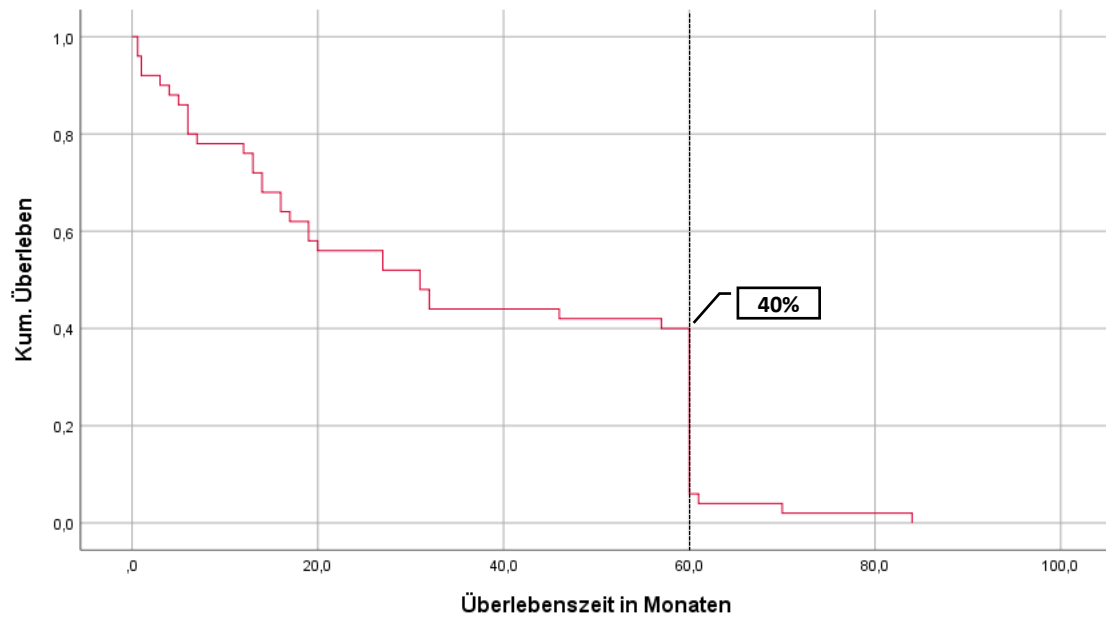


Abbildung 10 Kaplan- Meier Analyse, 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 55 Patienten



## 4.2 Immunhistochemische Färbung gegen PAI (cytoplasmatisch und nukleär) und uPA

### 4.2.1 PAI cytoplasmatisch

Der nächste Abschnitt gilt der Darstellung und Erläuterung der Zusammenhänge zwischen der Expression von PAI im Cytoplasma und den klinisch- pathologischen Parametern.

Aus der nachfolgenden Tabelle 2 geht hervor, dass 56% [31] der immunhistochemisch gefärbten Tumorpräparate gegen PAI (cytoplasmatisch) der Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle eine mäßig bis starke Expression von PAI (cytoplasmatisch) zeigten. Lediglich 10 von 55 Patienten zeigten eine negative Färbintensität [siehe Tabelle 2].

Tabelle 2 Anzahl der 55 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und PAI (cytoplasmatisch) Expression entsprechend dem IRS 0-12

Punkte	Färbintensität	Anzahl
0-2	negativ	10
3-4	schwach	14
6-8	mäßig	16
9-12	stark	15

Der Expression von PAI (cytoplasmatisch) wurde die 5- Jahres- Überlebenswahrscheinlichkeit gegenübergestellt [siehe Kaplan- Meier Analyse in Abbildung 11]. Dafür wurden die IRS Werte in 2 Gruppen eingeteilt. Die Gruppe 0 (blau) umfasst die IRS- Werte zwischen 0 – 6 und die Gruppe 1 (grün) die IRS- Werte zwischen 8- 12. Die 5- Jahres- Überlebenswahrscheinlichkeit der Gruppe 0 lag bei 53% und für Gruppe 1 bei lediglich 39%. In der univariaten Analyse konnte diesbezüglich keine Signifikanz festgestellt werden [ $p= 0,56$ , univariate Analyse].

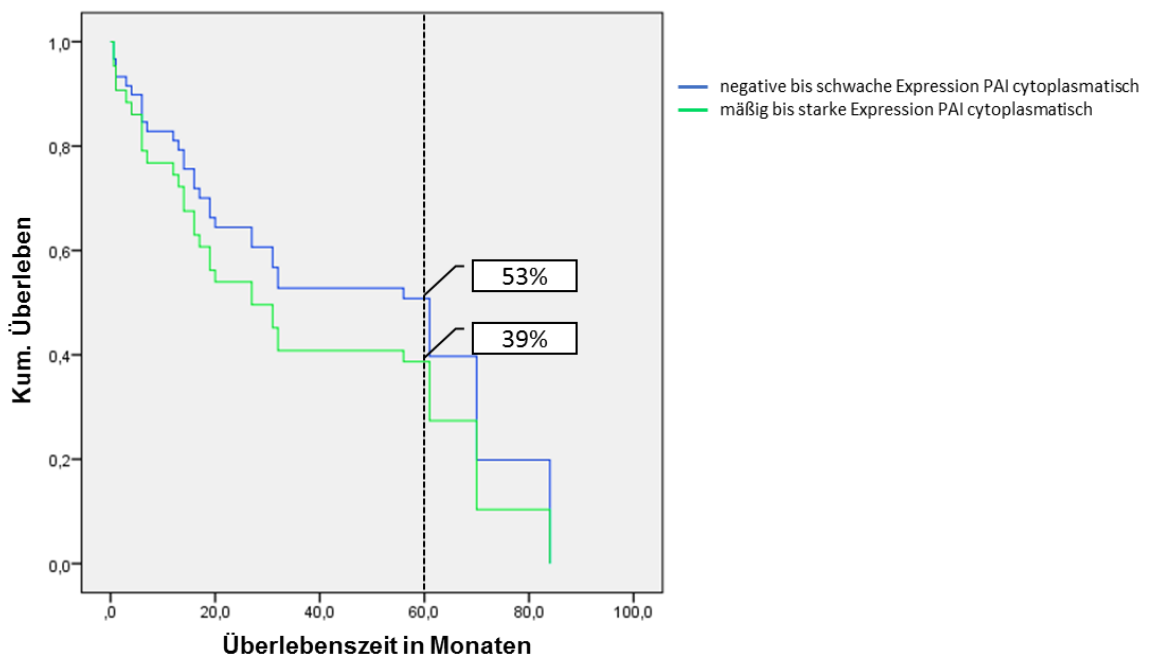


Abbildung 11 Kaplan- Meier Analyse für die Expression von PAI cytoplasmatisch von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

Weiter war die Verteilung des Geschlechts im Zusammenhang mit der Expression von PAI (cytoplasmatisch) von Interesse. Wie aus der vorangegangenen allgemeinen Grafik hervorging [siehe Abbildung 4], sind 76% der untersuchten Präparate von männlichen Patienten. Bei 23 männlichen Erkrankten [69%] fand man eine mäßig bis starke Expression von PAI (cytoplasmatisch). Die Quote der mäßig bis starken Expression lag bei den Frauen bei 46% [6] [siehe Abbildung 12]. Die statistische Auswertung zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der Expression des Proteins [ $p=0,75$ , Chi<sup>2</sup>-Test].

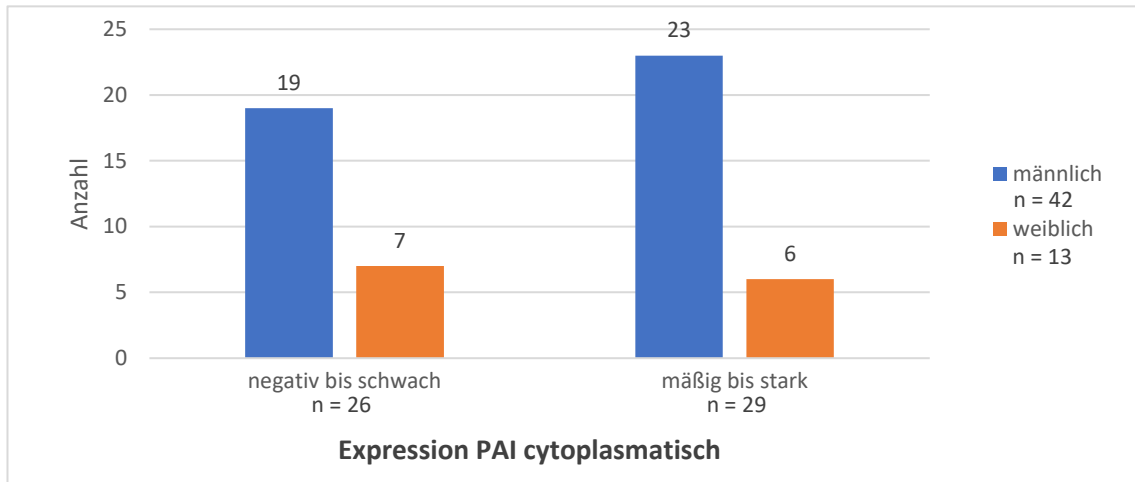


Abbildung 12 Verteilung des Geschlechts von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch

Zudem war es von Interesse, ob die Größe des Primär-Tumors (T- Stadium) mit der Expression von PAI (cytoplasmatisch) korreliert. Bei den kleineren Tumoren (T1 und T2) war eine schwache Expression von PAI (cytoplasmatisch) in 14 von 30 [46%] Fällen gegeben. Dementsprechend waren bei 54% eine mäßig bis starke Expression auffällig [16]. Bei den größeren Tumoren (T3 und T4) wiesen 11 von 24 [46%] eine negative bis schwache Expression von PAI cytoplasmatisch auf und 13 der 24 Präparate [54%] eine mäßig bis starke Expression von PAI (cytoplasmatisch).

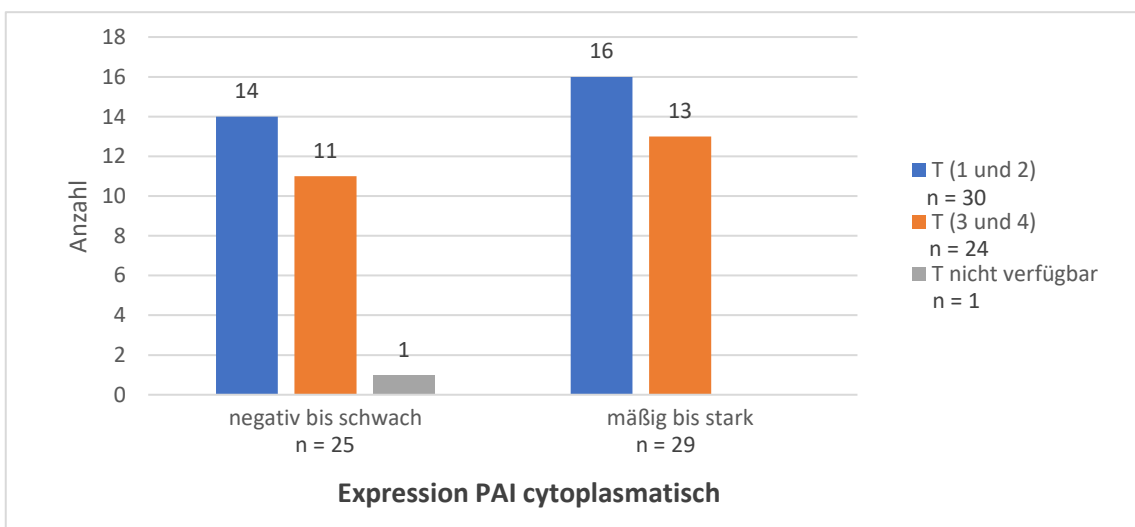


Abbildung 13 Verteilung des T- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch

Bei einem Präparat mit negativ bis schwacher Färbung war das T- Stadium nicht bekannt [siehe Abbildung 13]. Statistisch liegt kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression von PAI (cytoplasmatisch) und der Größe des Tumors vor [ $p=1,0$ , Chi<sup>2</sup>- Test ].

Betrachtet man den Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Lymphknotenmetastasen und der Expression von PAI (cytoplasmatisch) so wird deutlich, dass bei 24 Patienten mit schwacher Expression des Proteins 13 Patienten keinen Lymphknotenbefall hatten und 11 Patienten von Lymphknotenmetastasen betroffen waren. Ähnlich ist der Anteil der Lymphknotenmetastasen bei mäßig bis starker Expression von PAI (cytoplasmatisch). 12 Patienten von 28 hatten keine Metastasen in den Lymphknoten. Dem gegenüber steht, dass 16 Patienten von 28 mit mäßig bis starker Expression Metastasen vorwiesen. Prozentual hatten 52% der Präparate einen Lymphknotenbefall, wovon 59% eine mäßig bis starke Expression von PAI (cytoplasmatisch) zeigten. Von 2 Patienten mit negativer bis schwacher Färbung und von einem Patienten mit mäßig bis starker Färbung war das N- Stadium nicht bekannt [siehe Abbildung 14]. Die Verteilung zeigte keinen signifikanten Zusammenhang [ $p=0,58$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

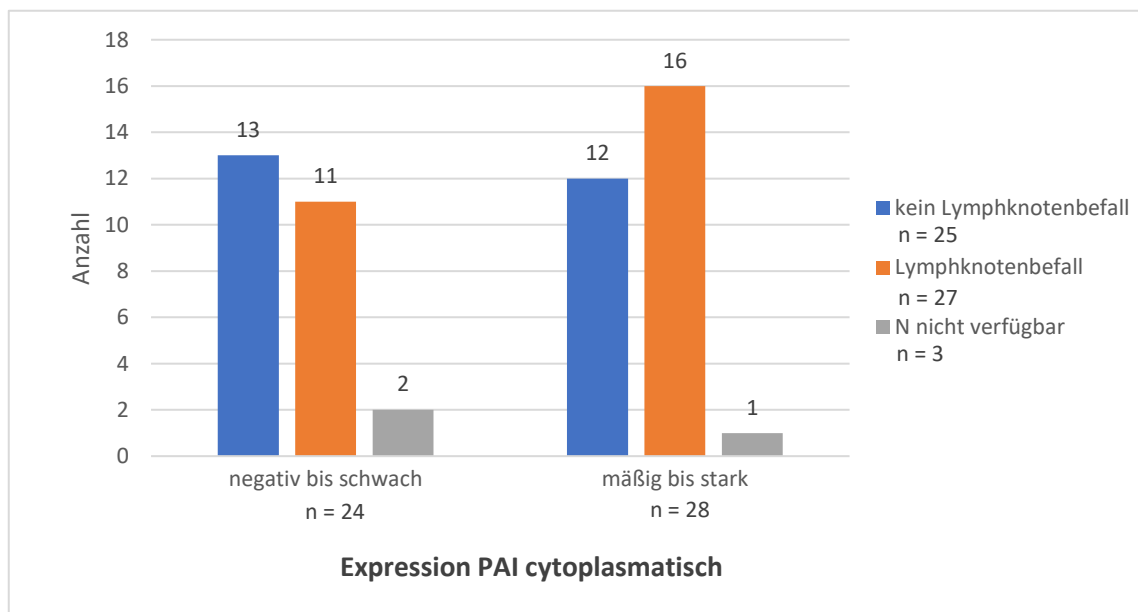


Abbildung 14 Verteilung des N- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch

In der folgenden Abbildung wird der Zusammenhang zwischen der Expression von PAI (cytoplasmatisch) und dem Vorhandensein von Fernmetastasen verdeutlicht. 48 der insgesamt 55 Patienten zeigten keine Anzeichen von Fernmetastasen. Bei 6 von 55 Patienten [11%] wurden Fernmetastasen nachgewiesen. Davon hatten 67% [4] eine mäßig bis starke Expression von PAI (cytoplasmatisch) [siehe Abbildung 15]. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht ebenfalls nicht [ $p=0,68$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

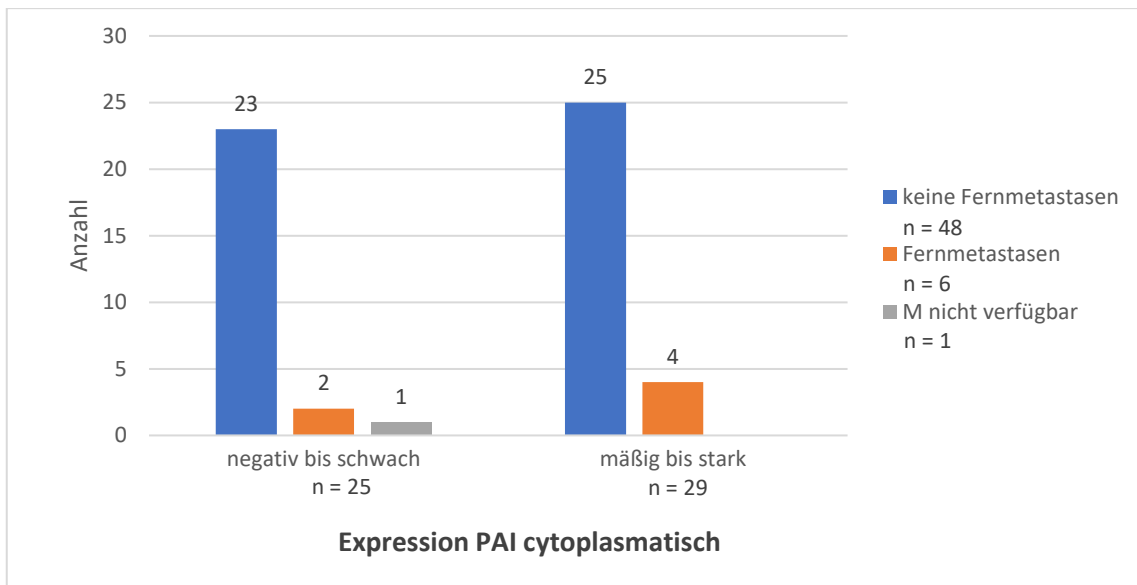


Abbildung 15 Verteilung des M- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch

In der unten aufgeführten Grafik ist die Verteilung des Differenzierungsgrads des Tumorgewebes der 55 berücksichtigten Patienten und der Expression von PAI (cytoplasmatisch) dargestellt. Bei 29 Erkrankten ließ sich ein gut bis mäßig differenzierter Tumor nachweisen. Bei 26 Patienten war das Tumorgewebe schlecht differenziert. Betrachtet man den Anteil bezüglich der Expression von PAI (cytoplasmatisch), so lagen bei 65% [17] der schlecht differenzierten Tumoren, eine mäßig bis starke Expression des Proteins vor [siehe Abbildung 16]. Der Einfluss der Expression von PAI (cytoplasmatisch) auf den Differenzierungsgrad erwies sich als nicht signifikant [ $p=0,16$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

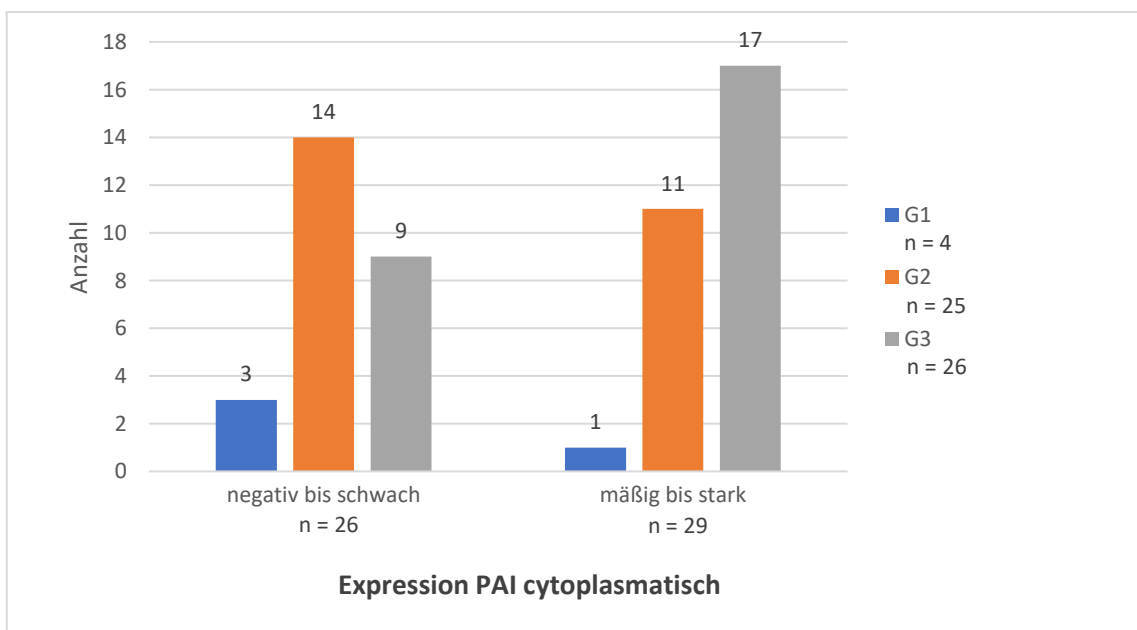


Abbildung 16 Verteilung des Grads der Differenzierung des Tumorgewebes von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI cytoplasmatisch

#### 4.2.2 PAI nukleär

Entsprechend des vorhergehenden Abschnitts wurde die aufgeführte Betrachtungsweise auf die Expression von PAI im Zellkern (PAI nukleär) übertragen. 28 von 55 Präparaten [51%], die immunhistochemisch gegen PAI (nukleär) gefärbt worden, zeigten eine mäßig bis starke Expression. Dennoch wiesen 25% der Präparate eine negative Färbung gegen PAI (nukleär) auf [siehe Tabelle 3].

Tabelle 3 Anzahl der 55 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und PAI (nukleär) Expression entsprechend dem IRS 0-12

Punkte	Färbeintensität	Anzahl
0-2	negativ	14
3-4	schwach	13
6-8	mäßig	16
9-12	stark	12

Analog dem Vorgehen von PAI (cytoplasmatisch) wurden auch für PAI (nukleär) die Expression des Proteins mit der 5- Jahres- Überlebenswahrscheinlichkeit der Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle auf einen Zusammenhang untersucht. Es wurden die Präparate ebenfalls in 2 Gruppen eingeteilt. Gruppe 0 beinhaltet die Anzahl der Präparate mit negativer und schwacher Expression des Proteins (IRS 0-4) und Gruppe 1 die Anzahl der Präparate mit mäßiger bis starker Expression (IRS 6-12) von PAI (nukleär). Wie in der anschließenden Abbildung deutlich wird, lag die 5- Jahres- Überlebenswahrscheinlichkeit für die Gruppe 0 (blau) bei 48% und für die Gruppe 1 (grün) bei 40% [siehe Abbildung 17]. Ein direkter Zusammenhang konnte statistisch nicht belegt werden [p= 0,56, univariate Analyse].

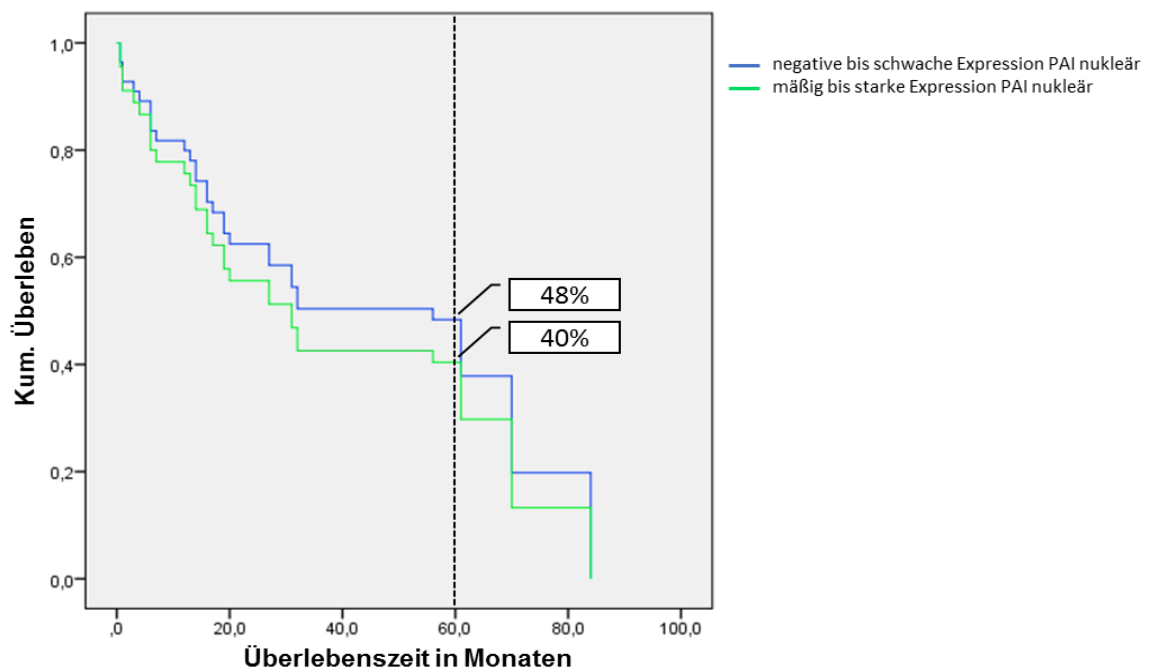


Abbildung 17 Kaplan- Meier Analyse für die Expression von PAI nukleär von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

Weiter war im Falle von PAI (nukleär) der Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der Expression des Proteins zu klären. Betrachtet man die Verteilung des Geschlechts, geht in der folgenden Abbildung hervor, dass von 42 männlichen Patienten [76%] 24 [57%] eine mäßig bis starke Expression von PAI (nukleär) zeigten. Bei den Frauen zeigten nur 4 von insgesamt 13 Patientinnen [31%] eine mäßig bis starke Expression gegen PAI (nukleär) [siehe Abbildung 18]. Die statistische Berechnung erwies sich als nicht signifikant [ $p=0,12$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

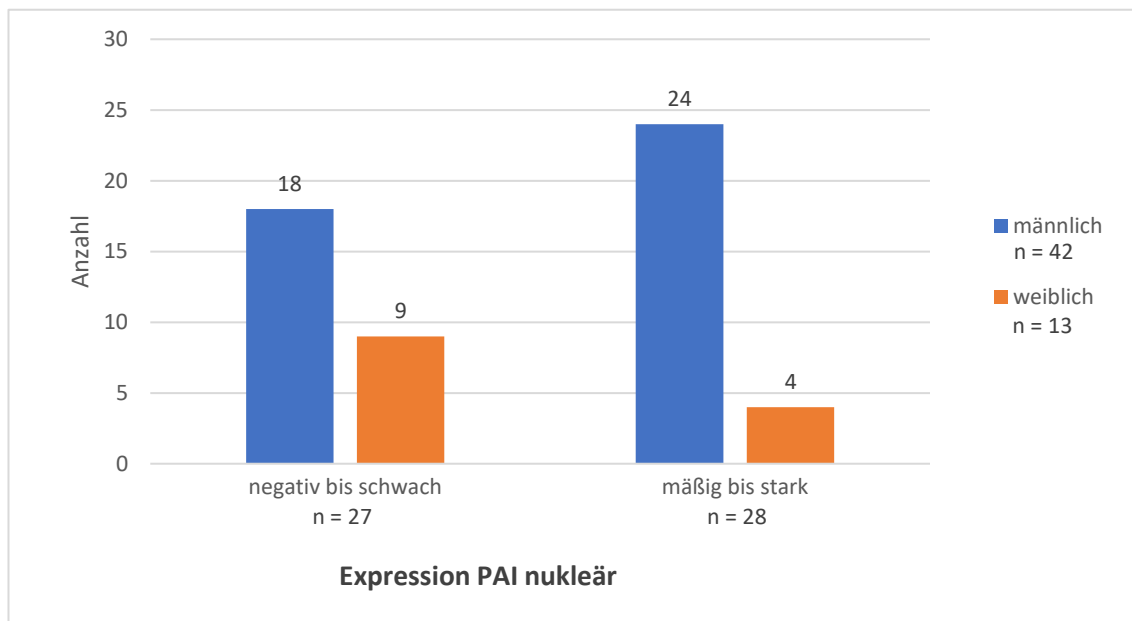


Abbildung 18 Verteilung des Geschlechts von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär

Abbildung 19 zeigt die Verteilung der Größe des Tumors bezogen auf die Expression von PAI (nukleär). Es ist offensichtlich, dass die überwiegende Anzahl der großen Tumoren eher eine negative bis schwache Expression des Proteins zeigten [58%]. Deutlich wird aber auch, dass mehr Tumoren mit geringer Größe eine mäßig bis starke Expression von PAI (nukleär) aufwiesen [55%]. T3- Tumoren waren vergleichsweise selten und zeigten dennoch häufiger eine mäßig bis starke Expression von PAI (nukleär). Von einem Patienten mit mäßig bis starker Expression des hier betrachteten Proteins, war die Größe des Tumors nicht bekannt [siehe Abbildung 19]. Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Tumorgöße und der Expression von PAI (nukleär) [ $p=0,88$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

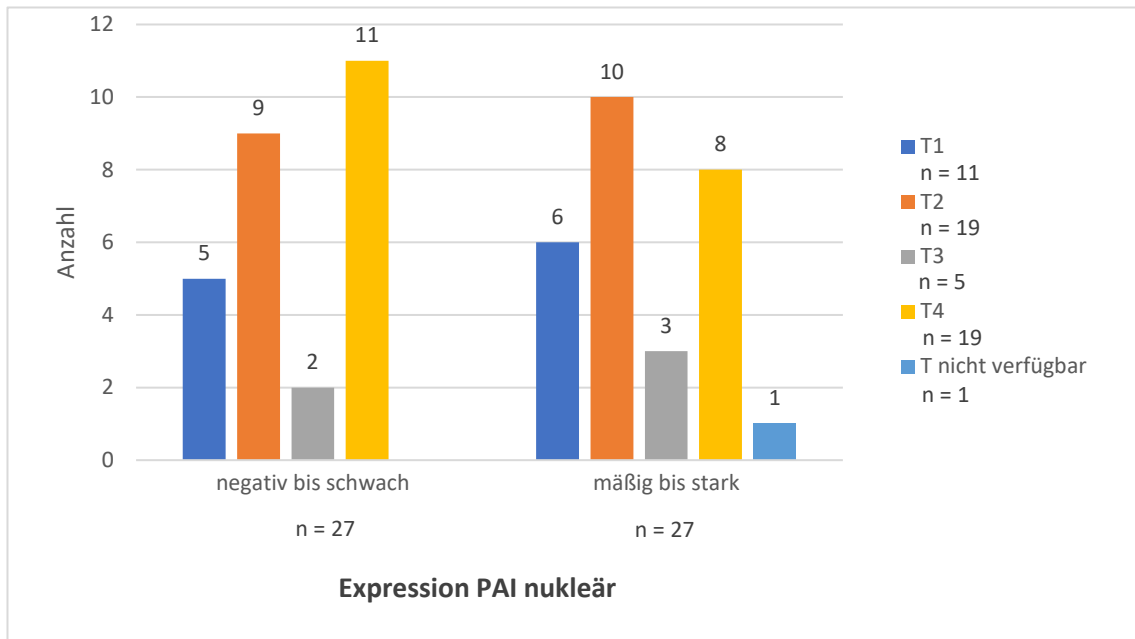


Abbildung 19 Verteilung des T- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär

Von Interesse war zudem der Zusammenhang des Lymphknotenbefalls und der Expression von PAI (nukleär). In der nachfolgenden Grafik wird deutlich, dass 27 von 55 Patienten einen Lymphknotenbefall zeigten. Bei 56% [15] der Präparate mit Metastasen in den umliegenden Lymphknoten ließ sich eine negative bis schwache Expression von PAI (nukleär) nachweisen. Im Gegenzug ist zu verzeichnen, dass 56% [14] der Karzinome ohne Lymphknotenbefall eine mäßig bis starke Expression des Proteins vorwiesen. Von 3 Patienten war der Lymphknotenstatus nicht verfügbar [siehe Abbildung 20]. Eine Signifikanz besteht in dem beschriebenen Zusammenhang nicht [ $p=0,58$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

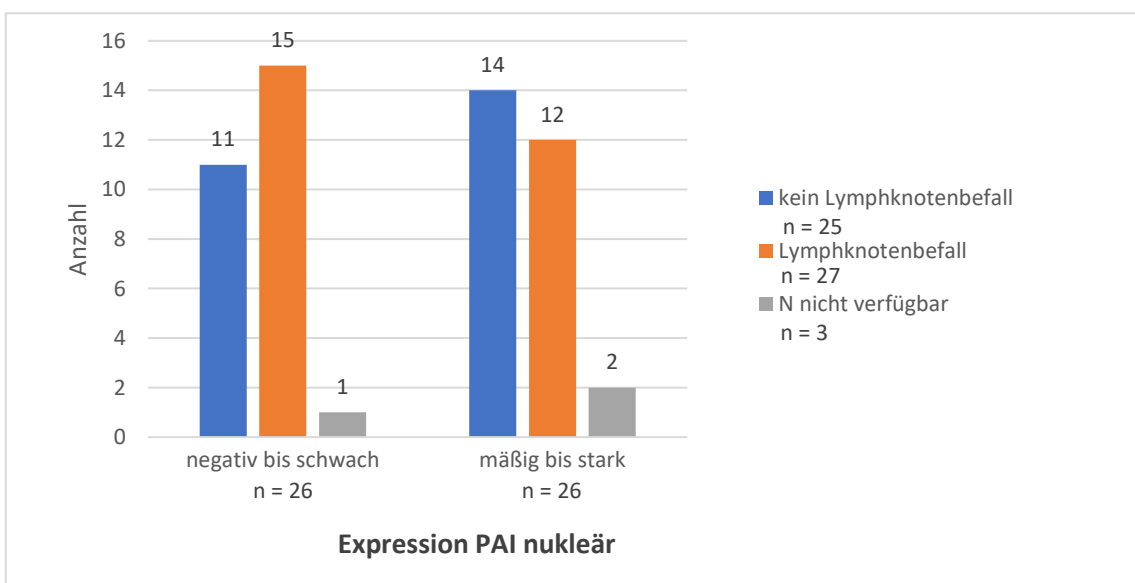


Abbildung 20 Verteilung des N- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär

87% [48] der Karzinome zeigten keinen Hinweis auf Fernmetastasen. Hervorzuheben ist, dass bei den Patienten mit einem positiven Fernmetastasenbefund 67 % eine mäßig bis starke Expression von PAI (nukleär) zeigten. Von einem Patienten war das M- Stadium nicht bekannt [siehe Abbildung 21]. Der Zusammenhang ist nicht signifikant [ $p= 0,67$ ,  $\text{Chi}^2$ - Test].

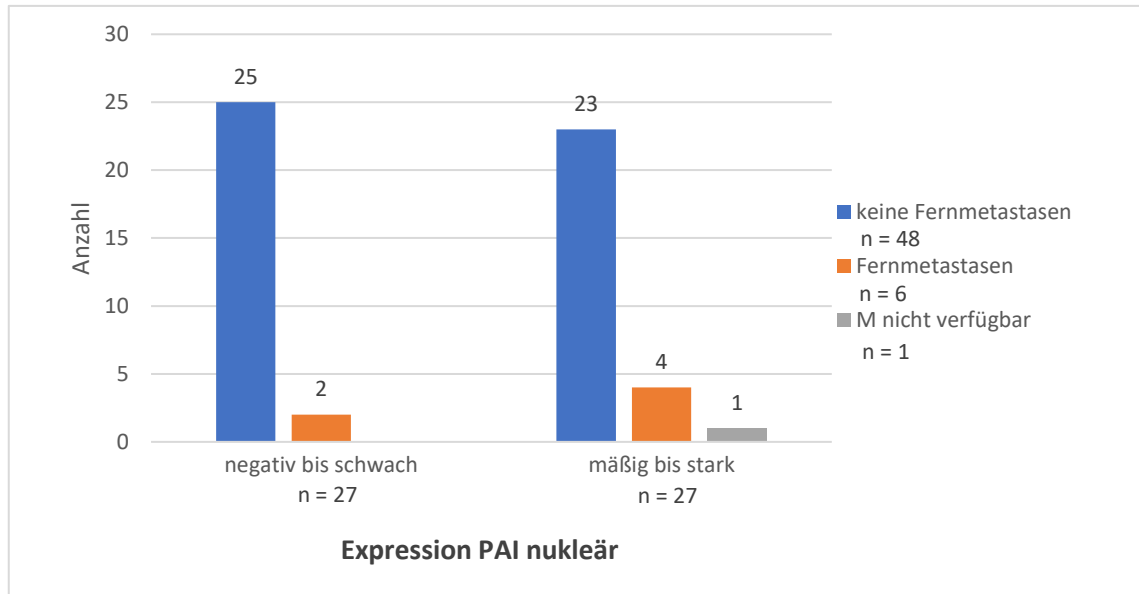


Abbildung 21 Verteilung des M- Stadiums von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär

Sowohl bei den gut als auch bei den mäßig differenzierten Tumoren zeigten sich mehr Patienten mit einer negativen oder schwachen Expression von PAI (nukleär) (G1 75%, G2 52%). Auffällig war, dass 58% [15] der Tumoren mit einer mäßig bis starken Expression von PAI (nukleär) bei den schlecht differenzierten Tumoren analysiert wurde [siehe Abbildung 22]. Ein signifikanter Zusammenhang existiert nicht [ $p=0,42$ ,  $\text{Chi}^2$ - Test].

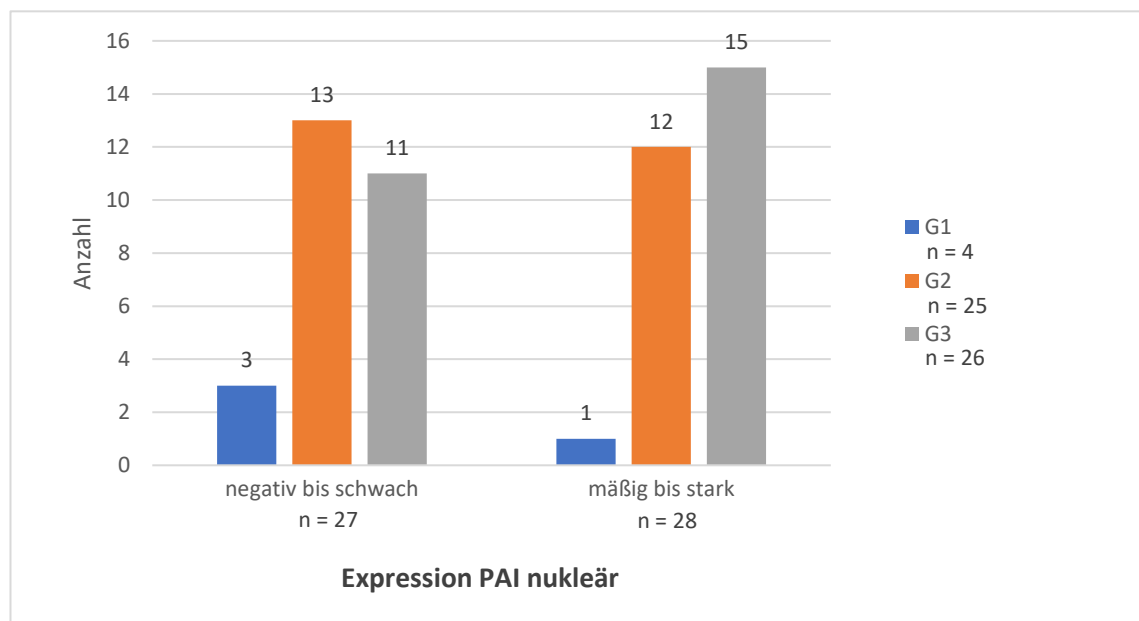


Abbildung 22 Verteilung des Grads der Differenzierung des Tumorgewebes von 55 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von PAI nukleär



#### 4.2.3 uPA

Die folgenden Tabellen und Diagramme stellen den Sachverhalt zwischen der Expression von uPA und den klinisch pathologischen Parametern dar. Nach den immunhistochemischen Färbungen gegen uPA konnten von den 55 Präparaten lediglich 44 zur Betrachtung herangezogen werden.

In der nachfolgenden Tabelle wird ersichtlich, dass 89% der immunhistochemisch gefärbten Tumorpräparate gegen uPA der Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle eine mäßig bis starke Expression von uPA zeigten. Lediglich 4 Präparate hatten eine negative Färbeintensität [siehe Tabelle 4].

Tabelle 4 Anzahl der 44 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und uPA Expression entsprechend dem IRS 0-12

Punkte	Färbeintensität	Anzahl
0-2	negativ	4
3-4	schwach	1
6-8	mäßig	12
9-12	stark	27

Abgeleitet aus den Betrachtungen von PAI (cytoplasmatisch) und (nukleär) wird im nachfolgenden Diagramm die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit bezüglich der Expression von uPA verdeutlicht. Patienten, die eine negative oder schwache Expression von uPA aufwiesen (IRS 0- 6), zeigten eine 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 56%. Hingegen lag die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von Patienten mit mäßiger bis starker Expression von uPA (IRS 8- 12) bei lediglich 33% [siehe Abbildung 23]. Die Betrachtung des direkten Zusammenhangs der Expressionsstärke von uPA und der 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit erreicht kein signifikantes Niveau [ $p=0,25$ , univariate Analyse].

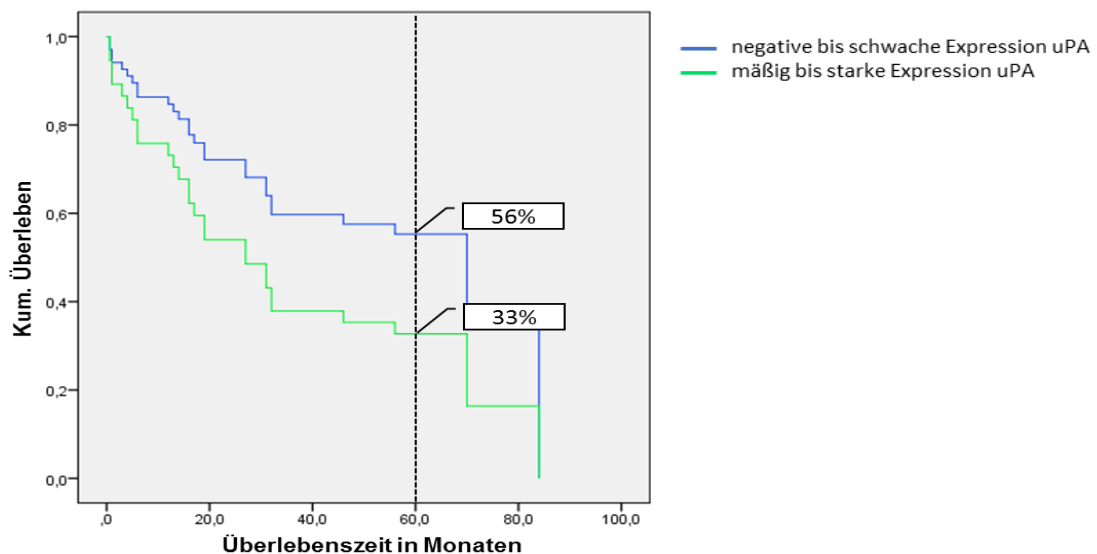


Abbildung 23 Kaplan- Meier Analyse für die Expression von uPA von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle

Ebenfalls waren beim Protein uPA weitere deskriptive Untersuchungen mit den klinischen und pathologischen Parametern von Interesse. Die Abbildung 24 zeigt den Zusammenhang zwischen der Geschlechterverteilung und der Expression von uPA. Insgesamt lagen deutlich mehr männliche Präparate für die Betrachtung vor. Weiter wird in der Darstellung deutlich, dass 28 der 34 männlichen Erkrankten [82%] eine mäßig bis starke Expression aufwiesen. Bei den Patientinnen hatten 60% [6] eine mäßig bis starke Expression von uPA [siehe Abbildung 24]. Auch bei diesem Protein konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem beschriebenen Sachverhalt abgeleitet werden [ $p=0,19$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

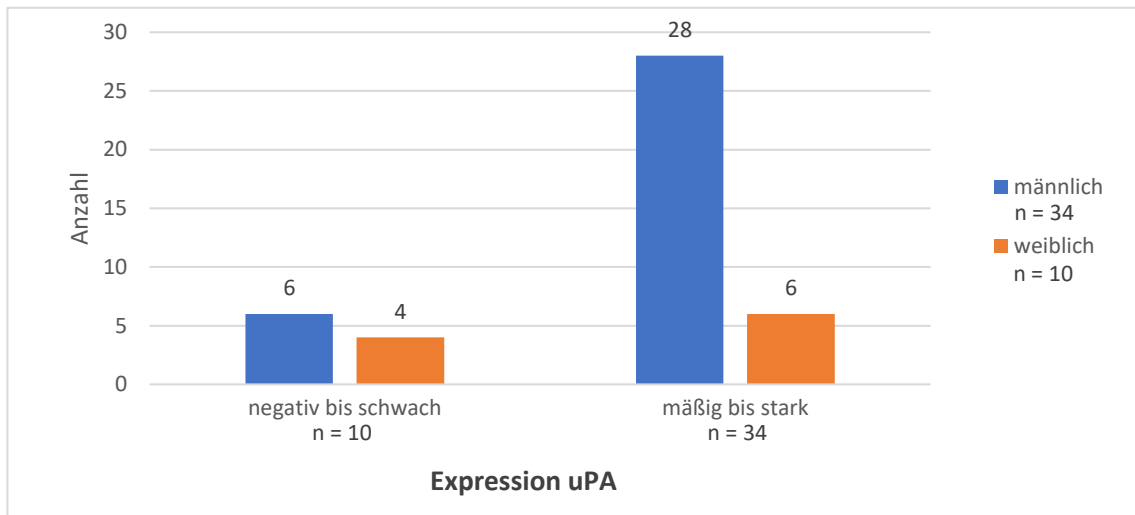


Abbildung 24 Verteilung des Geschlechts von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von uPA

Sowohl 5 Patienten mit kleinen Tumoren (T1 und T2) als auch 5 Patienten mit großen Tumoren (T3 und T4) zeigten eine negative bis schwache Expression von uPA. Interessanterweise verteilten sich 58% der Tumoren mit einer mäßig bis starken Expression von uPA auf kleine Tumoren [siehe Abbildung 25]. Der Einfluss der Expression von uPA auf die Tumorgöße ist nicht signifikant [ $p=0,73$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

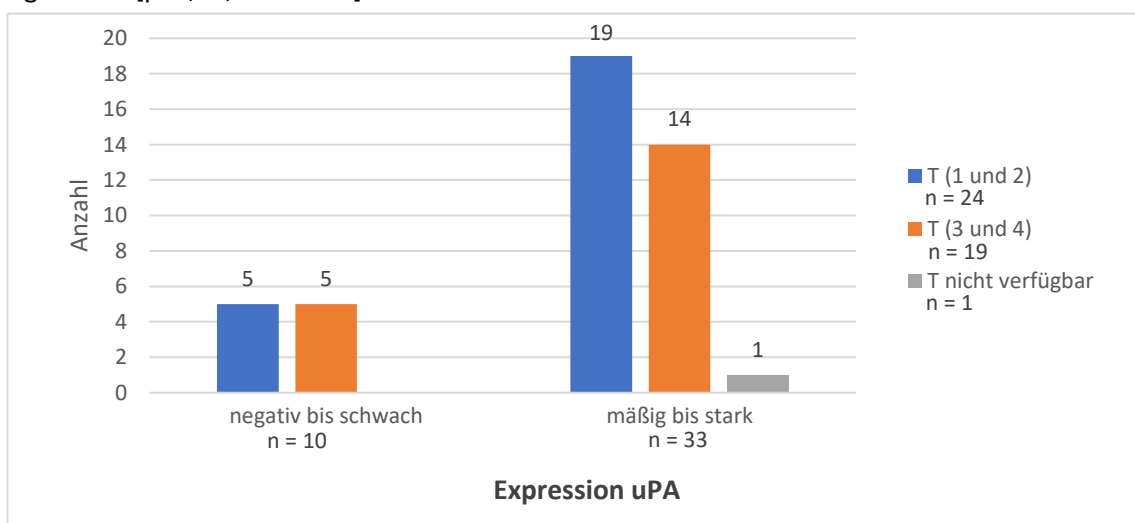


Abbildung 25 Verteilung des T- Stadiums von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von uPA

In Abbildung 26 wird deutlich, dass 15 von 18 Patienten [83%] ohne Lymphknotenmetastasen eine mäßig bis starke Expression von uPA zeigten. Auch bei den Tumoren mit lymphonodaler Metastasierung wiesen mehr Patienten eine mäßig bis starke Expression von uPA auf (75%) [18]. Von 2 Patienten war das N- Stadium nicht bekannt [siehe Abbildung 26]. Es besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Lymphknotenmetastasierung und der Expression von uPA [ $p= 0,71$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

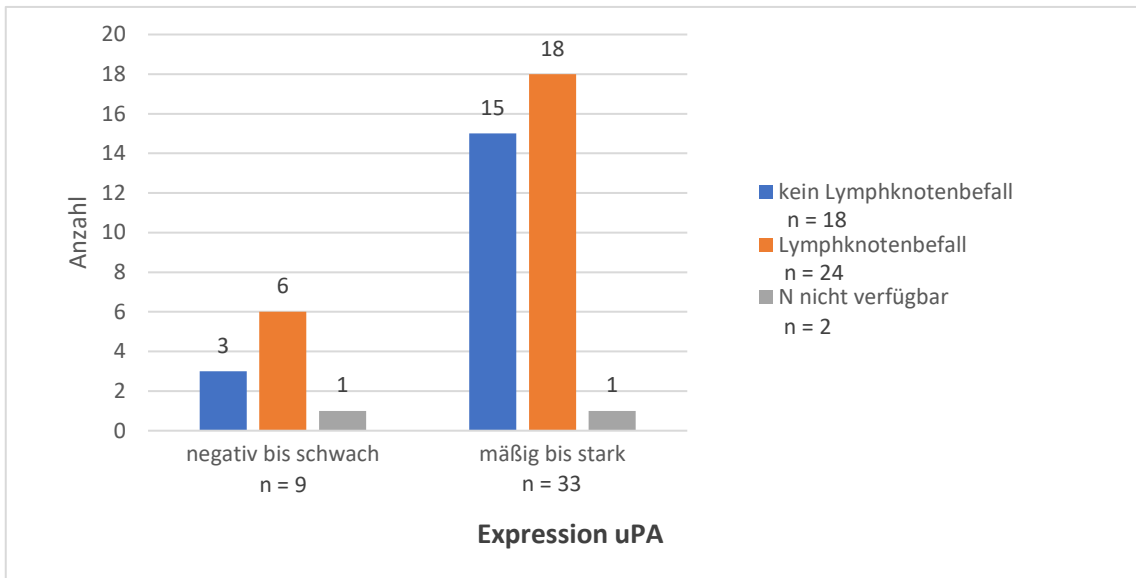


Abbildung 26 Verteilung des N- Stadiums von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von uPA

Bei der Analyse der Fernmetastasen bezogen auf die Expression von uPA zeigten alle Patienten [5] mit einem positiven Befund eine mäßig bis starke Expression von uPA. Bei den Tumoren ohne Fernmetastasen, hatten 74% [28] eine mäßig bis starke Expression des Proteins [siehe Abbildung 27]. Es konnte in diesem Fall keine Signifikanz bestätigt werden [ $p= 0,32$ , Chi<sup>2</sup>- Test].

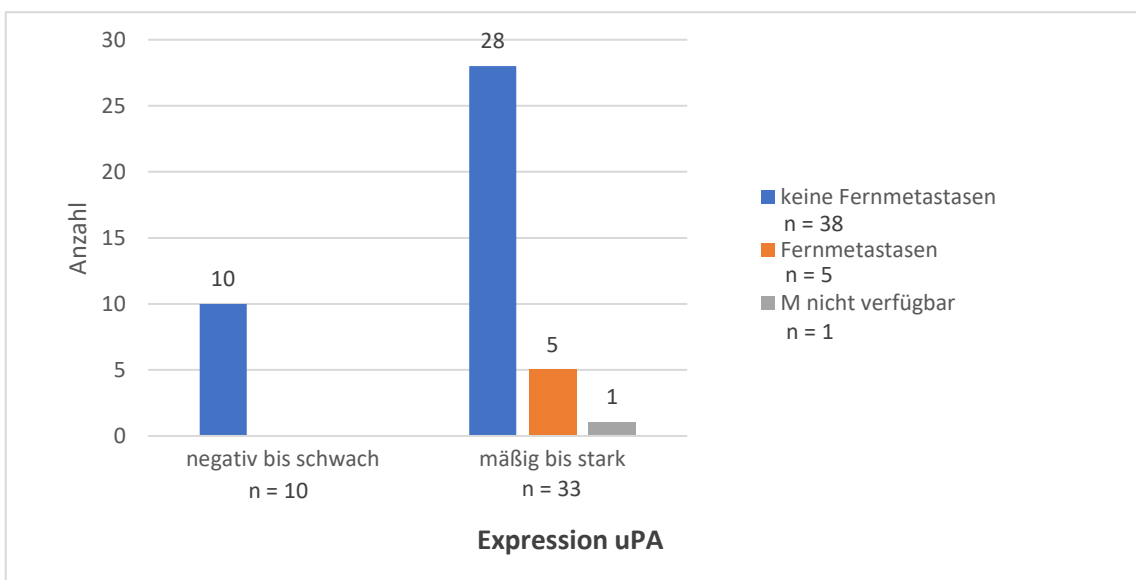


Abbildung 27 Verteilung des M- Stadiums von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und Expression von uPA

Lediglich 7% [3] der Präparate waren von gut differenzierten Tumoren (G1). Von insgesamt 17 Tumorschnitten mit mäßiger Differenzierung (G2), zeigte 76% [13] eine mäßig bis starke Expression von uPA. Hervorzuheben ist, dass 79% [19] der Tumoren mit schlechter Differenzierung (G3) eine mäßig bis starke Expression von uPA aufwiesen [siehe Abbildung 28]. Die Expressionsstärke von uPA hat keinen signifikanten Einfluss auf den Differenzierungsgrad [p= 1,0].



Abbildung 28 Verteilung des Grads der Differenzierung des Tumorgewebes von 44 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle und uPA Expression

### 4.3 Überlebensraten nach Kaplan- Meier

Neben den Untersuchungen zu den direkten Abhängigkeiten der Expression von PAI und uPA und den klinisch pathologischen Parametern galt es in dieser Studie zu klären, ob der Nachweis der Expression des jeweiligen Proteins als unabhängiger Prognosefaktor geeignet ist. Im nachfolgenden Abschnitt werden die Ergebnisse bezüglich der Expression der 3 Proteine und der Eintrittswahrscheinlichkeit näher betrachtet.

Mit Hilfe der multivariaten Cox Regressionsanalyse adjustiert nach dem Grading, T- und N-Status fand sich bei der Betrachtung von PAI (cytoplasmatisch) ein 1,5- fach erhöhtes Risiko am Tumor zu versterben, wenn die Tumorschnitte einen IRS- Wert über 8 aufwiesen. Der Einfluss der Expression von PAI (cytoplasmatisch) auf die Prognose der Patienten erwies sich als nicht signifikant [p= 0,33]. Anders sieht es im Falle der Expression von PAI (nukleär) aus. Hier resultierte nach der Berechnung ein 2- fach erhöhtes Risiko am Tumor zu versterben, wenn der IRS über 6 lag. Tendenziell kann man davon ausgehen, dass die Expression von PAI (nukleär) einen Effekt auf die Prognose der Patienten hat [p= 0,11], wenngleich auch hier das Ergebnis nicht dem Signifikanzniveau entsprach. Im Vergleich zu PAI zeigte uPA einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Expression des Proteins und des tumorassoziierten Todes [p= 0,04]. Aus der Berechnung ergab sich ein 3,8- fach erhöhtes Risiko am Tumor zu versterben, wenn der

IRS über 8 war. Dies bedeutet, dass den Patienten mit Tumoren mit einer mäßig bis starken Expression von uPA, ein signifikant verringertes Überleben bescheinigt werden musste. Zur Veranschaulichung folgen die Kaplan- Meier Analysen der 3 Proteine in den Abbildungen 29-31.

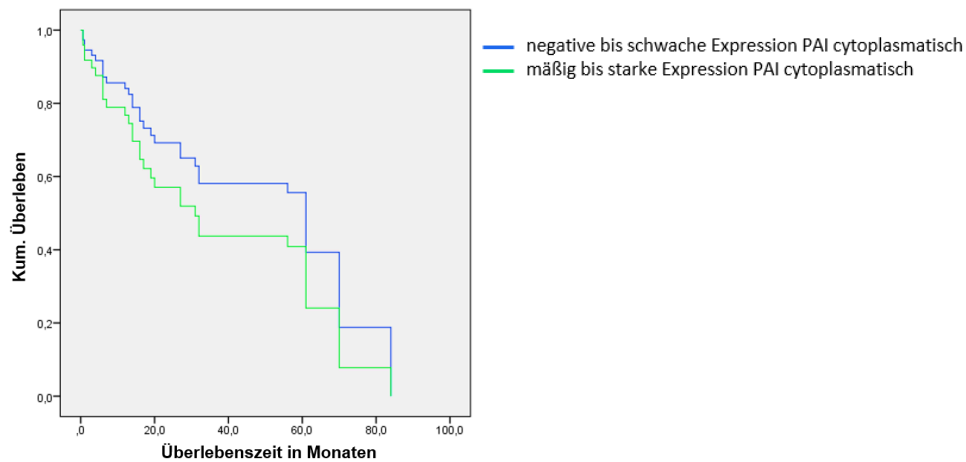


Abbildung 29 Kaplan- Meier Analyse, Expression von PAI (cytoplasmatisch), Cox Regression adjustiert nach G, T- und N- Status, n= 55, RR: 1,5, p= 0,33

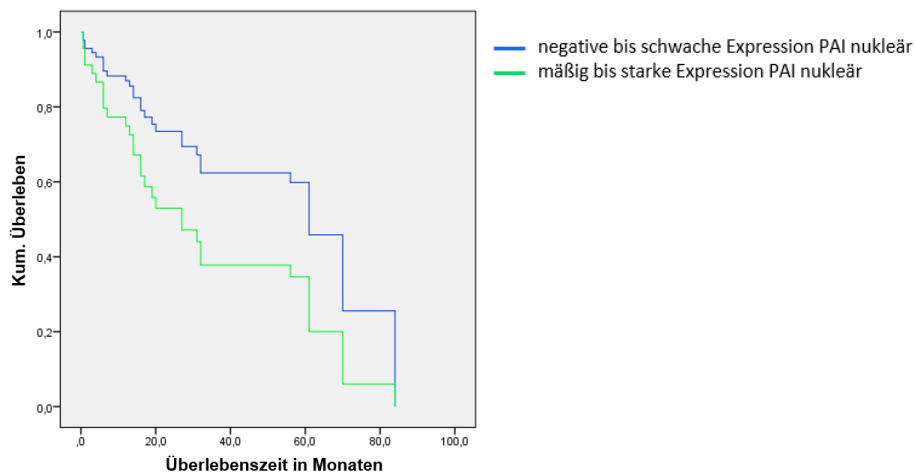


Abbildung 30 Kaplan- Meier Analyse, Expression PAI (nukleär), Cox Regression adjustiert nach G, T- und N- Status, n=55, RR: 2,0, p= 0,11

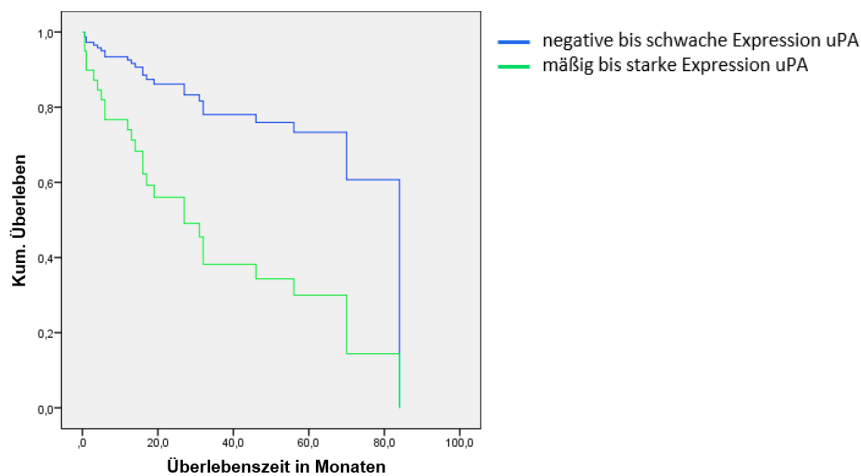


Abbildung 31 Kaplan- Meier Analyse, Expression uPA, Cox Regression adjustiert nach G, T- und N- Status, n=55, RR: 3,8, p= 0,04

## 5 Diskussion

### 5.1 Überlebenswahrscheinlichkeit von Mundhöhlenkarzinomen

Zunächst soll das eigene zugrunde gelegte Patientenkollektiv hinsichtlich der klinisch pathologischen Parameter diskutiert werden. Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle gehören zu den 10 häufigsten Tumorerkrankungen in Deutschland. Das RKI schätzte die Neuerkrankungsrate für 2016 auf 9900 Neuerkrankungen bei Männern und 3900 Neuerkrankungen bei Frauen. Die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von Patienten, die an einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle erkrankten, schwankt laut der Literatur zwischen 40- 55% (Rogers et al. 2009, Listl et al. 2013). Das RKI berichtete von 2012/13, dass 43% der Männer und 55% der Frauen nach 5 Jahren noch lebten (Robert-Koch-Institut). Bei einer Analyse von Wolff, der eine Auswertung des DÖSAK Tumorregisters vornahm, kam je nach Analyseverfahren auf eine 52,4% (Kaplan- Meier Analyse) und 54,3% (Cox Regressionsanalyse) 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit (Wolff et al. 2012). Die Auswertung fand mit Daten von 9002 Patienten statt, die zwischen 4/89 und 6/99 erfasst wurden. Er analysierte weiter, dass die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von kleinen Tumoren (T1 und T2) bei 70% lag und für große Tumoren (T3 und T4) bei 43%. Betrachtet man die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit hinsichtlich der Therapieform, so berichtete Wolff, dass radikal operierte Patienten eine 59%- ige und nicht operierte Patienten lediglich eine 18%-ige 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit aufwiesen (Wolff et al. 2012). Kaplan- Meier Analysen bezogen auf die adjuvante Therapie kamen zu dem Ergebnis, dass die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit bei Patienten mit adjuvanter Radiotherapie bei 51,3% und bei adjuvanter Radiochemotherapie bei 52,7% lag (Wolff et al. 2012). 2008 beschrieb Lautner umfassend die Abhängigkeiten der 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit in seiner Dissertation. 99 Patientenfälle aus den Jahren 1993 bis 1998 der Martin- Luther Universität Halle- Wittenberg wurden ausgewertet. Die absolute 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit lag bei 57,3%. Bezogen auf die Tumgröße kam er zu dem Ergebnis, dass kleinere Tumoren (T1) sogar eine 80%-ige 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit zeigten und größere Tumoren (T4) lediglich von unter 20%. Weiter ist die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit abhängig von dem N- Status. Patienten mit einem N1 Befund zeigten eine 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 72,9% und die Patienten mit einem N2 Befund nur 40,5%. Entscheidend ist auch das Stadium der Tumorerkrankung. Patienten im Stadium 1 zeigten eine 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 79% und Patienten im Stadium 4 (T4, oder ab N2, M1) lediglich eine 33,4%- ige. Der Einfluss eines Rezidivs auf das Überleben zeigt sich in der 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 69,6% bei rezidivfreien Patienten und bei Patienten mit einem Rezidiv von 19,8% (Lautner 2008).

Das eigene Patientengut aus den Jahren 1998 bis 2003 aus der Martin- Luther Universität Halle- Wittenberg hatte eine 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 40% und lag somit eher im unteren Bereich im Vergleich mit den Angaben der Literatur. Im Jahr 2009 wurde eine Studie veröffentlicht, die die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 541 Patienten aus Nord- West England nach verschiedenen Gesichtspunkten untersuchte. 10% der Patientenfälle bekamen lediglich eine Radiotherapie. In diesen Fällen lag die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit bei 23%. Die restlichen 489 Patienten erhielten eine primär chirurgische Behandlung und in 40% der Fälle mit adjuvanter Radiotherapie. Die absolute 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit lag bei 56% bei dieser Therapieform. Interessanterweise unterschied die Analyse zwischen den Jahren 1992- 1995 und 2000- 2002. Im erstgenannten Zeitraum lag das krankheitsbezogene Überleben bei 63% und bei 81% zwischen 2000 und 2002. Signifikant war in der Cox Regressionsanalyse, dass das Überleben vom pN- Status abhängig ist sowie von den Resektionsrändern (Rogers et al. 2009). Weiter berichtete Listl im Jahr 2013 von einer 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 54,6%. Er wertete die Daten von 11 deutschen Krebsregistern der Jahre zwischen 2002 bis 2006 aus. Seine Feststellung bestand darin, dass die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit stark von der Lokalisation des Tumors abhängig ist. Patienten mit Karzinomen, die sich an der Lippe befinden, hatten eine 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 86,5%, an der Zunge 48,1% und Patienten mit Tumoren an anderen Regionen des Mundes 51,7%. Einzuschränken in dieser Listl'schen Studie ist, dass er Lippen- Karzinome zusammen mit den restlichen Entitäten der Mundhöhle betrachtet hat. Es muss an dieser Stelle angemerkt werden, dass Lippen- Karzinome einem Übergangsepithel zugrunde liegen und nicht mit Mundhöhlen- Karzinomen betrachtet werden sollten. Die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit ist zudem abhängig vom Geschlecht. Demnach haben Frauen laut seiner Analyse eine 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 61,3% und Männer von 53%. Weiter fand er Unterschiede der 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit des T- Stage und des Gradings des Tumors. Waren bereits zum Zeitpunkt der Erstdiagnose umliegende Lymphknoten befallen, so betrug die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit lediglich 6,4%: Ohne Lymphknotenbefall lag die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit bei 70,9%. Abhängig vom Grad der Differenzierung lag die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit bei 75,6% bei gut differenzierten Tumoren (Grad 1) und bei 43,9% bei mäßig bis schlecht differenzierten Tumoren (Grad 3 und 4) (Listl et al. 2013). Zusammengefasst ist die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit abhängig von der Tumorgroße, dem Lymphknotenbefall, dem Stadium der Tumorerkrankung, der Lokalisation und dem Differenzierungsgrad. Ursächlich für die Schwankungen in den Angaben der obigen Literatur könnten die zum Teil nicht ausreichend selektierten Diagnosen sein. Karzinome im Bereich der Lippe zeigen beispielsweise eine bessere Prognose, so dass der Einschluss dieser Patienten die

5-Jahresüberlebensrate einer untersuchten Gruppe zu deutlich positiveren Ergebnissen verschiebt. Vergleicht man nun die 5-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeiten der oben aufgeführten Literatur mit den eigenen Ergebnissen lassen sich folgende Schlüsse ziehen. Ziel dieser Arbeit war es, anders als es beispielsweise bei Listl der Fall war, ausschließlich Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle in die Studie mit einzubeziehen. Demnach fallen definitionsgemäß Patienten mit Karzinomen an der Lippe aus den Betrachtungen raus. Der direkte Vergleich der Expressionsstärke des jeweiligen Proteins und der 5-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit ergab folgende Werte: 38%, 40% und 33% für PAI (cytoplasmatisch), PAI (nukleär) und uPA bei mäßig bis starker Expression des Proteins und 53%, 48% und 56% bei negativer bis schwacher Expression. Es konnte kein Signifikanzniveau in der univariaten Analyse erreicht werden. Dennoch wird deutlich, dass die Werte bei einer mäßig bis starken Expression der 3 Proteine eher unter den durchschnittlichen Angaben der Literatur sind, was durchaus auf einen Zusammenhang der Expression der Proteine PAI und uPA und der 5-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit schließen lässt. Es bleibt zu klären, ob in größer angelegten Studien durch die Fallzahlerhöhung die Proteine deutlichere Ergebnisse hinsichtlich eines signifikanten Zusammenhangs einzelner Proteine und der Überlebenswahrscheinlichkeit zeigen. Letztlich kann dieser Effekt aber auch darin begründet sein, dass in eher großen Tumorzentren wie beispielsweise das Universitätsklinikum Halle, Patienten erst mit sehr großen Tumorbefunden vorstellig werden und diese bekannterweise schon allein durch das Ausmaß des Tumors eine schlechtere Überlebenswahrscheinlichkeit vorweisen als Patienten mit Tumoren eher kleinerer Größe. Dieser Sachverhalt begründet das homogene Patientenkollektiv dieser Studie, die 44% Tumoren größeren Ausmaß enthielt. Außerdem wurden ausschließlich Patienten mit bekanntem klinischen Verlauf für die Arbeit herangezogen. Es wurden nur die Todesfälle der Patienten eingeschlossen, die entweder am Tumor oder mit Zeichen einer deutlichen Tumorprogression verstorben waren. Eine mangelnde Differenzierung der Todesursache könnte die Überlebensrate negativ beeinflussen und zu schlechteren Ergebnissen führen und es würde der Einschluss typischer altersabhängiger Todesursachen dazu führen, dem Alter einen falsch negativen Einfluss auf das Überleben des Mundhöhlenkarzinoms zuzuschreiben.

## 5.2 Therapie

Trotz der zahlreichen untersuchten Abhängigkeiten der Überlebensrate für Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle ist diese seit vielen Jahren nahezu gleichbleibend schlecht und stagniert (Robert- Koch- Institut, Rogers et al. 2009). Immer wieder wird in den



Arbeitsgruppen untersucht, welche Therapieform das Überleben der Patienten weitreichend beeinflusst. Darauf soll in dem nächsten Abschnitt Stellung bezogen werden.

Zum jetzigen Zeitpunkt wird das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle sehr selten allein chirurgisch oder in Kombination aus einer chirurgischen und adjuvanten Therapie in Form einer Kombination aus Radio- und Chemotherapie oder Radiotherapie oder Chemotherapie behandelt. Entscheidend bei der operativen Behandlung ist die Qualität der chirurgischen Resektion, bezogen auf die vollständige Entfernung des Tumors und den dabei erreichten Sicherheitsabstand (Eckardt 2003, Glöggler 2008, Rogers et al. 2009, Frerich 2010). Mittels mikrochirurgischer Techniken bei der Operation wird versucht, die Lebensqualität zu gewährleisten als auch die Ästhetik und Funktion wiederherzustellen (Hullmann 2011). Bis heute hat die Einschätzung von Scheunemann aus dem Jahr 1964 bezüglich der Wahl der Therapie des Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle Bestand. Nach seinen Aussagen ist das Mittel der 1. Wahl zur Behandlung des Plattenepithelkarzinoms die chirurgische Entfernung (Scheunemann 1964). Bei der Auswertung der Daten des DÖSAK von Metelmann aus dem Jahr 2000 zeigte sich jedoch, dass über die Hälfte der Patienten kurativ inoperable Tumoren aufweisen oder aufgrund der Größe des Tumors bzw. des Tumorstadiums eine alleinige chirurgische Therapie nicht ausreichend ist. Somit haben sich als 2. Mittel der Wahl zur Behandlung des Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle die Kombination aus Radio/ Chemotherapie oder alleiniger Chemotherapie etabliert (Metelmann 2000). Der Wirkmechanismus von Zytostatika auf einige wenige Tumoren wurde am Tierexperiment von Lettré untersucht (Lettré 1957). Erste klinische Versuche von Schwenger stützten die Aussagen und bestätigten die Erkenntnisse von Lettré (Schwenger 1959). 1964 veröffentlichte Scheunemann die Ergebnisse seiner Habilitation, die seinerseits wegweisend für das therapeutische Vorgehen waren. Er stellte fest, dass sich die Wirksamkeit von Cytostatika mit höherer Wirkstoffkonzentration im fortgeschrittenen jedoch noch begrenzten Tumorgewebe verbessert. Daraus entwickelte sich bis heute der Ansatz, dass die Chemotherapie als adjuvante Maßnahme zur Behandlung von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle in Erwägung gezogen wird (Scheunemann 1964). Nach Ansicht Metelmans ist ein Durchbruch der Chemotherapie als kuratives Behandlungsmittel nur möglich, wenn es neue Ansätze auf molekularbiologischer Ebene gibt und auch die Immuntherapie integriert wird (Metelmann 2000). Eine multizentrische, randomisierte Studie aus dem Jahre 1994 verglich die Unterschiede zwischen alleiniger chirurgischer Behandlung mit chirurgischer Behandlung und adjuvanter Radio- Chemotherapie. Dabei wurden Daten des DÖSAK verwendet. 141 Patienten wurden rein chirurgisch behandelt und 127 Patienten erhielten neben dem operativen Eingriff eine präoperative Radio- Chemotherapie. Bei 28,2 % der Patienten trat im

Nachbeobachtungszeitraum ein Rezidiv auf und 27,2% der Patienten waren verstorben. Vergleicht man die Rezidivrate hinsichtlich der Therapie, so kam es bei 31% der Patienten, die allein chirurgisch behandelt wurden, zu einem erneuten Auftreten des Tumors und nur bei 18,6% die kombiniert behandelt wurden. Die Überlebensrate verbesserte sich somit um 4,5% im ersten Jahr und um 8,3% im zweiten Jahr für Patienten, die chirurgisch und radio- chemisch behandelt wurden (Doz et al. 1994). Auch Howaldt untersuchte Daten des DÖSAK hinsichtlich der Häufigkeit der angewendeten Therapie. Dabei stellte er fest, dass 52% der zur Studie herangezogenen Patienten alleinig operiert wurden. Lediglich 4,2% erhielten eine adjuvante Chemotherapie und 30% der erfassten Patienten, deren Daten Verwendung fanden, eine kombinierte adjuvante Therapie aus Radio- und Chemotherapie. Besonders häufig wird präoperativ die Radiochemotherapie angewendet und postoperativ die Bestrahlung. Der Vergleich der 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeiten zeigte eine 51,3%-ige 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit bei adjuvanter Radiochemotherapie, eine 52,7%-ige 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit bei alleiniger Radiotherapie und bei alleiniger Chemotherapie lag die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit bei immerhin noch 48% (Howaldt et al. 2000). Eine prospektive, randomisierte multizentrische Therapiestudie von Mohr, der Daten des DÖSAK von 377 Patienten auswertete, stellte fest, dass eine präoperative Chemotherapie mit Cisplatin und eine Strahlentherapie die Überlebenswahrscheinlichkeit, verglichen mit alleiniger operativer Behandlung, signifikant erhöht (Mohr et al. 1994). Es gibt zahlreiche Studien zur Wirksamkeit von Polychemotherapie kombiniert mit einer Radiotherapie (Lo et al. 1976, Fu et al. 1987, Sanchíz et al. 1990, Shanta 1980), die jedoch den Randomisierungskriterien des DÖSAK nicht entsprechen und somit hinsichtlich ihrer Ergebnisse schwer zu vergleichen sind (Metelmann 2000). Dieser Sachverhalt war im NEJM publiziert und kann als Durchbruch gewertet werden, wenngleich die ganz großen Effekte ausblieben. Vergleicht man die alleinige Behandlung mit Radiotherapie und Radiotherapie mit Immuntherapie (Cetuximab), so ist laut Bonner bei der Kombinationsbehandlung von Radiotherapie und Cetuximab die Tumorprogression signifikant vermindert und die Überlebensrate signifikant erhöht verglichen mit der Radiotherapie allein. Hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit zeigte die randomisierte Studie von Bonner eine Verdopplung des medianen Überlebens durch zusätzliche Gabe eines EGFR-Antikörpers (Cetuximab) zur Strahlentherapie im Vergleich zur alleinigen Strahlentherapie (Bonner et al. 2006). Hinzu kommt, dass das Ansprechen des Tumors auf die Bestrahlung von einigen biologischen Faktoren wie z. B. den Sauerstoffgehalt abhängig ist (Silva et al. 2007, Eckert et al. 2012).

Trotz der zahlreichen im obigen Abschnitt vorgestellten Studien zum Thema Chemotherapie bzw. Radiochemotherapie, resultierte aus keiner Beobachtung eine maßgebliche Verbesserung der Überlebensrate. Demnach tat sich noch ein weiterer interessanter Forschungsschwerpunkt auf, der sich vor allem den Besonderheiten der Tumoren auf molekularbiologischer Ebene widmet. Im nächsten Diskussionsteil soll darauf näher eingegangen werden.

### 5.3 Biomarker

Für eine Stratifizierung der onkologischen Therapie werden additive prognostische Parameter, welche als sogenannte Biomarker bezeichnet werden, erforscht. Zum jetzigen Zeitpunkt unterscheidet man zwischen patientenabhängigen Prognosefaktoren wie beispielsweise Alter, Geschlecht, Immunstatus und Begleiterkrankungen und tumorabhängigen Prognosefaktoren wie unter anderen anatomische Ausbreitung, histologischer Typ, Differenzierungsgrad und Proliferationsverhalten des Tumors (Wittekind 2010, Lehnerdt et al. 2010). Wegen der seit Jahren unveränderten eher schlechten Prognose von Patienten mit Tumoren im Kopf- Hals Bereich, beschäftigt sich die Forschung in diesem Gebiet vor allem damit, auch Krebsvorstufen rechtzeitig zu erkennen, Möglichkeiten zu entwickeln, die Resektionsränder besser zu analysieren und u.a. den Lymphknotenstatus vor der Therapie genauer vorhersagen zu können (Schaaïj- Visser et al. 2010). Die Beobachtung, dass eine Reihe von Plattenepithelkarzinomen trotz kurativer (R0) -Resektionen rezidivieren, wirft die Frage auf, ob aus den morphologischen oder molekularbiologischen Untersuchungen des durch die Operation entfernten Gewebes, Parameter gefunden werden können, die ein hohes Rezidivrisiko anzeigen (Wittekind 2010). Leider mangelt es bisher an neuen Prognosemarkern, die sich auf die individuelle Signatur des Tumors beziehen (Lehnerdt et al. 2010). In diesem Zusammenhang wird nach geeigneten Biomarkern gesucht, die bei der Diagnose biologische Besonderheiten des Tumors erkennen und die Prognose der Patienten besser vorherbestimmt (Chang 2008). Dabei liegt das Hauptaugenmerk auf den Microarray Technologien. Mit deren Hilfe zahlreiche Gene zeitgleich untersucht werden könnten (Lothaire et al. 2006). Die Therapie könnte durch geeignete Biomarker individualisiert werden und behilflich sein, Patienten mit hohem Rezidivrisiko zu filtern (Braakhuis B J M et al. 2012). Von Schliephake existiert die erste detaillierte Übersichtsarbeit, die 169 Artikel aus den Jahren 1997 bis 2002 zum Thema Tumormarker und Therapie von oralen Plattenepithelkarzinomen analysierte (Schliephake et al. 2003). 29 potenzielle Tumormarker wurden in den Studien untersucht und lassen sich in 4 Kategorien einteilen:

- Zellzyklusacceleratoren und Proliferationsmarker (z. B. EGFR)
- Tumorsuppressor und Apoptosemarker (z. B. p53)

- Angiogenesemarker (z. B. VEGFR)
- Adhäsionsmoleküle und Matrixdegeneration (z. B. MMPs).

Bei der Mehrheit der analysierten Studien ist die prognostische Relevanz unklar. Marker, die den Zellzyklus und die Proliferation detektieren, Tumorsuppressor und Apoptosemarker zeigten signifikante Ergebnisse hinsichtlich der Expression des Proteins bezogen auf die Prognose. Nach Schliephakes Auswertung spielen Angiogenesemarker eine untergeordnete Rolle (Schliephake 2003). Im Bereich des Oropharynx hat das Vorhandensein von HPV eine prognostische Relevanz. Untersuchungen von Lymphknotenmetastasen auf das Vorkommen von HPV deuten auf einen Tumor des Oropharynx hin (Pai 2009). Für die karzinogene Wirkung von HPV sind die viralen Onkoproteine E6 und E7 hauptverantwortlich. Sie deaktivieren die Tumorsuppressorgene p53 und pRb, verlangsamen dadurch die Zelldifferenzierung und sind somit für die Zelltransformation und -proliferation essenziell (Chang 2008, Smith et al. 2010, Marur et al. 2010, Rietbergen et al. 2013). Durch die Onkoproteine bedingten Mutationen des p53 sind verbunden mit einem schlechten Outcome für die Patienten. Im Gegensatz dazu hatten HPV positive Tumoren eine sehr gute Prognose. Untersuchungen des Resektionsrandes bezüglich Mutationen vom p53 deuten auf ein tumorspezifisches Rezidiv hin (Pai 2009). Eine Studie von Gillison mit 253 Patienten mit Tumoren der Kopf- Hals- Region wurden mittels PCR auf das Vorhandensein von HPV untersucht. 25% der untersuchten Tumorpräparate hatten einen positiven HPV Befund. Adjustiert nach dem Lymphknotenstatus, dem Alkoholkonsum und bei Patienten, die über 60 Jahre alt waren, hatten Patienten mit HPV positiven Tumoren eine um 59% verringerte Wahrscheinlichkeit am Tumor zu versterben verglichen mit Patienten, die keinen positiven HPV Befund zeigten (Gillison 2000). Eine weitere Studie von Rietbergen untersuchte 841 Tumorpräparate von Plattenepithelkarzinomen des Oropharynx. 19,4 % hatten einen positiven HPV Befund. Auch hier bestätigte sich die bessere 5-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit für Patienten mit HPV positiven Tumoren verglichen mit HPV negativen Tumoren (Rietbergen et al. 2013). Weiter ist bekannt, dass HPV positive Tumoren besser auf Chemotherapie und Radiotherapie ansprechen (Marur et al. 2010). Eine Arbeit aus dem Jahr 2016 mit 202 Patientenfällen mit einem Mundhöhlenkarzinom analysierte jedoch, dass bei klassischen Mundhöhlenkarzinomen HPV nur bei 5% aller Fälle prognostisch eine Rolle spielt (Götz, Drecoll et al. 2016). Wie bei Tumoren allgemein spielen auch bei oralen Plattenepithelkarzinomen hypoxische Verhältnisse eine Rolle bei der Tumorprogression, der Therapieresistenz als auch bei der Prognoseabschätzung. Eine bedeutende Aufgabe hierbei hat der Hypoxie-induzierbare Faktor und insbesondere seine Untereinheit  $\alpha$ . HIF- 1 alpha reguliert die Expression von Genen, die Einfluss auf die Oxygenierung in der Zelle haben. Die

Tumorhypoxie spielt eine entscheidende Rolle bei der Tumorprogression. Durch die strukturellen und funktionellen Abweichungen des Gefäßsystems im Tumorgewebe, steigt die Diffusionsdistanz für den Sauerstoff innerhalb des Tumorgewebes. Diese Gegebenheit ist unabhängig von der Tumorgöße und dem Stadium der Tumorerkrankung sowie der Differenzierung des Tumors. Es gilt als gesichert, dass Plattenepithelkarzinome der Mundhöhle mit einer hohen Expression von HIF-1 alpha eine schlechtere Prognose zeigen und weniger auf radiologische Therapien ansprechen. HIF-1 $\alpha$  negative Tumoren zeigten eine mehr als 80%-ige 5-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit. Im Falle einer mäßigen bzw. starken Expression sanken die Werte auf 30-45%. Auch die Aggressivität des Tumors hängt von der Tumorhypoxie ab. Durch den Sauerstoffmangel im Tumorgewebe wird der Transkriptionskomplex HIF-1 alpha stabilisiert und folglich die Glykolyse und die Invasivität des Tumors erhöht (Eckert et al. 2012). Über 90% von Plattenepithelkarzinomen des Kopf- Hals Bereichs zeigen eine Überexpression von EGFR. Dieser Rezeptor spielt u.a. bei dem Tumorwachstum, der Angiogenese als auch bei der Tumordinvasion eine Rolle (Pai 2009). Weitere Proteine wie Cyclin D1, p16, Cox-2 Enzyme, VEGFR, MMPs, die innerhalb der Tumorentstehung eine Rolle spielen, sind potenzielle Biomarker für Tumoren im Kopf- Hals Bereich (Thomas et al. 2005, Chang 2008). Wünschenswert ist es Biomarker zu entdecken, die eine Erfolgswahrscheinlichkeit der gewählten Therapie vorhersagen könnten (Schaaij- Visser et al. 2010). Relativ wenig ist bis dato über das Plasminogen- Aktivierungssystem im Rahmen der Prognoserelevanz bei oralen Plattenepithelkarzinomen bekannt. Nachfolgend sollen die eigenen Resultate im Kontext zum aktuellen Kenntnisstand analysiert werden.

#### 5.4 Plasminogen - Aktivierungssystem

Die zentrale Rolle des Plasminogen- Aktivierungssystems während der Tumordinvasion und Progression gewinnt immer mehr an Bedeutung (Hundsorfer et al. 2005). Das Plasminogen- Aktivierungssystem besteht aus dem Urokinase Plasminogenaktivator uPA (Serinprotease), seinem Rezeptor uPAR und den beiden Inhibitoren PAI-1 und PAI-2. Es wird angenommen, dass das Plasminogen- Aktivierungssystem an verschiedenen Prozessen während der Tumorprogression beteiligt ist. Insbesondere ist uPA in der Lage, die Extrazellulärmatrix zu verändern, sowohl die Zellproliferation als auch Migration zu verstärken und die Zelladhäsion zu steuern (Duffy 2004). Weiter spielt die Angiogenese im Tumorwachstum eine zentrale Rolle. Neue therapeutische Strategien setzen dort an, um durch das Verstehen der Prozesse während der Neovaskularisierung einzugreifen um somit das Tumorwachstum zu verhindern. Es ist bekannt, dass die Angiogenese mit einem Remodelling der Extrazellulärmatrix einhergeht. An diesem Prozess ist das Plasminogen- Aktivierungssystem beteiligt. Seine Aufgabe besteht darin, indirekt

oder direkt Matrixmetalloproteinasen zu aktivieren als auch Wachstumsfaktoren zu akquirieren (Rakic et al. 2003). Einige voneinander unabhängige Studien von verschiedenen Karzinomtypen beispielsweise von der Brust, den Eierstöcken als auch der Niere, lieferten, dass Tumoren die eine positive Expression von uPA und uPAR vorwiesen, ein schlechteres Outcome zeigten (Zeilhofer et al. 1997). Vor allem bei Brustkrebspatientinnen ist bekannt, dass das Vorhandensein von uPA mit einer schlechten Prognose assoziiert ist. Studien belegen, dass die Inhibition der katalytischen Prozesse von uPA oder die Blockade der Bindung von uPA an seinen Rezeptor, das Tumorwachstum, die Angiogenese und Metastasierung reduzieren (Duffy 2004). In den letzten Jahren untersuchten verschiedene Arbeitsgruppen den Einfluss des Plasminogen-Aktivierungssystems auf die Entstehung und Progression von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle. Nach aktuellem Kenntnisstand ist die Tumorgroße, der Lymphknotenbefall als auch der Differenzierungsgrad ausschlaggebend für die Prognose der Erkrankung. Hier besteht die Annahme, dass das Plasminogen- Aktivierungssystem durch die komplexen Vorgänge unter anderem mit Integrinen für die Expression von Proteinasen verantwortlich ist und demzufolge einen Einfluss auf die Proliferation des Tumors hat. In hochinvasiven Tumorzellen von oralen Plattenepithelkarzinomen ist das Zusammenspiel von Integrinen und des uPAR/ uPA- Komplexes vollständig deaktiviert. Basierend darauf kommt es zur matrixunabhängigen Expression von uPA (Shi und Stack 2007). Generell haben Patienten mit kleinen Tumoren eine bessere Überlebenschance. Dennoch zeigen immer wieder Fälle, dass auch kleine Tumoren sehr aggressiv sein können und früh zum Tode führen. Um eine Überbehandlung der Patienten zu vermeiden, besteht die Notwendigkeit Möglichkeiten zu finden, solche Patienten zu identifizieren (Magnussen et al. 2014). In einer Studie von Hundsdorfer wurden mittels ELISA 79 Präparate vom oralen Plattenepithelkarzinom, 58 Präparate normaler Mundschleimhaut sowie 16 Präparate von tumorpositiven Lymphknoten auf das Vorhandensein von uPA und PAI untersucht. Verglichen mit gesunder Mundschleimhaut und dem Tumorgewebe desselben Patienten, war das maligne Gewebe uPA und PAI positiv. Es besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumorgewebe mit positiven Lymphknotenbefall im Gegensatz zur gesunden Mundschleimhaut [ $p < 0,005$  für uPA und  $< 0,003$  für PAI-1]. In der eigenen Arbeit zeigte die Betrachtung der Verteilung der Lymphknotenmetastasierung, dass 48% der untersuchten Präparate keinen Lymphknotenbefall zeigten, 50% eine lymphonodale Metastasierung sowie 2% das N3- Stadium [siehe Abb. 7]. Anders als in der Studie von Hundsdorfer konnte bei der Analyse des Zusammenhangs zwischen der Expression von PAI (cytoplasmatisch und nukleär) sowie uPA und dem N- Stadium bei keinem der 3 Proteine ein statistisch signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden [PAI (cytoplasmatisch  $p = 0,68$ , PAI (nukleär)  $p = 0,58$ , uPA  $p = 0,71$ ; Chi<sup>2</sup>- Test]. In der Auswertung von Hundsdorfer wurde auch

festgestellt, dass Patienten mit einem hohen Vorkommen von uPA signifikant mehr Rezidive hatten [ $p < 0,029$ ]. Jedoch war die Korrelationen zwischen uPA und PAI mit den Parametern TNM Klassifikation, Grading, R- Klassifikation und Alter des Patienten nicht signifikant (Hundsdoerfer et al. 2005). In einer Studie von Magnussen wurde das Gewebe von 115 Patienten aus den Jahren 1986 bis 2002 mit oralen Plattenepithelkarzinom untersucht. Vom Patientengut waren 64 männlich und 51 weiblich und das mittlere Alter betrug 65 Jahre. 71% der Präparate waren von Tumoren mit geringer Größe (T1 und T2). Die Expression der Proteine des Plasminogen- Aktivierungssystems und Ki-67 wurden bezüglich des Outcomes der Patienten untersucht. In der univariaten Analyse der Biomarker (uPA, PAI, uPAR) bezüglich des tumorspezifischen Sterbens zeigte sich kein signifikantes Ergebnis. Anders als bei Magnussen waren in der eigenen Studie lediglich 56% von Tumoren mit geringer Größe zur Analyse herangezogen wurden [siehe Abb. 6]. Das Ergebnis von Magnussen bezüglich der univariaten Analyse des Zusammenhangs zwischen der Expression des Proteins und dem tumorbedingten Versterben, deckt sich mit den eigenen Ergebnissen. Das bedeutet, auch in der eigenen Arbeit konnte kein direkter Zusammenhang statistisch gesichert werden. Magnussen stellte dennoch fest, dass sich bei Patienten mit kleinen Tumoren (T1) ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer geringen Expression von UPAR sowie PAI-1 und der 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit zeigte [ $p = 0,031$  und  $p = 0,021$ ]. Hingegen war die geringe Expression von uPA und Ki-67 bezogen auf die Überlebenswahrscheinlichkeit nicht signifikant. Die Expression beider Bestandteile uPAR und PAI korrelierte signifikant bei kleinen Tumoren (T1 und T2) [ $p = 0,003$ ], nicht jedoch, wenn alle Patienten, also auch mit größeren Tumoren (T3 und T4), in die Analyse mit einbezogen wurden. Weder die Zusammenhänge zwischen einer hohen und geringen Expression der Proteine UPAR und PAI und den Parametern Geschlecht, Grading, Rauchen sowie Alkoholkonsum waren signifikant (Magnussen et al. 2014). Eine Arbeit von Nozaki bezüglich der Beteiligung des Plasminogen- Aktivierungssystems bei der Invasion und Metastasierung bei Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle wurden 34 Präparate immunhistochemisch auf die Expression von uPA, uPAR und PAI-1 und -2 untersucht. UPA war in 23,5%, uPAR in 29,4% und PAI- 1 und -2 in 11,8 % der Präparate exprimiert. Die uPA Expression korrelierte mit der Tumorinvasion und mit dem Vorhandensein von sekundären Lymphknotenmetastasen [ $p < 0,01$ ]. In der eigenen Arbeit zeigte sich, dass insgesamt 11% der untersuchten Präparate auch Fernmetastasen aufwiesen. Die Analyse der Expression der Proteine PAI (cytoplasmatisch und nukleär) und uPA und dem M- Stadium zeigte bei keinem der Proteine einen signifikanten Zusammenhang [PAI (cytoplasmatisch)  $p = 0,68$ , PAI (nukleär)  $p = 0,67$ , uPA  $p = 0,32$ ; Chi<sup>2</sup>- Test]. Demnach unterscheidet sich das eigene Ergebnis von der Arbeit Nozakis. Nozaki und Koautoren stellten weiter fest, dass bei Präparaten mit sowohl positiver uPA als auch uPAR Expression die

Tumoren deutlich mehr invasiv waren [ $p < 0,0001$ ]. Es konnte kein Zusammenhang zwischen den klinisch pathologischen Parametern und der Expression von PAI-1 und PAI-2 festgestellt werden (Nozaki et al. 1998). Eine Studie von Shi bewertet insbesondere die Rolle von uPAR bei Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle. Demnach ist das Auftreten von uPAR im Tumorgewebe mit einer höheren Invasivität des Tumors assoziiert und uPAR verstärkt die Lymphknotenmetastasierung (Shi et al. 2011). In einer retrospektiven Arbeit von Bacchiocchi von 2008 wurden 189 Präparate von Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle auf die Expression von uPAR immunhistochemisch untersucht. 74 Tumorschnitte zeigten eine positive Expression von uPAR im Cytoplasma. Die Analyse der uPAR Expression adjustiert nach dem Differenzierungsgrad und der Prognose zeigte, dass 70,4 % der uPAR positiven Präparate einen schlechten Differenzierungsgrad hatten und eine schlechtere Lebenserwartung aufwiesen [ $p = 0,0053$  bzw.  $0,0447$ ] (Bacchiocchi et al. 2008). Die eigenen Resultate unterscheiden sich von denen der Literatur hinsichtlich der Betrachtungsweise der Expression. In dieser Arbeit wurde das Plasminogen- Aktivierungssystem hinsichtlich einer Expression unterteilt beleuchtet. Das bedeutet, dass in der immunhistochemischen Analyse sowohl nach cytoplasmatischen und auch nukleären Expressionsmustern von PAI unterschieden wurde. Jedoch zeigte sich in der Studiengruppe für PAI in der multivariaten Analyse ein 2- fach erhöhtes Risiko des tumorassozierten Versterbens, wenn PAI mäßig bis stark im Tumorgewebe nukleär exprimiert wurde, wenngleich lediglich eine Tendenz zur Signifikanz beobachtet werden konnte. uPA war hinsichtlich seiner prognostischen Aussage noch deutlicher: uPA- hochgradig exprimierte Tumoren waren mit einem 3,8- fach erhöhten Risiko des tumorassozierten Versterbens assoziiert und erreichte das statistische Signifikanzniveau [ $p = 0,04$ ]. Somit kann sowohl für PAI nukleär und auch für uPA bestätigt werden, dass diese Proteine als unabhängiger Prognosefaktor bei oralen Plattenepithelkarzinomen herangezogen werden können.

Ähnlich wie bei Hundsdoerfer, Magnussen und Nozaki konnte auch in der eigenen Arbeit kein statistisch gesicherter Zusammenhang zwischen der Expression von PAI und uPA und den klinisch pathologischen Parametern T-, N- und M- Stadium sowie dem Grading nachgewiesen werden. Dies entspricht somit den Ergebnissen vergleichbarer Arbeiten. Dennoch zeigte sich vorrangig bei uPA positiven Tumoren mit einer mäßig bis starken Expression, dass 58% der Präparate, Tumoren kleinerer Größe waren (T1 und T2). Darauf aufbauend sollte untersucht werden, ob die Expression von uPA ein Hinweis auf Aggressivität kleiner Tumoren ist. Bedeutend scheint die Expression von uPA bezüglich der Entstehung von Fernmetastasen zu sein. Alle zugrundeliegenden Patienten mit Fernmetastasen zeigten eine mäßig bis starke Expression von uPA. Auch bei 79% der schlecht differenzierten Tumoren war uPA mäßig bis stark exprimiert.



Dies deckt sich mit dem Ergebnis der Studie von Bacchiocchi, wobei hier ein signifikanter Zusammenhang errechnet wurde. Weiter erwies sich auch, dass im Falle von Lymphknotenmetastasen 75% der uPA Präparate eine mäßig bis starke Expression zeigten. Auch wenn dies nicht statistisch bewiesen werden konnte, deuten diese Ergebnisse auf Zusammenhänge hin. Die oben zum Vergleich herangezogenen Studien untersuchten primär die möglichen Effekte der Expression des jeweiligen Proteins und dem Zusammenhang mit der Invasivität, dem Metastasierungsverhalten und dem Differenzierungsgrad des Tumorgewebes. In der eigenen Arbeit sollte speziell geprüft werden, ob sich die Expression der 3 Proteine als unabhängiger Prognosefaktor nutzen lässt und stellt somit ausschlaggebende neue Effekte des Plasminogen- Aktivierungssystems bezogen auf orale Plattenepithelkarzinome unter Beweis. Geprüft wurde dieser Sachverhalt mit der multivariaten Cox Regressionsanalyse adjustiert nach dem Grading, T- und N- Status. Bei PAI (cytoplasmatisch) zeigte sich, dass der Marker die erwartete Prognoserelevanz nicht bestätigt [ $p=0,33$ ]. Im Falle von PAI (nukleär) resultierte eine klare Tendenz zur Eignung als unabhängiger Prognosefaktor [ $p=0,11$ ]. Ganz hervorragend veranschaulicht die Datenlage von uPA, dass das Signifikanzniveau in der Cox Regression erreicht wurde [ $p=0,04$ ] und uPA als additiver Prognosemarker Verwendung finden könnte. Die Ergebnisse dieser Arbeit können aufgrund der geringen Datenmenge keine umfassenden Zusammenhänge aufzeigen. Vielmehr dienen sie als Richtungsgeber für nachfolgende Untersuchungen, um die Aussagewahrscheinlichkeit der gewonnenen Erkenntnisse zu erhöhen.

## 5.5 Kritik

In medizinischen Studien werden sehr häufig Prognosevorhersagen und Überlebenswahrscheinlichkeiten statistisch ermittelt und ausgewertet. Vorwiegend werden Überlebensdaten mit ad hoc Methoden, wie beispielsweise der Kaplan Meier Analyse, erhoben. Für eine solche Vorgehensweise sind keine Standards etabliert, die mögliche Ungenauigkeiten der gewählten Methode in den statistischen Berechnungen beurteilen. Es bleibt die Frage offen, welche Quantität die Datenmenge haben sollte und wie man zensierte Beobachtungen berücksichtigen und mit anderen Ergebnissen vergleichen kann (Graf et al. 1999). Weiter ist die Datenqualität von großer Bedeutung, um Aussagen aus Studien ableiten zu können. Am Beispiel des DÖSAK Tumorregisters lässt sich die Datenqualität durch die Zahl der verbliebenen Plausibilitätsfehlermeldungen beurteilen. Jedoch sind sachliche Fehler, die bei der Dokumentation von z. B. Tumordurchmesser oder Tumorlokalisierung auftreten können, nicht abbildbar. Momentan basiert die Arbeit des DÖSAK-Tumorregisters auf Vorleistungen bei der Dokumentation auf der organspezifischen Dokumentation der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Tumorzentren (ADT). Dies ist als Weiterentwicklung der methodischen Dokumentation zu

deuten. Dennoch herrschen auch bei diesem Register die gleichen Vorbehalte gegenüber Beobachtungsstudien. Nach Howaldt bestehen diese im Wesentlichen aus der Inhomogenität des Patientenkollektivs, hervorgerufen durch die Selektion bei der Meldung sowie durch unterschiedliches Vorgehen hinsichtlich Therapie und Befundung. Die Durchführung einer prospektiv randomisierten Studie ist im Grunde das einzige Studiendesign, was als statistisch anerkannte Methode zum Nachweis von Vorteilen bestimmter Therapien dient. Trotzdem ist die Beteiligung der DÖSAK-Kliniken an randomisierten Studien in den letzten 2 Jahrzehnten als unbefriedigend zu bezeichnen (Howaldt et al. 2000). Standardisierte Prognosemodelle könnten dafür genutzt werden, mögliche Variablen zu identifizieren, die Einfluss auf die Vorhersagbarkeit für Patienten Outcomes haben und die verschiedene Risikofaktoren in eine systematische und reproduzierbare Weise in Bezug zu evidenzbasierten Methoden bringen. Die Zuverlässigkeit der Modelle hängt zum einen von der fachkundigen Anwendung statistischer Methoden als auch von dem medizinischen Fachwissen ab. In einer Studie zu diesem Sachverhalt wurden mit einem definierten Suchbegriff Studien von PubMed ausgewählt und die Genauigkeit der Studiendesigns ausgewertet. Inbegriffen waren Arbeiten, die 2005 erschienen, die hilfreich für die Vorhersagbarkeit der Überlebenswahrscheinlichkeiten waren und neue Prognosemodelle von Tumorpatienten beschrieben. Von 47 Studien waren lediglich 15 prospektive, randomisierte Studien. 14 Veröffentlichungen zeigten unzureichende Daten, wobei lediglich 10 Ereignisse pro Variable verwendet wurden. Die Kodierung der Variablen wurde nur in 32 Studien aufgeklärt. Auch die Auswahl der Variablen für multivariate Analysen wurde bei 48% der Studien durch univariate Analyse vorgenommen, obwohl dies nicht die geeignete Methode ist (Mallet et al. 2010). Auch bei dem Vergleich und der Auswertung der Arbeiten bezüglich der Abhängigkeit und dem Zusammenhang des Plasminogen- Aktivierungssystems und der Entstehung und Progression eines Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle, fiel auf, dass die Studiendesigns sowie die Anzahl der verwendeten Patienten als auch für die Erhebung der Daten verwendeten Methoden sehr unterschiedlich waren (Zeilhofer et al. 1997, Nozaki et al. 1998, Magnussen et al. 2014, Bacchiocchi et al. 2008, Yoshizawa et al. 2011). Demzufolge erwies sich der Vergleich untereinander als schwierig. In der Arbeit von Zeilhofer aus dem Jahr 1997 wurden 220 Präparate von Patienten mit einem oralen Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle mittels ELISA auf das Vorkommen von uPA, uPAR und PAI-1 untersucht (Zeilhofer et al. 1997). Lediglich 54 Patienten aus der Studie von Yoshizawa wurden mittels der LSAB Methode hinsichtlich der Expression von uPA, uPAR und Maspin analysiert (Yoshizawa et al. 2011). Magnussen wertete wiederum 220 Patientenfälle bezüglich der Expression von uPAR und PAI-1 mit TMA aus (Magnussen et al. 2014). In der eigenen Arbeit wurden 55 Tumorschnitte auf die Expression der beiden Proteine uPA und PAI für die statistischen Analysen herangezogen, ausgewertet und

immunohistochemisch gefärbt. Die Beispiele sollen die oben angesprochene Inhomogenität der Studiendesigns beleuchten und für zukünftige Arbeiten als Hinweis verstanden werden, die Vorgehensweise zu systematisieren, damit die Vergleichbarkeit der Studien erhöht wird und somit die Etablierung von nachweislich geeigneten Biomarkern in den klinischen Alltag vorangetrieben wird. Dennoch beleuchtet die vorliegende Arbeit interessante Zusammenhänge zwischen der Expression von PAI und uPA und den Abhängigkeiten auf die Prognose von oralen Plattenepithelkarzinomen.

## 6 Zusammenfassung

Das orale Plattenepithelkarzinom gehört zu den 10 häufigsten bösartigen Neubildungen des Menschen. Der Konsum von Alkohol und Tabak gelten als Auslöser für Tumoren im Mund- und Rachenraum. Weitere mögliche Risikofaktoren sind vitaminarme Ernährung, schlechte Mundhygiene und mechanische Irritationen. Das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle wird primär chirurgisch behandelt. Trotz Fortschritten im chirurgischen Vorgehen durch mikrovaskuläre rekonstruktive Techniken und bei der bildgebenden Diagnostik, ist die Prognose für Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle eher schlecht. Die 5-Jahresüberlebenschance liegt zwischen 40- 55%. Als etablierter Prognosemarker dient das TNM- System. Aber auch patientenbezogene Faktoren wie das Alter und Geschlecht spielen bei der Prognose eine Rolle. Es ist auffällig, dass Tumoren trotz vollständiger Entfernung rezidivieren. Dadurch rückte die Suche nach morphologischen und molekularbiologischen Besonderheiten oraler Plattenepithelkarzinome in den Fokus der Wissenschaft. In diesem Zusammenhang wird nach geeigneten Biomarkern gesucht. Momentan gibt es im Bereich des oralen Plattenepithelkarzinoms keinen Tumormarker, der sich klinisch etabliert hat. Im wissenschaftlichen Interesse der vorliegenden Arbeit steht das Plasminogen-Aktivierungssystem. Es wird davon ausgegangen, dass dessen Bestandteile (uPA, uPAR, PAI) an verschiedenen Prozessen während der Tumorprogression beteiligt sind. Insbesondere uPA ist in der Lage die Extrazellulärmatrix zu verändern, sowohl die Zellproliferation als auch Migration zu verstärken und die Zelladhäsion zu steuern. Die eigene retrospektive Studie an 55 Patienten mit einem oralen Plattenepithelkarzinom erweitert die aktuelle Studienlage. Der Einfluss des Plasminogen- Aktivierungssystems auf die Progression von Mundhöhlenkarzinomen konnte anhand immunhistochemischer Färbungen bestätigt werden. Hierbei ist hervorzuheben, dass die Expression von uPA und PAI (nukleär) im Tumorgewebe als unabhängiger prognostischer Faktor bezeichnet werden kann. Der Zusammenhang der Expressionsstärke von uPA und PAI und den klinisch pathologischen Parametern T-, N- und M-Stadium sowie dem Grading sind in dieser Studie nicht bestätigt worden. Dennoch deuten sich insbesondere bei uPA mögliche Zusammenhänge bezüglich der Tumorgroße als auch der Entstehung von Fernmetastasen an. Diese Arbeit bietet für nachfolgende Studien maßgebliche Tendenzen, um den Einfluss des Plasminogen- Aktivierungssystems auf die Entstehung des Mundhöhlenkarzinoms zu bestätigen. Die Vision besteht weiterhin, die 5- Jahresüberlebenschance deutlich zu verbessern und Wege zu finden, die Therapie der Erkrankung zu individualisieren. Vielleicht kann

perspektivisch das System uPA, uPAR, PAI im Kontext mit weiteren Proteinen hinsichtlich einer additiven prognostischen Kalkulation herangezogen werden.

## 7 Literaturverzeichnis

Andreasen, P. A.; Egelund, R.; Petersen, H. H. (2000): The plasminogen activation system in tumor growth, invasion, and metastasis. In: Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS) 57 (1), S. 25–40. DOI: 10.1007/s000180050497.

Andreasen et al.: The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: A review. In: Int. J. Cancer 1997, S. doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19970703)72:1%3C1::AID-IJC1%3E3.0.CO;2-Z

Bacchiocchi, Roberta; Rubini, Corrado; Pierpaoli, Elisa; Borghetti, Giulia; Procacci, Pasquale; Nocini, Pier Francesco et al. (2008): Prognostic value analysis of urokinase-type plasminogen activator receptor in oral squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study. In: BMC Cancer 8, S. 220. DOI: 10.1186/1471-2407-8-220.

Bagnardi, V.; Blangiardo, M.; La Vecchia, C.; Corrao, G. (2001): A meta-analysis of alcohol drinking and cancer risk. In: British journal of cancer 85 (11), S. 1700–1705. DOI: 10.1054/bjoc.2001.2140.

Barnes, Leon (Hg.) (2005): Pathology and genetics of head and neck tumours: World Health Organization (World Health Organization classification of tumours, 9).

Bier, Jürgen; Loer, Eberhard; Franke, Jürgen; Platz, Helmut (1980): Tierexperimentelle Untersuchungen zur intraarteriellen Chemotherapie mit Bleomycin. In: Arch Otorhinolaryngol 228 (4), S. 271–283. DOI: 10.1007/BF00660740.

Binder, Bernd R.; Mihaly, Judit; Prager, Gerald W. (2007): uPAR – uPA – PAI-1 interactions and signaling: A vascular biologist's view. In: Thromb Haemost, S. 336–342. DOI: 10.1160/TH06–11–0669.

Boenisch, Thomas; Henne, Christof (Hg.) (2003): Handbuch immunchemische Färbemethoden. DakoCytomation GmbH. 3. Aufl. Hamburg.

Bonner, James A.; Harari, Paul M.; Giralt, Jordi; Azarnia, Nozar; Shin, Dong M.; Cohen, Roger B. et al. (2006): Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. In: The New England journal of medicine 354 (6), S. 567–578. DOI: 10.1056/NEJMoa053422.

Braakhuis, B J M; Brakenhoff, R. H.; Leemans, C. René (2012): Treatment choice for locally advanced head and neck cancers on the basis of risk factors: biological risk factors. In: Ann. Oncol. 23 Suppl 10, x173-7. DOI: 10.1093/annonc/mds299.

Chang, Steven S.; Califano, Joseph (2008): Current status of biomarkers in head and neck cancer. In: Journal of surgical oncology 97 (8), S. 640–643. DOI: 10.1002/jso.21023.

Chen, Herbert (Hg.) (2010): Illustrative Handbook of General Surgery. London: Springer London.

Doz., Ch. Mohr; Bohndori, W.; Carstens, J.; Härle, F.; Hausamen, J. E.; Hirche, H. et al. (1994): Preoperative radiochemotherapy and radical surgery in comparison with radical surgery alone. A prospective, multicentric, randomized DÖSAK study of advanced squamous cell carcinoma of the oral cavity and the oropharynx (a 3-year follow-up). In: International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 23 (3), S. 140–148. DOI: 10.1016/S0901-5027(05)80288-7.

Duffy, Michael (2004): The Urokinase Plasminogen Activator System: Role in Malignancy. In: CPD 10 (1), S. 39–49. DOI: 10.2174/1381612043453559.

- Eckardt, André; Fokas, Konstantinos (2003): Microsurgical reconstruction in the head and neck region. An 18-year experience with 500 consecutive cases. In: *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 31 (4), S. 197–201. DOI: 10.1016/S1010-5182(03)00039-8.
- Eckert, A. W.; Kappler, M.; Schubert, J.; Taubert, H. (2012): Correlation of expression of hypoxia-related proteins with prognosis in oral squamous cell carcinoma patients. In: *Oral and maxillofacial surgery* 16 (2), S. 189–196. DOI: 10.1007/s10006-012-0335-8.
- Eiband, J. D.; Elias, E. G.; Suter, C. M.; Gray, W. C.; Didolkar, M. S. (1989): Prognostic factors in squamous cell carcinoma of the larynx. In: *American journal of surgery* 158 (4), S. 314–317.
- Frerich, B. (2010): Standardtherapie von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle gemäß Leitlinien. In: *MKG-Chirurg* 3 (1), S. 16–24. DOI: 10.1007/s12285-009-0103-4.
- Fu, K. K.; Phillips, T. L.; Silverberg, I. J.; Jacobs, C.; Goffinet, D. R.; Chun, C. et al. (1987): Combined radiotherapy and chemotherapy with bleomycin and methotrexate for advanced inoperable head and neck cancer: update of a Northern California Oncology Group randomized trial. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 5 (9), S. 1410–1418. DOI: 10.1200/JCO.1987.5.9.1410.
- Gillison, M. L. (2000): Evidence for a Causal Association Between Human Papillomavirus and a Subset of Head and Neck Cancers. In: *Journal of the National Cancer Institute* 92 (9), S. 709–720. DOI: 10.1093/jnci/92.9.709.
- Glöggler, Annemarie (2008): Kurzgefasste interdisziplinäre Leitlinien 2008. Empfehlungen zur Diagnostik und Therapie maligner Erkrankungen ; [Update]. [6. Aufl.]. München [u.a.]: Zuckschwerdt.
- Götz C, Drecoll E, Straub M, Bissinger O, Wolff K-D, Kolk A. Impact of HPV infection on oral squamous cell carcinoma. *Oncotarget*. 2016 ;7(47):76704-76712. doi:10.18632/oncotarget.12501.
- Greene, Frederick L.; Compton, Carolyn C.; Fritz, April G.; Shah, Jatin P.; Winchester, David P. (Hg.) (2006): *AJCC Cancer Staging Atlas. Lip and Oral Cavity*. New York: Springer- Verlag.
- Greene, Frederick L.; Compton, Carolyn C.; Fritz, April G.; Shah, Jatin P.; Winchester, David P. (Hg.) (2006): *AJCC Cancer Staging Atlas. Introduction to Head and Neck Sites*. New York: Springer- Verlag.
- Greene, Frederick L.; Compton, Carolyn C.; Fritz, April G.; Shah, Jatin P.; Winchester, David P. (Hg.) (2006): *AJCC Cancer Staging Atlas. Purposes and Principles of Staging*. New York: Springer-Verlag.
- Gustavsson, P.; Jakobsson, R.; Johansson, H.; Lewin, F.; Norell, S.; Rutkvist, L. E. (1998): Occupational exposures and squamous cell carcinoma of the oral cavity, pharynx, larynx, and oesophagus: a case-control study in Sweden. In: *Occupational and Environmental Medicine* 55 (6), S. 393–400.
- Harisinghani, Mukesh G. (2013): Head and Neck Lymph Node Anatomy. In: Mukesh G. Harisinghani (Hg.): *Atlas of Lymph Node Anatomy*. New York, NY: Springer New York, S. 1–29.
- Howaldt, H. P.; Vorast, H.; Blecher, J. C.; Reicherts, M.; Kainz, M. (2000): Ergebnisse aus dem DOSAK-Tumorregister. In: *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie : MKG* 4 Suppl 1, S216-25. DOI: 10.1007/PL00014543.

- Hullmann, M. M.; Reichert, T. E. (2011): Aktuelle Konzepte zur Früherkennung, Diagnostik und Therapie oraler Plattenepithelkarzinome. In: Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 54 (9), S. 1083–1088. DOI: 10.1007/s00103-011-1334-x.
- Hundsdorfer, Brigitte; Zeilhofer, Hans-Florian; Bock, Klaus Peter; Dettmar, Peer; Schmitt, Manfred; Kolk, Andreas et al. (2005): Tumour-associated urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor PAI-1 in normal and neoplastic tissues of patients with squamous cell cancer of the oral cavity - clinical relevance and prognostic value. In: Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery 33 (3), S. 191–196. DOI: 10.1016/j.jcms.2004.12.005.
- Iype, Elizabeth Mathew; Sebastian, Paul; Mathew, Aleyamma; Balagopal, P. G.; Varghese, Bipin T.; Thomas, Shaji (2008): The role of selective neck dissection (I-III) in the treatment of node negative (N0) neck in oral cancer. In: Oral Oncology 44 (12), S. 1134–1138. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2008.02.017.
- Jacobs, J. R.; Ahmad, K.; Casiano, R.; Schuller, D. E.; Scott, C.; Laramore, G. E.; al-Sarraf, M. (1993): Implications of positive surgical margins. In: The Laryngoscope 103 (1 Pt 1), S. 64–68. DOI: 10.1288/00005537-199301000-00012.
- Kaplan, E. L.; Meier, Paul (1958): Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. In: Journal of the American Statistical Association 53 (282), S. 457. DOI: 10.2307/2281868.
- Katalinic, Alexander (2013): Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. Atlas der Krebsinzidenz und –mortalität in Deutschland (GEKID-Atlas). Lübeck. Online verfügbar unter [www.gekid.de](http://www.gekid.de), zuletzt geprüft am 18.01.2015.
- Lautner W (2008) Rolle des Tumorphoxiemarkers Glut-1 in Ergänzung zu klinischen Parametern für prognostische Aussagen beim Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle. Diss. Martin- Luther-Universität Halle/ Wittenberg.
- La Vecchia, C.; Tavani, A.; Franceschi, S.; Levi, F.; Corrao, G.; Negri, E. (1997): Epidemiology and prevention of oral cancer. In: Oral Oncology 33 (5), S. 302–312. DOI: 10.1016/S1368-8375(97)00029-8.
- Lehnerdt, G.; Hoffmann, T. K.; Mattheis, S.; Brandau, S.; Zeidler, R.; Lang, S. (2010): Tumormarker und Prognosefaktoren bei Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region. In: HNO 58 (7), 713-23; quiz 724-5. DOI: 10.1007/s00106-010-2108-8.
- Lettré, H. (1957): Wirkungsmechanismus tumorhemmender Stoffe. In: Fortschr Kiefer.
- Listl, Stefan; Jansen, Lina; Stenzinger, Albrecht; Freier, Kolja; Emrich, Katharina; Holleczeck, Bernd et al. (2013): Survival of patients with oral cavity cancer in Germany. In: PloS one 8 (1), e53415. DOI: 10.1371/journal.pone.0053415.
- Lo, T. C.; Wiley, A. L.; Ansfield, F. J.; Brandenburg, J. H.; Davis, H. L.; Gollin, F. F. et al. (1976): Combined radiation therapy and 5-fluorouracil for advanced squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx: a randomized study. In: AJR. American journal of roentgenology 126 (2), S. 229–235. DOI: 10.2214/ajr.126.2.229.
- Lothaire, Phillipe; Azambuja, Evandro de; Dequanter, Didier; Lalami, Yassine; Sotiriou, Christos; Andry, Guy et al. (2006): Molecular markers of head and neck squamous cell carcinoma: promising signs in need of prospective evaluation. In: Head & neck 28 (3), S. 256–269. DOI: 10.1002/hed.20326.



- Magnussen, Synnøve; Rikardsen, Oddveig G.; Hadler-Olsen, Elin; Uhlin-Hansen, Lars; Steigen, Sonja E.; Svineng, Gunbjørg (2014): Urokinase plasminogen activator receptor (uPAR) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) are potential predictive biomarkers in early stage oral squamous cell carcinomas (OSCC). In: *PloS one* 9 (7), e101895. DOI: 10.1371/journal.pone.0101895.
- Maier, Heinz; Tisch, Matthias (2009): Epidemiology of Laryngeal Cancer: Results of the Heidelberg Case-Control Study. In: *Acta Oto-Laryngologica* 117 (sup527), S. 160–164. DOI: 10.3109/00016489709124063.
- Mallett, Susan; Royston, Patrick; Dutton, Susan; Waters, Rachel; Altman, Douglas G. (2010): Reporting methods in studies developing prognostic models in cancer: a review. In: *BMC Med* 8, S. 20. DOI: 10.1186/1741-7015-8-20.
- Marur, Shanthi; D'Souza, Gypsyamber; Westra, William H.; Forastiere, Arlene A. (2010): HPV-associated head and neck cancer. A virus-related cancer epidemic. In: *The Lancet Oncology* 11 (8), S. 781–789. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70017-6.
- Metelmann, H. R. (2000): Chemotherapie und Radiochemotherapie bei Tumoren im Kopf-Hals-Bereich. In: *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie : MKG* 4 Suppl 1, S155-9. DOI: 10.1007/PL00014536.
- Mohr, C.; Bohndorf, W.; Gremmel, H.; H?rle, F.; Hausamen, J.-E.; Hirche, H. et al. (1994): Preoperative Radiochemotherapy and Radical Surgery of Advanced Head and Neck Cancers ? Results of a Prospective, Multicenter DÖSAK Study. In: Ch Herfarth, H.-J Senn, M. Baum, V. Diehl, F. Gutzwiller, M. F. Rajewsky et al. (Hg.): *Carcinoma of the Oral Cavity and Oropharynx*, Bd. 134. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Recent Results in Cancer Research), S. 155–163.
- Noguchi, M.; Kido, Y.; Kubota, H.; Kinjo, H.; Kohama, G. (1999): Prognostic factors and relative risk for survival in N1-3 oral squamous cell carcinoma: a multivariate analysis using Cox's hazard model. In: *The British journal of oral & maxillofacial surgery* 37 (6), S. 433–437. DOI: 10.1054/bjom.1999.0146.
- Nozaki, S.; Endo, Y.; Kawashiri, S.; Nakagawa, K.; Yamamoto, E.; Yonemura, Y.; Sasaki, T. (1998): Immunohistochemical localization of a urokinase-type plasminogen activator system in squamous cell carcinoma of the oral cavity: association with mode of invasion and lymph node metastasis. In: *Oral Oncology* 34 (1), S. 58–62. DOI: 10.1016/S1368-8375(97)00028-6.
- Nozaki, Shinichi; Endo, Yoshio; Nakahara, Hirokazu; Yoshizawa, Kunio; Hashiba, Yukari; Kawashiri, Shuichi et al. (2005): Inhibition of invasion and metastasis in oral cancer by targeting urokinase-type plasminogen activator receptor. In: *Oral Oncology* 41 (10), S. 971–977. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2005.05.013.
- Pai, Sara I.; Westra, William H. (2009): Molecular pathology of head and neck cancer: implications for diagnosis, prognosis, and treatment. In: *Annu Rev Pathol* 4, S. 49–70. DOI: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092158.
- Platz H, Fries R, Hudec M, Retrospektive DÖSAK-Studie über Karzinome der Mundhöhle. *Onkologie* 1983;6:320-328
- Rakic, J. M.; Maillard, C.; Jost, M.; Bajou, K.; Masson, V.; Devy, L. et al. (2003): Role of plasminogen activator-plasmin system in tumor angiogenesis. In: *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* 60 (3), S. 463–473. DOI: 10.1007/s000180300039.

- Remmele, W.; Stegner, H. E. (1987): Vorschlag zur einheitlichen Definition eines Immunreaktiven Score (IRS) für den immunhistochemischen Östrogenrezeptor-Nachweis (ER-ICA) im Mammakarzinomgewebe. In: *Der Pathologe* 8 (3), S. 138–140.
- Rietbergen, M. M.; Brakenhoff, R. H.; Bloemena, E.; Witte, B. I.; Snijders, P J F; Heideman, D A M et al. (2013): Human papillomavirus detection and comorbidity: critical issues in selection of patients with oropharyngeal cancer for treatment De-escalation trials. In: *Ann. Oncol.* 24 (11), S. 2740–2745. DOI: 10.1093/annonc/mdt319.
- Robbins, K. Thomas; Clayman, Garry; Levine, Paul A.; Medina, Jesus; Sessions, Roy; Shaha, Ashok et al. (2002): Neck Dissection Classification Update. In: *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 128 (7), S. 751. DOI: 10.1001/archotol.128.7.751.
- Robert-Koch-Institut: Krebs in Deutschland 2009/2010, zuletzt geprüft am 22.01.2015.
- Rogers, Simon N.; Brown, James S.; Woolgar, Julia A.; Lowe, Derek; Magennis, Patrick; Shaw, Richard J. et al. (2009): Survival following primary surgery for oral cancer. In: *Oral Oncology* 45 (3), S. 201–211. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2008.05.008.
- Sanchíz, F.; Milla, A.; Torner, J.; Bonet, F.; Artola, N.; Carreño, L. et al. (1990): Single fraction per day versus two fractions per day versus radiochemotherapy in the treatment of head and neck cancer. In: *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics\*Physics* 19 (6), S. 1347–1350. DOI: 10.1016/0360-3016(90)90342-H.
- Schaaij-Visser, Tienieke B M; Brakenhoff, Ruud H.; Leemans, C. René; Heck, Albert J R; Slijper, Monique (2010): Protein biomarker discovery for head and neck cancer. In: *J Proteomics* 73 (10), S. 1790–1803. DOI: 10.1016/j.jprot.2010.01.013.
- Scheunemann, H. (1964): Experimentelle und klinische Untersuchungen zur intraarteriellen Chemotherapie inoperabler maligner Tumoren im Kiefer- und Gesichtsbereich.
- Schliephake, H. (2003): Prognostic relevance of molecular markers of oral cancer--a review. In: *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 32 (3), S. 233–245. DOI: 10.1054/ijom.2002.0383.
- Schwenzer, N.; Spiessl B. (1959): Unsere ersten klinischen Erfahrungen über die E-39-Behandlung bösartiger Tumoren im Kiefer-Gesichtsbereich.
- Scully, Crispian; Bagan, Jose (2009): Oral squamous cell carcinoma overview. In: *Oral Oncology* 45 (4-5), S. 301–308. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2009.01.004.
- Seifert, Gerhard (Hg.) (2014): *Oralpathologie. Mundhöhle, angrenzendes Weichteil- und Knochengewebe.* Unter Mitarbeit von A. Burkhardt, Konrad Morgenroth und G. Seifert. 2., Aufl. 2000. Softcover reprint of the original 2nd ed. 2000. Berlin: Springer Berlin (Spezielle pathologische Anatomie / Oralpathologie, 1 / 3).
- Shanta, V.; Krishnamurthi, S. (1980): Combined bleomycin and radiotherapy in oral cancer. In: *Clinical Radiology* 31 (5), S. 617–620. DOI: 10.1016/S0009-9260(80)80069-9.
- Shi, Zonggao; Stack, M. Sharon (2007): Urinary-type plasminogen activator (uPA) and its receptor (uPAR) in squamous cell carcinoma of the oral cavity. In: *Biochem. J.* 407 (2), S. 153–159. DOI: 10.1042/BJ20071037.
- Shingaki, Susumu; Takada, Masahito; Sasai, Keisuke; Bibi, Rahima; Kobayashi, Tadaharu; Nomura, Tsutomu; Saito, Chikara (2003): Impact of lymph node metastasis on the pattern of failure and survival in oral carcinomas. In: *American journal of surgery* 185 (3), S. 278–284.

- Siewert, J. Rüdiger; Brauer, Robert B. (2010): Basiswissen Chirurgie. 2., überarbeitete und aktualisierte Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg (SpringerLink : Bücher).
- Silva, P.; Homer, J. J.; Slevin, N. J.; Musgrove, B. T.; Sloan, P.; Price, P.; West, C M L (2007): Clinical and biological factors affecting response to radiotherapy in patients with head and neck cancer: a review. In: *Clin Otolaryngol* 32 (5), S. 337–345. DOI: 10.1111/j.1749-4486.2007.01544.x.
- Smith, Elaine M.; Rubenstein, Linda M.; Hoffman, Henry; Haugen, Thomas H.; Turek, Lubomir P. (2010): Human papillomavirus, p16 and p53 expression associated with survival of head and neck cancer. In: *Infect. Agents Cancer* 5, S. 4. DOI: 10.1186/1750-9378-5-4.
- Sutton, D. N.; Brown, J. S.; Rogers, S. N.; Vaughan, E. D.; Woolgar, J. A. (2003): The prognostic implications of the surgical margin in oral squamous cell carcinoma. In: *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 32 (1), S. 30–34. DOI: 10.1054/ijom.2002.0313.
- Thomas, Giovana R.; Nadiminti, Hari; Regalado, Jacinto (2005): Molecular predictors of clinical outcome in patients with head and neck squamous cell carcinoma. In: *International journal of experimental pathology* 86 (6), S. 347–363. DOI: 10.1111/j.0959-9673.2005.00447.x.
- Tytor, M.; Olofsson, J. (1992): Prognostic factors in oral cavity carcinomas. In: *Acta otolaryngologica. Supplementum* 492, S. 75–78.
- Wang, Zhi; Feng, Xiaodong; Liu, Xinyu; Jiang, Lu; Zeng, Xin; Ji, Ning et al. (2009): Involvement of potential pathways in malignant transformation from oral leukoplakia to oral squamous cell carcinoma revealed by proteomic analysis. In: *BMC Genomics* 10, S. 383. DOI: 10.1186/1471-2164-10-383.
- Wiltfang, Jörg; Grabenbauer, Gerhard; Bloch-Birkholz, Alexandra; Leher, Anna; Neukam, Friedrich Wilhelm; Kessler, Peter (2003): Beurteilung der Lebensqualität von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle Vergleich von zwei Behandlungsstrategien in einer prospektiven Studie-erste Ergebnisse. In: *Strahlenther Onkol* 179 (10), S. 682–689. DOI: 10.1007/s00066-003-1143-8.
- Wittekind, C.; Oberschmid, B. (2010): TNM-Klassifikation maligner Tumoren 2010. Allgemeine Aspekte und Änderungen im allgemeinen Teil. In: *Pathologe* 31 (5), 333-4, 336-8. DOI: 10.1007/s00292-010-1301-6.
- Wittekind, C.; Weber, A.; Weidenbach, H. (2001): Pathologie und Prognosefaktoren von Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches. In: *Der Onkologe* 7 (5), S. 498–504. DOI: 10.1007/s007610170102.
- Wolff, K.-D. (2010): Mikrovaskulärer Gewebetransfer. In: *MKG-Chirurg* 3 (1), S. 30–37. DOI: 10.1007/s12285-009-0104-3.
- Wolff, Klaus-Dietrich; Follmann, Markus; Nast, Alexander (2012): The diagnosis and treatment of oral cavity cancer. In: *Deutsches Arzteblatt international* 109 (48), S. 829–835. DOI: 10.3238/arztebl.2012.0829.
- Woolgar, Julia Anne; Triantafyllou, Asterios (2009): Pitfalls and procedures in the histopathological diagnosis of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma and a review of the role of pathology in prognosis. In: *Oral Oncology* 45 (4-5), S. 361–385. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2008.07.016.
- Yoshizawa, Kunio; Nozaki, Shinichi; Kitahara, Hiroko; Kato, Koroku; Noguchi, Natsuyo; Kawashiri, Shuichi; Yamamoto, Etsuhide (2011): Expression of urokinase-type plasminogen

activator/urokinase-type plasminogen activator receptor and maspin in oral squamous cell carcinoma: Association with mode of invasion and clinicopathological factors. In: *Oncol. Rep.* 26 (6), S. 1555–1560. DOI: 10.3892/or.2011.1419.

Zeilhofer, H.-F.; Bock, K. P.; Dettmar, P.; Hundsdorfer, B.; Ulm, K.; Sader, R. et al. (1999): Clinical relevance of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor PAI-1 in oral squamous cell carcinoma (OSCC). In: *European Journal of Cancer* 35, S166. DOI: 10.1016/S0959-8049(99)81050-8.

Zeilhofer, H.-F.; Bock, K. P.; Dettmar, P.; Hundsdorfer-Krois, B.; Höfler, H.; Sader, R. et al. (1997): Oral squamous cell carcinoma (OSCC) — The role of to the tumor associated proteases uPA, PAI-1, cathepsin D, cathepsin B, cathepsin L and the receptor uPA-R. In: *European Journal of Cancer* 33, S184. DOI: 10.1016/S0959-8049(97)85488-3.

## 8 Thesen

1. Das orale Plattenepithelkarzinom ist eine bösartige Neoplasie. Sie ist eine der 10 häufigsten in Deutschland.
2. Die 5- Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit stagniert seit ca. 40 Jahren und liegt zwischen 40- 55%.
3. Das TNM- System wird aus klinischer Sicht zur Prognoseabschätzung herangezogen. Individuelle prognostische Aussagen gelingen damit jedoch nicht.
4. Das Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle wird primär chirurgisch behandelt und die Therapie mit Chemotherapie oder kombinierter Radio/ Chemotherapie ergänzt. Verlässliche additive prognostische Faktoren auf molekularer Ebene für eine therapeutische Stratifizierung wären sehr von Interesse.
5. Das Verständnis über die Entstehung und Progression eines Tumors auf molekularer Ebene dient dazu, die Therapie zu individualisieren und dadurch die Überlebenswahrscheinlichkeit zu verbessern. In diesem Zusammenhang wird nach geeigneten Biomarkern gesucht.
6. Die Bestandteile des Plasminogen- Aktivierungssystems eignen sich als Tumormarker beim oralen Plattenepithelkarzinom. Entscheidend sind deren Einflüsse auf die Zellmigration und Zelladhäsion sowie die Veränderungen der Extrazellulärmatrix.
7. Eine signifikante Abhängigkeit der Expression von PAI und uPA auf die klinisch pathologischen Parameter T-, N- und M- Stadium sowie dem Grading besteht nicht.
8. Mit Hilfe der Cox Regressionsanalyse (adjustiert nach T-, N- Stadium und Grading) zeigt sich, dass uPA als unabhängiger additiver Prognosefaktor dient (RR= 3,8, p= 0,04).
9. In der multivariaten Analyse von PAI (nukleär) konnte eine Tendenz zur Prognoserelevanz bestätigt werden (adjustiert nach T-, N- Stadium und Grading) (RR= 2,0, p=0,11).
10. Leider konnte die erwartete Prognoserelevanz von PAI (cytoplasmatisch) nicht bestätigt werden (RR=1,5, p= 0,33).

## Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

München, den

Julia Höhne

## Erklärung über frühere Promotionsversuche

Hiermit versichere ich, dass ich die Promotion bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

München, den

Julia Höhne

## Lebenslauf

Aus Datenschutzgründen hier entfernt



## Lebenslauf

Aus Datenschutzgründen hier entfernt

## Lebenslauf

Aus Datenschutzgründen hier entfernt

## Danksagung

Im Rahmen dieser Studie und darüber hinaus danke ich insbesondere meinem Betreuer Prof. Dr. Dr. A.W. Eckert für die Überlassung des Themas. Hervorheben möchte ich in diesem Zusammenhang seine nahezu unendliche Geduld bei der Begutachtung der verschiedenen Versionen der Dissertation und seinen unbändigen Willen, durch seine kritischen Anmerkungen und Darstellungen neuer Blickwinkel, die Arbeit zu vertiefen und aufzuwerten.

Außerordentlichen Dank möchte ich Herrn Dr. Kappler aussprechen. Er führte mich in die Methodik der Arbeit ein und hatte immer ein offenes Ohr bei statistischen Fragen meinerseits.

Zutiefst bin ich meinem Lieblingsmenschen und Ehemann Mathias dankbar. Während ich über der Arbeit saß und versuchte diese voran zu bringen, hat er zurückgesteckt und mich in allen Belangen unterstützt.

Danken möchte ich auch meinen beiden Kindern Frida und Valentin. Ihr musstet einige Male eure Mama müde erleben. Ihr habt das fantastisch weggesteckt.