

Aus dem Funktionsbereich operative Gynäkologie und Onkologie  
(Leiter: Prof. Dr. med. habil. G. Köhler)  
der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe  
(Direktor: Prof. Dr. med. habil. W. Straube)  
der Medizinischen Fakultät  
der Ernst Moritz Arndt Universität Greifswald

**Die prognostische Relevanz des Proliferationsmarkers MIB-1  
und anderer klinischer und pathologischer Faktoren  
beim Plattenepithel Karzinom der Zervix**

Inaugural-Dissertation  
Zur Erlangung des akademischen  
Grades  
Doktor der Medizin  
(Dr. med.)  
der Medizinischen Fakultät  
der Ernst Moritz Arndt Universität  
Greifswald  
2006

vorgelegt von: Christina Pohlman  
geb. am: 09.07.1971  
in: Göppingen

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
APAAP Komplex Komplex	Alkalische Phosphatase-Antialkalische Phosphatase
CIN	Cervicale Intraepitheliale Neoplasie
DNS	Desoxyribonukleinsäure
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPV	Human Papilloma Virus
LK	Lymphknoten

## **Inhaltsverzeichnis**

1	Einführung	4
1.1	Einleitung	4
1.2	Zielstellung	6
2	Das Zervixkarzinom	7
2.1	Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese	7
2.2	WHO-Klassifikation maligner epithelialer Tumoren	9
2.3	Stadieneinteilung und stadiengerechte Therapie	10
2.4	Prognosefaktoren beim Zervixkarzinom	13
3	MIB-1	17
3.1	Der monoklonale Antikörper MIB-1 gegen das Ki-67 Protein	17
3.2	MIB-1 in der Zervix-Pathologie	18
4	Material und Methoden	20
4.1	Auswahl der Patientinnen	20
4.2	Immunhistochemische Untersuchungen	21
4.3	Ermittlung des MIB-1 Markierungsindex	22
4.4	Histopathologische Faktoren und Nachsorge	23
4.5	Statistische Auswertung	25
4.6	Methodenkritik	26
5	Ergebnisse	27
5.1	Beschreibung der Variablen	27
5.2	MIB-1 in Beziehung zu den anderen Faktoren	36
5.3	Überlebensstatistik	42
6	Diskussion	52
7	Literaturverzeichnis	64
8	Abbildungen	78
9	Thesen	82
	Anhang	

## **1. Einführung**

### **1.1. Einleitung**

Trotz vorteilhafter Entwicklungen in den letzten 30 Jahren bleibt das invasive Zervixkarzinom ein weltweites Problem. Mit einer geschätzten Zahl von 371.200 neuen Fällen jährlich handelt es sich um das dritthäufigste Malignom bei Frauen weltweit (77). In Deutschland lag es 1997 mit 5800 Fällen in der Rangliste der bei Frauen neu diagnostizierten Karzinome auf Platz 8 (26). Ausgedehnte Screening Programme, in Deutschland seit den frühen 70er Jahren bestehend (87), haben zu einem deutlichen Rückgang invasiver Zervixkarzinome geführt. Besonders beachtenswert sind in diesem Zusammenhang die Ergebnisse einiger nordeuropäischer Länder (Finnland, Island, Schweden), welche durch landesweite Screeningprogramme einen Rückgang der Morbidität um fast 70 % erreichten (25).

Doch trotz mancher Erfolge hat sich an der stadienbezogenen Prognose in den letzten Jahren wenig geändert. Die 5-Jahres-Überlebensrate im Stadium 1B liegt bereits seit etlichen Jahren zwischen 65 % und 95 % (19), eine erhebliche Anzahl von Patientinnen (auch in frühen Stadien) erleidet ein Rezidiv. Die Ermittlung dieser Risikopatientinnen gewinnt durch neuere Studien erheblich an Bedeutung. Diese zeigen eine signifikante Verbesserung des progressionsfreien Überlebens, sowie des Gesamtüberlebens durch postoperative simultane Radiochemotherapie (51, 67, 79).

In den letzten Jahren wurden viele potentielle Prognosefaktoren untersucht und teilweise sehr kontrovers diskutiert (siehe dazu auch Kapitel 2.4. Prognosefaktoren). FIGO Stadium, Alter, histologischer Typ, Lymphknotenstatus, Gefäßeinbrüche, Tumolvolumen und Invasionstiefe spielen hierbei eine wesentliche Rolle. Dennoch können obengenannte klinische und Routine-histologische Parameter keine Aussage über Tumorbiologie und Wachstumscharakteristika eines Malignoms geben. Wünschenswert wäre ein Marker, welcher verlässlich Wachstumsrate, Progressionsneigung und metastatisches Potential eines Tumors ermittelt, um so „high risk“- von „low risk“-Patientinnen unterscheiden zu können. Zur Erfassung der proliferativen Aktivität neoplastischer Zellen bieten sich immunhistochemische Verfahren an.

Bei dem von Gerdes et al (30) entwickelten Proliferationsmarker MIB-1, handelt es sich um einen monoklonalen Antikörper, welcher ein nukleäres Antigen erkennt, das Ki-67 Protein. Dieses wird in allen aktiven Phasen des Zellzyklus exprimiert, nicht

jedoch in der Ruhephase G0. Das ermöglicht seinen Einsatz in der Bestimmung der Wachstumsfraktion humaner Malignome. In den vergangenen 20 Jahren wurde MIB-1 bei zahlreichen Tumoren angewendet (32, 33, 49, 69, 99, 107).

Bei einigen Tumoren, wie z.B. dem Mammakarzinom oder dem Prostatakarzinom, erwies sich der MIB-1 Markierungsindex als zusätzliches Prognosekriterium, im Zusammenhang stehend mit Rezidivfreiheit und Metastasierungsrisiko. Die Frage nach der prognostischen Relevanz des Proliferationsmarkers MIB-1, sowie nach einer Korrelation zwischen MIB-1 und anderen potentiellen Risikofaktoren wird beim Zervixkarzinom unterschiedlich bewertet. Manche Autoren berichten beispielsweise über einen Zusammenhang zwischen 5-Jahres-Überlebensrate und MIB-1 Index (41, 98).

So Suzuki et al (98) bei bestrahlten Patientinnen im Stadium 3. Hier wurden bessere Überlebenszeiten bei höherem Ki-67 Index beschrieben, was sich mit dem Behandlungsschema im Stadium 3 erklären lässt. So erwiesen sich hochproliferierende Zellen im Vergleich zu gering proliferierenden Zellen deutlich strahlensensibler (98). Bei Ho et al (41), welcher primär operativ therapierte Patientinnen im Stadium 1B untersuchte, wiesen im Unterschied dazu die Patientinnen mit hohem Proliferationsindex signifikant schlechtere Überlebensraten (73,1 % versus 90 %) auf. Wieder andere Autoren konnten gar keinen Zusammenhang zwischen MIB-1 Index und Gesamtüberleben herstellen (4, 16, 22, 47). Auch eine Korrelation zwischen dem MIB-1 Markierungsindex und anderen Faktoren, wie z.B. Differenzierungsgrad, histologischem Subtyp, Lymphknotenstatus, Tumorgröße und Alter wurden in der Literatur kontrovers, diskutiert (4, 5, 14, 16, 28, 29, 47, 70, 111).

In der vorliegenden Arbeit wird die prognostische Relevanz des Proliferationsmarkers MIB-1 beim Zervixkarzinom und mögliche Zusammenhänge mit den konventionellen klinischen und histopathologischen Prognosefaktoren untersucht.

## 1.2. Zielstellung

Der Einsatz des Proliferationsmarkers MIB-1 beim Zervixkarzinom erfolgt am Pathologischen Institut Greifswald seit Anfang der 90er Jahre. Meine hier vorliegende Studie wurde durchgeführt, um die prognostische Relevanz des monoklonalen Antikörpers MIB-1 beim Zervixkarzinom am eigenen Krankengut zu untersuchen. Im Mittelpunkt des Interesses stand dabei die Frage nach einer Korrelation zwischen dem MIB-1 Markierungsindex und der 5-Jahres-Überlebensrate. Daneben wurde untersucht, ob eine Beziehung zwischen dem MIB-1 Index und anderen klinischen und pathologischen Faktoren wie Alter, FIGO Stadium, Lymphknotenstatus, Lymph- und Blutgefäßeinbrüche, Differenzierungsgrad, Tumolvolumen und Invasionstiefe besteht.

In diesem Zusammenhang wurden folgende Punkte erörtert:

- Besteht eine Korrelation zwischen FIGO Stadium und MIB-1 Markierungsindex?
- Ist bei jüngeren Patientinnen eine höhere proliferative Aktivität nachweisbar im Vergleich zu älteren Patientinnen?
- Weisen gering differenzierte Tumore im Vergleich zu moderat differenzierten Tumoren einen höheren MIB-1 Index auf?
- Kommt es bei ansteigendem Tumolvolumen zu einem Absinken des MIB-1 Index und damit der proliferativen Aktivität, einer insuffizienter werdenden Blutversorgung Rechnung tragend?
- Liegt ein höherer MIB-1 Index vor bei Patientinnen mit Lymph-/ Blutgefäßeinbrüchen bzw. Lymphknotenmetastasen im Vergleich zu Patientinnen ohne Lymphknotenbefall oder Gefäßeinbrüche?
- Besteht eine Korrelation zwischen MIB-1 Index und der Invasionstiefe?
- 

Ein weiteres Ziel der Arbeit war es zu untersuchen, ob eine Beziehung zwischen der 5-Jahres-Überlebensrate und dem Alter der Patientin zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, dem Differenzierungsgrad, dem Tumolvolumen, der Invasionstiefe, dem Lymphknotenstatus und Lymph-/ Blutgefäßeinbrüchen besteht. Aus allen obengenannten Faktoren könnte somit ein Risikoprofil erstellt werden, um Patientinnen zu ermitteln, die von einer adjuvanten Therapie profitieren. Eine Überbehandlung von Patientinnen mit geringem Rezidivrisiko könnte somit vermieden und das Überleben der Hochrisikopatientinnen verbessert werden.

## **2. Das Zervixkarzinom**

Das Plattenepithelkarzinom der Zervix ist das dritthäufigste Malignom bei Frauen weltweit, wobei die Entwicklungsländer mit 78 % der Fälle den größten Anteil haben (77, 108). Die altersbezogene Erkrankungshäufigkeit steigt zwischen dem 36. und 45. Lebensjahr deutlich an und bleibt dann konstant. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 58 Jahren.

### **2.1. Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese**

Bei der Erfassung epidemiologischer Daten zeigen sich deutlich geographische und rassische Unterschiede. So haben Afroamerikanerinnen und „Hispanics“ in den USA eine deutlich höhere Erkrankungswahrscheinlichkeit im Vergleich zur weißen Bevölkerung. Eine besonders hohe Inzidenz liegt in Lateinamerika (z.B. auf Haiti mit 93,9 erkrankten Frauen pro 100.000 Einwohner), in Süd- und Südwestasien, sowie in Afrika südlich der Sahara vor (3, 10, 25, 108). Niedrige Raten werden in China, West-Asien und Israel (ca. 4 von 100.000 Frauen) beobachtet. Für Deutschland wurde vom Saarländischen Krebsregister für das Jahr 2002 eine Inzidenz von 9,8 von 100.000 Frauen vorgelegt.

Die Ätiologie des Zervixkarzinoms ist noch immer nicht vollständig geklärt. In den letzten Jahren sind humane Papillomviren vermehrt ins Interesse gerückt. Sie werden mittlerweile als Hauptrisikofaktor angesehen (6, 24, 68, 109). Bei den anderen bekannten Risikofaktoren, wie frühe Aufnahme von Geschlechtsverkehr, multiple Sexualpartner, viele Geburten, Rauchen, Immunsuppression (deutlich erhöhte Anzahl von cervikalen intraepithelialen Neoplasien bei nierentransplantierten und HIV Patientinnen), niedrigem sozioökonomischem Status, und diätetischen Faktoren (Vitamin A und Folsäuremangel) könnte es sich lediglich um Kofaktoren handeln (2, 10, 27, 73). Deren Unabhängigkeit von HPV wird derzeit in zahlreichen Studien geprüft.

Nach neueren Erkenntnissen lässt sich in mehr als 99 % der Zervixkarzinome HPV DNS nachweisen (6, 73, 94, 109). Basierend auf ihrer Assoziation mit verschiedenen Typen von Läsionen erfolgte die Einteilung der anogenitalen HPV - je nach ihrem onkogenen Risiko - in Gruppen. Zur Gruppe mit niedrigem Risiko gehören die HPV-Typen 6 und 11 (häufig bei Condyloma accuminata), sowie 40, 42, 43 und 44, welche gelegentlich bei CIN 1, aber nahezu nie bei invasiven Plattenepithelkarzinomen

auftreten. Der Hochrisikogruppe, welcher die Typen 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 73, 82 angehören, wird hohe onkogene Potenz zugeschrieben, da sich ihre DNS sehr häufig bei invasiven Plattenepithelkarzinomen nachweisen lässt (68, 108).

Den pathogenetischen Ausgangspunkt für das Entstehen einer zervikalen Neoplasie bildet die vulnerable Transformationszone. Vor allem im Bereich der Plattenepithelmetaplasie der Reservezellschicht kann es durch Infektion mit bestimmten HPV zu Differenzierungsstörungen kommen, aus denen Dysplasien entstehen. Sie werden als zervikale intraepitheliale Neoplasien (CIN) bezeichnet. Aus ihnen kann sich im Laufe der Zeit ein invasives Karzinom entwickeln. Die durchschnittliche Progressionszeit für leichte Dysplasien zum Carcinoma in situ beträgt ca. 5 bis 7 Jahre, für mittelschwere 3 bis 4 Jahre und für schwere Dysplasien ca. 1 Jahr. Einschließlich des Übergangs eines In-situ- Karzinoms in ein invasives Karzinom kann man von einer Gesamtprogressionszeit von 10 bis 15 Jahren ausgehen (73). Bei einem steigenden Anteil besonders junger Karzinomträgerinnen in fortgeschrittenen Stadien besteht jedoch der Verdacht, dass noch eine andere, schnellere Karzinogenese existiert.

## 2.2 Tabelle: WHO-Klassifikation maligner epithelialer Tumoren (1994) (53)<sup>1</sup>

---

### Plattenepithelkarzinom

- verhornend
  - nicht verhornend
  - verrukös
  - kondylomatös
  - papillär
  - lymphoepitheliomartig
- 

### Adenokarzinom

- muzinös (endozervikal oder intestinal)
  - endometrioid
  - klarzellig
  - serös
  - mesonephrisch
- 

### Andere maligne epitheliale Tumoren

- Adenosquamöses Karzinom
  - „Glassy Cell Carcinoma“
  - Adenoid-zystisches Karzinom
  - Adenoid-basalzelliges Karzinom
  - Carcinoid
  - Kleinzelliges Karzinom
  - Undifferenziertes Karzinom
- 

<sup>1</sup> Tumorzentrum München (Hg.), Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Zervixkarzinom, München 1998, Nachdruck 1999, S. 26.

### **2.3 Stadieneinteilung und stadiengerechte Therapie**

Die Stadieneinteilung des Zervixkarzinoms erfolgt überwiegend nach der FIGO Klassifikation (Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique). Siehe nächste Seite. Dieses basiert auf den Resultaten von klinischen Untersuchungen, vor allem auf der zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bestimmten anatomischen Ausbreitung der Erkrankung. Die FIGO Klassifikation besteht in ähnlicher Form seit 1950, seitdem wurden 7 Veränderungen durchgeführt, die letzte 1995. Die meisten Änderungen betrafen das Stadium 1, für das neue wissenschaftliche Erkenntnisse bezüglich Tumorausdehnung und Prognose ausschlaggebend waren (78). Eine Stadieneinteilung parallel zum TNM staging system, vorgeschlagen vom American Joint Committee, fand in der Praxis nur wenig Anwendung (97).

Bei der Therapie der frühinvasiven Zervixkarzinome besteht die Schwierigkeit darin, die Chancen und Risiken organerhaltender und radikaler Therapieverfahren abzuwägen. Beim Stadium 1A1 gilt eine Behandlung mittels einer Konisation in sano als ausreichend, sofern keine Risikofaktoren vorliegen. Sind z.B. Gefäßeinbrüche vorhanden, ist eine Therapie wie im Stadium 1A2 empfehlenswert. Hier besteht im Vergleich zum Stadium 1A1 ein dreifach erhöhtes Risiko für Lymphknotenmetastasen (88). Therapeutisch wird häufig eine einfache extrafasciale Hysterektomie mit pelviner Lymphonodoektomie durchgeführt. Bei niedrigem Rezidivrisiko und dringendem Kinderwunsch sind im Einzelfall auch eine Konisation mit pelviner Lymphonodoektomie möglich (73).

Für die Stadien 1B bis 2A stellt die erweiterte radikale Hysterektomie nach Wertheim Meigs mit Entfernung der pelvinen Lymphknoten die Therapie der Wahl dar. Da Ovarialmetastasen beim primären Plattenepithelkarzinom sehr selten sind, erfolgt die operative Entfernung der Adnexe nur bei post/ perimenopausalen Frauen oder

Patientinnen mit fortgeschrittenem Karzinom. Wegen der bei drüsigen Zervixkarzinomen deutlich häufiger auftretenden Ovarialmetastasen ist hier die Entfernung der Adnexe unumgänglich.

Prinzipiell kommt zur Therapie aller Stadien auch die Bestrahlung in Frage. Studien haben ergeben, dass hierbei keine schlechteren Heilungsergebnisse vorliegen.(53, 56, 72, 80). In Europa und Japan werden Patientinnen im Stadium 2B zumeist operativ therapiert, während in den USA hier schon primär bestrahlt wird (73, 83). Die Vorteile einer operativen Therapie sind die bessere Erfassung der Tumorausdehnung und die Schonung von Scheide und Ovarien. Ab Stadium 3 sind dann einem operativen Vorgehen enge Grenzen gesetzt. Das traditionelle Behandlungskonzept bestand bis vor wenigen Jahren in einer Strahlentherapie. Mehrere randomisierte Studien in den späten 90er Jahren belegten jedoch eine Verbesserung im Überleben von 30 % bis 50 % durch eine simultane Radiochemotherapie (51, 67, 79). Diese gilt derzeit bei fortgeschrittenen Fällen als effektivste Methode. Aber auch bei Risikopatientinnen in früheren Stadien wird eine Verbesserung der Prognose durch eine simultane Radiochemotherapie beschrieben (51, 67, 79, 83, 108). Die Kombination aus Carboplatin und Ifosfamid hat sich hierbei als besonders wirksam erwiesen (54).

Während im Stadium 4A in seltenen Fällen (Tumor hat die Beckenwand nicht erreicht, rekonstruktive Maßnahmen müssen möglich sein) die Möglichkeit einer vorderen und/oder hinteren Exenteration besteht, stehen im Stadium 4B bei Vorliegen von Fernmetastasen nur noch palliative Maßnahmen zur Verfügung.

## Stadieneinteilung des Zervixkarzinoms nach FIGO (16)

Stadium		Definition
TNM	FIGO	
Tis	0	Carcinoma in situ (wird in Statistiken über das Zervixkarzinom nicht berücksichtigt)
T 1	I	Begrenzt auf den Uterus, Ausdehnung auf Corpus uteri wird nicht berücksichtigt
T 1a	I a	Präklinisches, ausschließlich mikroskopisch diagnostiziertes, invasives Zervixkarzinom: Invasionstiefe * $\leq 5$ mm, horizontale Ausdehnung $\leq 7$ mm
T 1a1	I a1	Minimale Stromainvasion: Invasionsionstiefe * $\leq 3$ mm
T 1a2	I a2	Stromainvasion: Invasionstiefe *3,1-5mm
T 1b	I b	Klinisch erkennbares, auf den Uterus begrenztes Karzinom, größer als Stadium I a
<i>T 1b1</i>	<i>I b1</i>	<i>Tumordurchmesser <math>\leq 4</math>cm</i>
<i>T 1b2</i>	<i>I b2</i>	<i>Tumordurchmesser <math>\leq 4</math>cm</i>
T 2	II	Ausdehnung über Uterus hinaus, aber nicht bis zur Beckenwand und nicht bis zum unteren Drittel der Scheide
T 2a	II a	Parametrien frei, Scheide bis max. mittleres Drittel befallen
T 2b	II b	Parametrien befallen, tastbar verdickt, Beckenwand nicht erreicht
T 3	III	Ausdehnung bis zur Beckenwand und/oder bis zum distalen Drittel der Scheide und/oder Hydronephrose oder stumme Niere
T 3a	III a	Distales Scheidendrittel befallen, Parametrien frei
T 3b	III b	Tumor erreicht Beckenwand oder verursacht Hydronephrose oder stumme Niere
T 4a	IV a	Kleines Becken überschritten und/oder Infiltration der Schleimhaut von Blase und/oder Rectum
T 4b	IV b	Fernmetastasen
* Die Infiltrationstiefe wird gemessen von der Basis des Oberflächen- oder Drüsenepithels bis zum tiefsten Punkt der Invasion; Voraussetzung für diese Messung sind Stufenschnitte des Konus bzw. der Zervix uteri		

## 2.4. Prognosefaktoren beim Zervixkarzinom

In enger Korrelation zur Prognose steht das FIGO Stadium bei Diagnosestellung. Für sich betrachtet ist es der wichtigste Prognosefaktor; ausschlaggebend für weitere Behandlungsstrategien (88). Berücksichtigt man jedoch die breite Streuung der angegebenen 5-Jahres-Überlebensraten, (z.B. 65-95 % beim Stadium 1B), so wird rasch die Bedeutung weiterer Prognosefaktoren klar.

Zu den wenigen nicht kontrovers diskutierten Prognosefaktoren gehört die Frage nach dem Lymphknotenbefall. Hier besteht eine enge Korrelation zum FIGO Stadium. Während die Wahrscheinlichkeit für pelvinen Lymphknotenbefall im Stadium 1B bei 30-40 % liegt, wenn die Invasionstiefe >10mm beträgt, liegt sie im Stadium 3B bereits bei 40-65 % (89).

Die 5-Jahres-Überlebensrate im Stadium 1B verringert sich bei Vorliegen von Lymphknotenmetastasen im Becken von über 90 % auf 40-50 % (8). Beim Nachweis paraaortaler Lymphknotenmetastasen überleben lediglich 10-30 % der Patientinnen die 5 Jahres Frist (55).

Eine weitere wichtige Rolle in Bezug auf die 5-Jahres-Gesamtüberlebensrate/ 5-Jahre-Rezidivfreiheit spielen außerdem die Anzahl befallener Lymphknoten /Lymphknotengruppen (8, 48, 73, 88, 92, 97, 102). So beschreiben Tinga et al (102) das Absinken der 5-Jahres-Überlebensrate von 85 % auf 24 % beim Vergleich von einem zu mehreren befallenen Lymphknoten. Auch die Differenzierung makroskopische/ mikroskopische Metastasierung erwies sich in dieser Hinsicht als relevant. Ebenso berichten Inoue et al, sowie Sevin et al, über schlechte 5-Jahres-Überlebensraten bei mehr als zwei befallenen Lymphknoten (45, 92). Schilder et al berichten sogar von einer 0 %igen 5-Jahres-Überlebensrate bei mehr als fünf befallenen Lymphknoten, trotz postoperativ erfolgter adjuvanter Bestrahlung (88). Der Lymphknotenstatus kann also abgesehen vom FIGO Stadium, als wichtigstes Prognosekriterium bezeichnet werden.

Ebenfalls von entscheidender Bedeutung sind diesbezüglich die Invasionstiefe des Tumors ins Stroma, die Tumorgröße (Durchmesser) und damit in engem Zusammenhang stehend das Tumolvolumen. Aufgrund der großen prognostischen Bedeutung hat die Tumorgröße auch Eingang in die FIGO und pTNM Klassifikation gefunden. Hier werden Tumoren mit einer Größe von  $\leq 4$ cm Durchmesser von Tumoren mit  $> 4$ cm unterschieden. Allgemein gilt als erwiesen, dass Patientinnen mit einem Karzinom  $> 4$ cm Durchmesser oder einem Tumor/ Zervix Quotient  $>50$  % eine signifikante Prognoseverschlechterung erfahren, da die lymphogene

Metastasierungsrate steil ansteigt (17, 55, 63). Diesbezüglich weisen Erkrankte des Stadiums 1B2 sogar schlechtere Überlebenszeiten auf, als Erkrankte des Stadiums 2A (19, 104).

Auch die Invasionstiefe hat als signifikantes Prognosekriterium an Bedeutung gewonnen. Bei steigender Invasionstiefe nimmt die Wahrscheinlichkeit einer Lymphknotenfilialisierung deutlich zu (45, 92, 112, 113), was auch das krankheitsfreie Überleben innerhalb der 5-Jahresspanne verkürzt.

In einer Studie mit 113 Patientinnen (FIGO 1B-2B) wies Maria Trattner eine Zunahme von Lymphknotenmetastasen, sowie einen signifikanten Abfall im Gesamtüberleben bei steigendem Tumolvolumen nach. Dieses lieferte allerdings in einer multivariablen Analyse keine zusätzlichen Informationen mehr, sofern der Lymphknotenstatus und das histopathologische Stadium bekannt waren (104).

Bezüglich der Frage, ob es sich bei Lymphgefäßeinbrüchen um einen unabhängigen Prognosefaktor handelt, existieren in der Literatur kontroverse Meinungen (112). Einige Autoren beschreiben ein erhöhtes Rezidivrisiko bei Vorliegen von Lymphgefäßeinbrüchen (42, 92, 94, 113). Roman et al (55) untersuchten zusätzlich den Einfluss der Quantität der Lymphgefäßeinbrüche auf den Beckenlymphknotenbefall. Sie beschrieben eine deutliche Zunahme des Risikos (von 19 auf 54 %) befallener Lymphknoten wenn in mehr als 45 % der Gewebeschnitte Lymphgefäßeinbrüche nachweisbar waren. Andere Autoren messen dem Vorliegen von Lymphgefäßeinbrüchen keine zusätzliche prognostische Aussagekraft bei (96, 103). In einer von Creasman et al (19) kürzlich durchgeführten Auswertung der aktuellen Literatur, die sich mit o.g. Thema befasst, spricht sich die Mehrheit der zitierten Autoren gegen Lymphgefäßeinbrüche als unabhängiges Prognosekriterium aus.

Weniger umstritten ist die enge Korrelation mit der Invasionstiefe (14, 55). Silberberg et al (94) wiesen bei einer Invasionstiefe < 1mm lediglich in 0-8 % Lymphgefäßeinbrüche nach, diese Zahl stieg bei einer Invasionstiefe von 3-5 mm auf 12-22 % an. Hier besteht möglicherweise ein Zusammenhang mit dem deutlich erhöhten Risiko auf Beckenlymphknotenmetastasen im Stadium 1A2 im Vergleich zum Stadium 1A1.

Ebenfalls kontrovers diskutiert wird der Einfluss des Differenzierungsgrades auf die Prognose. Smiley et al (96) beschreiben bei Patientinnen im Stadium 1B eine um 10 % verminderte 5-Jahres-Überlebensrate bei Vorliegen von G3 Tumoren im Vergleich zu G1 oder G2 Tumoren. Als ausschließliches Kriterium für eine adjuvante postoperative

Therapie wird das Grading allerdings abgelehnt, zumal das die Zahl der Risikopatientinnen drastisch erhöhen würde. Auch Berman et al (8) beschreiben eine tendenziell erhöhte Anzahl von Rezidiven bei G3 Tumoren, allerdings ohne statistische Relevanz. Gerade in der neueren Literatur spricht sich jedoch eine deutliche Mehrheit gegen eine enge Korrelation von Grading und Prognose aus (55, 88, 92, 94, 113). Während sich der Differenzierungsgrad bei anderen Karzinomen, wie z.B. beim Endometrium-Ca, als wichtig, mitunter entscheidend, erweist, scheint er beim Zervixkarzinom eher eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Auch bezüglich des histologischen Subtyps existiert keine einheitliche Meinung. Vor allem das Vorliegen der in den letzten Jahren deutlich an Häufigkeit zugenommenen adeno bzw adenosquamösen Karzinomen wird im Hinblick auf die Prognose kontrovers diskutiert. Während einige Autoren, vor allem bei adenosquamösen Karzinomen, ein erhöhtes Risiko bezüglich eines distalen Rezidivs beschreiben (88, 92, 103), sowie ein kürzeres Gesamtüberleben erkennen (48, 55, 61, 88, 92), sehen andere diesbezüglich keine Unterschiede zum Plattenepithelkarzinom (39, 40).

Aufgrund eines aggressiven Wachstums mit früher Metastasierung sind die selten vorkommenden Mattglaszellkarzinome, sowie kleinzelligen Karzinome mit einer schlechten Prognose behaftet (53, 55, 92).

Ein ebenfalls lang und unterschiedlich diskutierter Faktor im Hinblick auf das Gesamtüberleben ist das Alter der Patientin zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Häufig erwähnt wird das vermehrte Auftreten von fortgeschritteneren Stadien in höherem Lebensalter, da sich diese Patientengruppe vergleichsweise öfter dem Screening entzieht. Dementsprechend häufiger treten Frühstadien bei jüngeren Patientinnen auf, was aber auch mit der Entstehung des Zervixkarzinoms aus fortschreitenden Dysplasien zu tun hat. Ein fortgeschrittenes Stadium bei einer jüngeren Patientin jedoch, wird von einigen Autoren als schlechtes Prognosekriterium mit erhöhter Rezidivwahrscheinlichkeit und verminderter 5-Jahres-Überlebensrate im Vergleich zu älteren Patientinnen im gleichen FIGO Stadium angesehen (21, 84, 91, 94). Die Altersgrenze wird hierbei unterschiedlich gesetzt, zum Beispiel bei 35 Jahren (94), 45 Jahren (21) bzw. 50 Jahren (91). Andere Autoren hingegen sehen keinen Zusammenhang zwischen Alter und Gesamtüberleben/ Rezidivwahrscheinlichkeit (9, 11, 23, 96, 103).

Der Grund für die vielen unterschiedlichen Meinungen im Zusammenhang mit den Prognosefaktoren liegt in deren Komplexität begründet. Zum einen besteht eine

Wechselwirkung zwischen einigen Faktoren (z.B. FIGO Stadium und Tumorgröße), die eine Bewertung des Einzelfaktors schwierig machen. Zum anderen besteht die Möglichkeit, dass ein Faktor als Stellvertreter für einen anderen fungiert. So beschreiben z.B. Serur et al (91) verminderte Gesamtüberlebensraten bei Zervixkarzinompatientinnen mit Abusus von Nikotin, Alkohol oder anderen Drogen. Der Missbrauch der aufgeführten Substanzen trat im jüngeren Kollektiv deutlich häufiger auf und könnte daher die hier beschriebene schlechtere Gesamtüberlebensrate zumindest mitbedingen.

### **3. MIB-1**

#### **3.1 Der monoklonale Antikörper MIB-1 gegen das Ki-67 Protein**

Die Existenz von menschlichen Kernantigenen, welche im Zusammenhang mit Zellproliferation stehen, deutete sich erstmalig in den 1970er Jahren an. Ausschlaggebend war die Identifikation von menschlichen Autoantikörpern, welche in den Seren von Patienten mit Lupus erythematoses (Miyachi et al 1978) bzw. Leukämie (Klein et al 1974) gefunden wurden (30).

Bei der Suche nach einem monoklonalen Antikörper, welcher sich gegen die Kernantigene von Sternberg-Reed und Hodgkin Zellen richtet, stießen Gerdes et al (30) auf den monoklonalen Antikörper Ki-67. Die Silbe Ki steht hier für die Stadt Kiel, in der der Antikörper entdeckt wurde. Die Zahl 67 bezeichnet den 67. Well („Napf“ einer Mikrotiterplatte) einer 96-Well-Klonierungsplatte. Dieser Antikörper der Subklasse IG1 reagiert spezifisch mit den Kernen von proliferierenden Zellen. Zellen im Ruhezustand, wie z.B. Hepatocyten, periphere Lymphocyten oder alle Zellen des ZNS, wiesen keine Markierung auf (30). Zellzyklusanalysen durch Gerdes et al (31) wiesen das Antigen in allen aktiven Phasen des Zellzyklus (S, G<sub>2</sub>, M) nach, nicht jedoch in der G<sub>0</sub>-Phase. Das Ki-67 Antigen ist präsent auf den Chromosomen sich in der Mitose befindender Zellen, während der Interphase kann es nur im Nucleus nachgewiesen werden (90, 111).

Trotz eingehender molekularbiologischer Untersuchungen durch Gerdes et al (35, 90) konnte die Funktion des Ki-67 Proteins bisher nicht geklärt werden.

Aufgrund der guten Korrelation der Ki-67 Markierungsraten zur Zellproliferation (31) erfolgte rasch der Einsatz zur Bestimmung der Wachstumsfraktion bei verschiedenen humanen Neoplasien (32, 33). Im routinemäßigen Gebrauch erwies es sich jedoch als großer Nachteil, dass der Einsatz des Antikörpers auf frisches Gewebe beschränkt blieb. An formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe zeigte sich keine Markierung, da das Epitop durch die Fixierung zerstört wurde.

Dies änderte sich, als es Gerdes et al (36) gelang Teile des Ki-67 Genes zu klonen und zu sequestrieren. Durch Immunisierung von Mäusen mit dem rekombinanten Genprodukt entstand ein neuer monoklonaler Antikörper: MIB-1 (**M**olecular **I**mmunology **B**orstel). Seine Spezifität bezüglich des Ki-67 Antigens konnte immunhistochemisch und im Western blot nachgewiesen werden (50).

Die ersten immunhistochemischen Untersuchungen mit dem neuen Antikörper waren allerdings zunächst enttäuschend. Erst die von Shi et al (93) entwickelte

Mikrowellenvorbehandlung (siehe 4. Material und Methoden) brachte später den gewünschten Erfolg (12).

Inzwischen wird der monoklonale Antikörper MIB-1 routinemäßig in vielen Bereichen verwendet. Zu den wichtigsten Beispielen gehören sicher das Mammakarzinom, sowie das Prostatakarzinom, wo sich der Proliferationsmarker MIB-1 längst als prognostisch relevant etabliert hat. In einer von Jansen et al (46) durchgeführten Studie mit 341 Mammakarzinompatientinnen zeigt sich MIB-1 als ein unabhängiger Prognosefaktor neben dem Lymphknotenstatus.

Nach einem Proliferationscore von Schauer et al (86) erfolgt die Einteilung des Tumors bei Mammakarzinomen in niedrig, mittel und hoch proliferierend. Aber auch in der Diagnostik des Non-Hodgkin Lymphoms (34), sowie bei Meningeomen (99) wird MIB-1 eingesetzt.

### **3.2 MIB-1 in der Zervix-Pathologie**

Der Proliferationsmarker MIB-1 wird, neben oben genannten Einsatzgebieten, mittlerweile auch in zahlreichen Untersuchungen in der Zervix Pathologie eingesetzt. Um mit Hilfe von MIB-1 Aussagen über pathologische Veränderungen machen zu können, sind zunächst Informationen über MIB-1 an gesundem Zervixgewebe notwendig. Untersuchungen von Kush Mittal (64), Mc Cluggage (62) und Al-Saleh (1) weisen eine Expression des Markers in gesundem ektocervikalen Epithel ausschließlich in der Parabasal und Basalschicht nach. Mittal berichtet über 5-30 % MIB-1 positive Zellen in der Parabasalschicht, sowie über 0-7 % MIB-1 positive Zellen bei den Reservezellen in der Basalschicht. Das normale endocervicale Epithel zeigt eine MIB-1 Expression von < 10 %.

Eine wichtige Funktion erfüllt MIB-1 da, wo eine exakte Diagnose lichtmikroskopisch schwierig zu stellen ist. Beispielsweise bei der Unterscheidung von atrophischen und dysplastischen Veränderungen bei älteren Patientinnen (65), oder auch bei der Differenzierung von benignen und malignen Läsionen. Hier wäre z.B. die Unterscheidung mikroglanduläre Hyperplasie oder endocervicale glanduläre Hyperplasie von Adenokarzinomen/ Adenokarzinomen in situ (15, 20, 43) zu nennen.

K.H. van Hoeven et al (43) setzen hierbei auf die völlig unterschiedlichen Markierungsraten. Während der Markierungsindex für Adenokarzinome zwischen 57-96 % liegt, ist er bei mikroglandulärer Hyperplasie lediglich zwischen 2,9 – 18,4 %. In einer anderen Studie wird eine Kombination aus KI-67 Proliferationsindex, positivem

CEA Marker und p53 Expression gewählt, um zwischen benignen und malignen endozervicalen Läsionen zu unterscheiden (15). So war die Kombination eines moderaten bis hohen Ki-67 Proliferationsindex mit gleichzeitig positivem CEA ausschließlich bei malignen Läsionen vertreten. Auch bei der Unterscheidung Atrophie/Dysplasie zeigt sich eine ganz unterschiedliche MIB-1 Expression. Während bei ersterer eine geringe bzw. gar keine MIB-1 Expression auftrat, lagen bei Dysplasien immer MIB-1 gefärbte Kerne vor (64, 65). Bei höhergradigen Dysplasien zeigten sich im Vergleich zu geringeren Dysplasien deutlich mehr MIB-1 positive Zellkerne. Zusätzlich waren diese auch in höheren Zellschichten nachweisbar (1, 62, 64).

Insbesondere hier - in der Unterscheidung des Schweregrades der zervicalen intraepithelialen Neoplasien (CIN) - zeigt sich die Aussagekraft des Proliferationsmarkers bezüglich neoplastischer Wachstumscharakteristika.

## **4. Material und Methoden**

### **4.1 Auswahl der Patientinnen**

Zunächst wurden dem Tumorregister der Universitäts-Frauenklinik Greifswald alle Patientinnen mit Zervixkarzinom der Jahrgänge 91 bis 98 entnommen. Es wurden 342 Patientinnen ermittelt und auf verschiedene Kriterien überprüft. Ausschlusskriterien waren:

- Kein Plattenepithelkarzinom, sondern Vorliegen eines anderen histologischen Subtyps
- Kein radikales Operationsverfahren als Primärtherapie und somit unzureichende Beurteilbarkeit der zu untersuchenden histopathologischen Faktoren
- Gewebeschnitte nicht am pathologischen Institut Greifswald vorliegend
- Vorliegen eines Doppelkarzinoms

Nach der Auswahl anhand dieser Kriterien verblieben 132 Patientinnen, die für die vorliegende Studie geeignet waren. Durch nicht ausreichend verfügbares oder bereits aufgebrauchtes Paraffinmaterial (gerade bei kleinen Tumoren) dezimierten sich die Fallzahlen erneut. Da nach den immunhistochemischen Untersuchungen auch nicht alle Präparate ein optimales Ergebnis lieferten (siehe auch 4.6. Methodenkritik) verblieben schließlich 69 für die Bestimmung des MIB-1 Index.

## **4.2 Immunhistochemische Untersuchungen**

Die Untersuchungen erfolgten an in Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Präparaten mittels der APAAP-Methode (18). Sie wurden am Pathologischen Institut Greifswald von den dort beschäftigten MTA durchgeführt. Der monoklonale Antikörper MIB-1 (Maus IG 1) wurde von Dianova bezogen. Für den Brückenantikörper und den APAAP-Komplex wurde das APAAP-Kit System von Dako verwendet.

### 1. Vorbereitung der Schnitte

Nach der Herstellung von 4µm dünnen Schnitten erfolgte die Entparaffinisierung mit Xylol und die Rehydrierung in einer absteigenden Alkoholreihe.

### 2. Mikrowellenvorbehandlung (93)

Die Objektträger wurden in ein Mikrowellen geeignetes Gefäß mit Raumtemperatur-warmem Citratpuffer gestellt (Citratpuffer 10 mM wird aus Natriumcitrat und Zitronensäure hergestellt). Bei 750 Watt wurden nun die Objektträger und der Citratpuffer aufgeköcht und von da an 15 bis 20 min sprudelnd weiter gekocht. Die Schnitte mussten hierbei kontinuierlich mit Flüssigkeit bedeckt sein. Nach dem Kochvorgang konnten die Präparate im heißen Puffer ca. 30 min auf Raumtemperatur abgekühlt werden.

### 3. APAAP Methode (18)

Inkubation der vorbereiteten Objektträger mit dem primären Antikörper MIB-1 (Maus IG 1 1:10 von Dianova) für 30 min bei 37°.

- Spülen mit Trisgepufferter Kochsalzlösung (TBS)
- Inkubation mit dem Brücken-Antikörper, einem Kaninchenantiserum (in 0,05 M Trispuffer pH 7,6 vorverdünnt) gegen Mäuseimmunoglobine (Dako) für 30 min
- Spülen mit TBS
- Inkubation mit dem APAAP Komplex (alkalische Phosphatase-Maus anti-alkalische Phosphatase) ebenfalls in 0,05 M Trispuffer pH 7,6 vorverdünnt für 30 min
- Inkubieren mit alkalischer Phosphatase Substratlösung (enthält Fast Red TR als Chromogen sowie Naphtol AS-MX Phosphat und Levamisole)
- Spülen mit Aqua dest
- Objektträger kurz in ein Wasserbad stellen

- Gegenfärbung mit Shandon-Hämalaun-3 für 30 sek.
- zweimal mit Aqua dest. spülen
- für 4 sek. in HCL/ Alkohol tauchen
- 5 min in Leitungswasser legen
- mit sterilem Aqua dest spülen
- Überschichten mit Crystal-Mount
- Auf Heizplatte trocknen lassen
- Eindecken mit Rotistol

Zusammenfassend ist zu sagen, dass sich durch den Einsatz von Fast Red als Chromogen die Stelle des gesuchten Antigens als leuchtend rotes Präzipitat zeigt. Das heißt, MIB-1 positive Zellen erhalten im Präparat eine rote Färbung. Zellkerne negativer Zellen erscheinen infolge der Gegenfärbung mit Hämatoxylin blau.

#### **4.3. Ermittlung des MIB-1 Markierungsindex**

Die MIB-1 Präparate wurden durch die Erfassung der Tumor Proliferative Fraction (TPF) ausgewertet. Die TPF stellt einen Index dar, der sich aus MIB-1 positiven Kernen auf Tausend Kerne (gesamt) errechnet. Dadurch hat man die Möglichkeit, unabhängig vom im jeweiligen Gesichtsfeld des im Mikroskops eingestellten Epithel-Stroma-Verhältnisses eine Menge an MIB-1 positiven Kernen zu erfassen, und mit einer bestimmten Menge an Kernen im Epithel des Tumors ins Verhältnis zu setzen (46, 49, 107). Das so bestimmte Verhältnis wird im Folgenden als MIB-1 Index bezeichnet. Die Auswertung erfolgte am Computer gestützten Mikroskop Arbeitsplatz, mit digitaler Kamera DP 10 von Olympus BX-50, die Software von Analysis.

Nach eingehender Durchmusterung der Schnitte, wurde die Region mit den meisten angefärbten Zellkernen aufgesucht. Die Auswertung erfolgte im High Power Field (400fache Vergrößerung). Es wurden mindestens 250 nebeneinanderliegende Kerne erfasst - für jedes Präparat viermal. Insgesamt wurden so für jedes Präparat 1000 Zellen ausgezählt und der Anteil der MIB-1 positiven Zellen ermittelt (46, 49, 107).

#### **4.4. Histopathologische Faktoren und Nachsorge**

Um die prognostische Wertigkeit des Proliferationsmarkers MIB-1 einschätzen zu können, wurden folgende Daten aus den Krankenblättern des Archivs der Universitäts-Frauenklinik Greifswald entnommen:

- Zeitpunkt der Diagnosestellung
- Alter der Patientin zu diesem Zeitpunkt
- FIGO-Stadium
- Differenzierungsgrad des Tumors
- Tumolvolumen
- Einbruch in Blut bzw. Lymphgefäße
- Anzahl entnommener Lymphknoten
- Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Lymphknotenmetastasen
- Anzahl ggf. befallener Lymphknoten
- Invasionstiefe des Tumors
- Erfolgte/ nicht erfolgte postoperative Therapien

Angaben zur 5-Jahres Überlebensrate bzw. zum 5-Jahre-krankheitsfreien-Überleben der Patientinnen fanden sich zu einem großen Teil in den Krankenblättern der gynäkologischen Poliklinik. Insgesamt 34 Patientinnen entschieden sich jedoch dafür die gesamten oder zumindest einen Teil der Nachsorgeuntersuchungen bei niedergelassenen Gynäkologen durchführen zu lassen.

Insgesamt 42 Kollegen wurden angeschrieben und um Auskunft bezüglich der Fragen, Auftreten eines Rezidivs (und ggf. wann) bzw. Überleben/ Tod der Patientinnen innerhalb des Nachsorgezeitraums von 60 Monaten gebeten. Erschwert wurde die Datenerhebung durch unregelmäßige Arztkonsultationen, Wechsel des betreuenden Gynäkologen/ Hausarztes sowie Umzüge der Patientinnen. Insgesamt konnten so die meisten Daten der 69 Patientinnen erhoben werden. Eine Patientin war unbekannt verzogen, so dass hier die Verlaufsbeobachtung auf ein Jahr beschränkt blieb. Bei 2 Patientinnen konnte der genaue Zeitpunkt vom Auftreten des Rezidivs nicht ermittelt werden.

Patientin Nr. 18 bzw. Patientin Nr. 58 entwickelten ein Rezidiv nach dem 5-jährigen Beobachtungszeitraum, nach 69 bzw. 84 Monaten, an dem erstere 74 Monate nach Diagnosestellung verstarb. Da jedoch ein 60-monatiger Nachsorgezeitraum zugrunde gelegt wurde, konnte dies in der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt werden.

Eine postoperative adjuvante Therapie wurde bei vorliegenden Risikofaktoren durchgeführt. Hierzu gehörten neben Lymphknotenmetastasen, Lymph- und Blutgefäßeinbrüche, großes Tumolvolumen  $>4000\text{mm}^3$ , und zumindest in Kombination mit anderen Faktoren, der Differenzierungsgrad (das Vorliegen von G3).

Bei fünf im Jahre 1991 behandelten Patientinnen erfolgte eine postoperative Strahlentherapie in Form einer Kombination aus Tele- und Brachytherapie. Ab dem Jahr 1992 wurde postoperativ eine adjuvante Chemotherapie mit Carboplatin und Ifosfamid durchgeführt. Dies betraf 41 Patientinnen. Bei fünf Weiteren mit multiplen Lymphknotenmetastasen erfolgte postoperativ eine Kombination aus Chemotherapie und Strahlentherapie. Bei weiteren 18 Patientinnen wurden keine postoperativen Therapien durchgeführt. Die Gründe waren ein als gering eingeschätztes Rezidivrisiko in 11 Fällen, gravierende internistische Begleiterkrankungen in 3 Fällen, sowie die Ablehnung einer weiteren Therapie bei 4 Patientinnen (siehe auch Abbildung 9).

Eine Aufteilung in vier oder mehr Gruppen hätte aufgrund der kleinen Fallzahlen zu keinem statistisch sinnvollen Ergebnis geführt. Daher wurde in der Überlebensstatistik lediglich berücksichtigt, ob die Patientin eine postoperative adjuvante Therapie erhalten hatte oder nicht.

#### **4.5. Statistische Auswertung**

In die statistische Auswertung gingen neben dem MIB-1 Index auch die unter 4.4. aufgezählten klinischen und histopathologischen Faktoren ein. Für das Gesamtüberleben wurde die Zeit ausgehend von der Diagnosestellung bis zum Ende des 60-monatigen Nachsorgezeitraums bzw. bis zum karzinombedingten Versterben der Patientin zugrunde gelegt.

Alle gewonnenen Informationen wurden zunächst in einer Excel Datei verschlüsselt. Die eigentliche statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biometrie und medizinische Informatik Greifswald mittels des Computerprogramms SAS 9.1. for windows. Um zu untersuchen, ob der Proliferationsmarker MIB-1 mit anderen klinischen oder histopathologischen Faktoren in Beziehung steht, wurden der Rangsummentest nach Wilcoxon bzw. bei einer Variablen mit mehr als zwei Untergruppen der Kruskal-Wallis-Test angewendet. Bei beiden genannten Tests wird geprüft, ob die Mittelwerte in den Teilstichproben signifikant verschieden sind. Bei  $p < 0,05$  unterschieden sich die Gruppen signifikant. Ferner wurden die Korrelationskoeffizienten nach Pearson und Spearman berechnet. Auch hier gilt wiederum: bei  $p < 0,05$  besteht zwischen den Variablen ein statistisch signifikanter Zusammenhang. Um Variablen zu untersuchen, die beide aus mehreren Untergruppen bestehen, wurden Kontingenztafeln erstellt. Dabei wurden die Häufigkeiten der einzelnen Gruppen in Kreuztafeln erfasst und die Gleichheit der Gruppen mit dem Chi-Quadrat-Test bzw. dem exakten Test nach Fisher (bei erwarteten Werten  $< 5$ ) überprüft. Die Überlebenszeitkurven wurden nach der Methode von Kaplan-Meier erstellt und deren statistische Signifikanz mit dem Log-Rank-Test überprüft. Wie bei allen hier durchgeführten statistischen Tests wurde auch hier das Signifikanzniveau bei 0,05 festgelegt (37).

#### 4.6. Methodenkritik

Kritisch zu betrachten ist der Umstand, dass die hier dargestellten Ergebnisse auf einer retrospektiven Datenerfassung beruhen. Sowohl bei der Auswertung der Krankenakten, als auch bei der Ermittlung der Überlebenszeiten war die Autorin auf die Informationen anderer angewiesen. Hier eventuell aufgetretene Fehler konnten nicht eruiert werden.

Ferner ist problematisch, dass es sich bei den 69 untersuchten Patientinnen um ein inhomogenes Kollektiv mit geringer Fallzahl handelt. Die Bildung von großen homogenen Gruppen mit genau definierten Merkmalen war daher nicht möglich. Ein Beispiel hierfür ist das Merkmal „postoperative Therapie“, wo eine genaue Gruppeneinteilung in die einzelnen Therapieverfahren aufgrund von zu kleinen, nicht aussagekräftigen Gruppen nicht möglich war.

Bei der Beurteilung des Merkmals „Differenzierungsgrad“ ist anzumerken, dass eine exakte Zuordnung in mäßig oder schlecht differenziert in neun Fällen nicht möglich war. Hier wurde im pathologischen Befund ein Grading von 2-3 angegeben.

Für die Reduktion der Patientenzahl gibt es, wie in 4.1. bereits aufgeführt, verschiedene Gründe. Viele höhere Stadien fallen durch nicht ausreichende Beurteilbarkeit der histopathologischen Merkmale weg. Bei anderen Patientinnen waren die Präparate aus unterschiedlichen Gründen nicht auswertbar. Die Ursache hierfür können Materialfehler sein, z.B. in Form einer Überfixierung, welche durch Aldehydvernetzungen und verstärkte Hydrophobie eine „Maskierung“ des Antigens bewirken. Bei anderen Präparaten wiederum wurden nicht alle Gewebebezirke vom Fixativ erreicht, was wiederum eine homogene Anfärbung verhinderte. Manche der Präparate überstanden die in 4.2. geschilderte Vorbehandlung nicht.

## 5. Ergebnisse

### 5.1 Beschreibung der Variablen

#### Altersverteilung

Ausgewertet wurden die Krankenakten von 69 Patientinnen mit einem Plattenepithelkarzinom der Zervix uteri, welche sich zwischen den Jahren 1991-1998 einer Operation nach Wertheim-Meigs in der Universitätsfrauenklinik Greifswald unterzogen hatten.

Das Durchschnittsalter lag bei 48,4 Jahren. Die jüngste Patientin war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung 30 Jahre, die älteste 77 Jahre.

Einen Überblick bezüglich der Altersgruppenverteilung liefert Abb. 1.

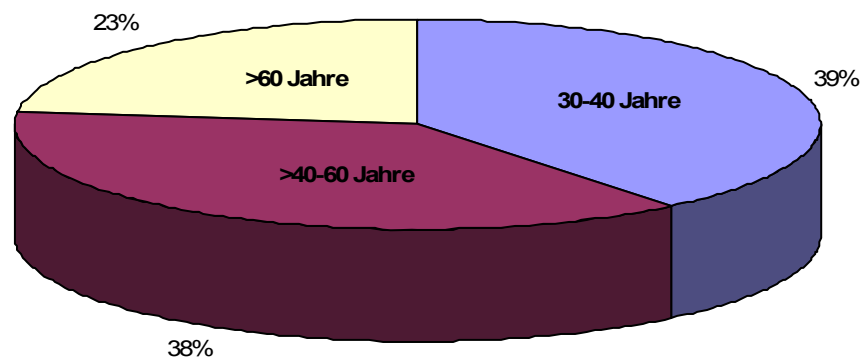


Abbildung 1: Altersverteilung der Patientinnen

## Klassifikation der Zervixkarzinome nach FIGO

Die Spannweite der Karzinome reicht vom Stadium 1A2 bis zum Stadium 3. Bei den meisten Patientinnen [48], liegt ein Stadium 1B vor [69,6%]. Gefolgt vom Stadium 2B mit 14 und 20,3%. Das Stadium 2A weisen 3 Patientinnen auf [4,3%]. Stadium 1a2 liegt ebenfalls bei 3 Patientinnen vor. Nur eine Patientin weist das Stadium 3 auf. Die ungleiche Stadienverteilung hängt mit den Auswahlkriterien, der Forderung nach einem radikalen Operationsverfahren als Primärtherapie (hier in allen Fällen eine radikale Hysterektomie nach Wertheim –Meigs) zusammen. Dies war die Voraussetzung für die sichere Bestimmung verschiedener histopathologischer Faktoren, wie z.B. Lymphknotenstatus, Tumolvolumen, Gefäßeinbrüche etc., sie schränkt aber die Anzahl besonders früher sowie besonders fortgeschrittener Karzinome ein. Einen Überblick verschafft Abbildung 2.

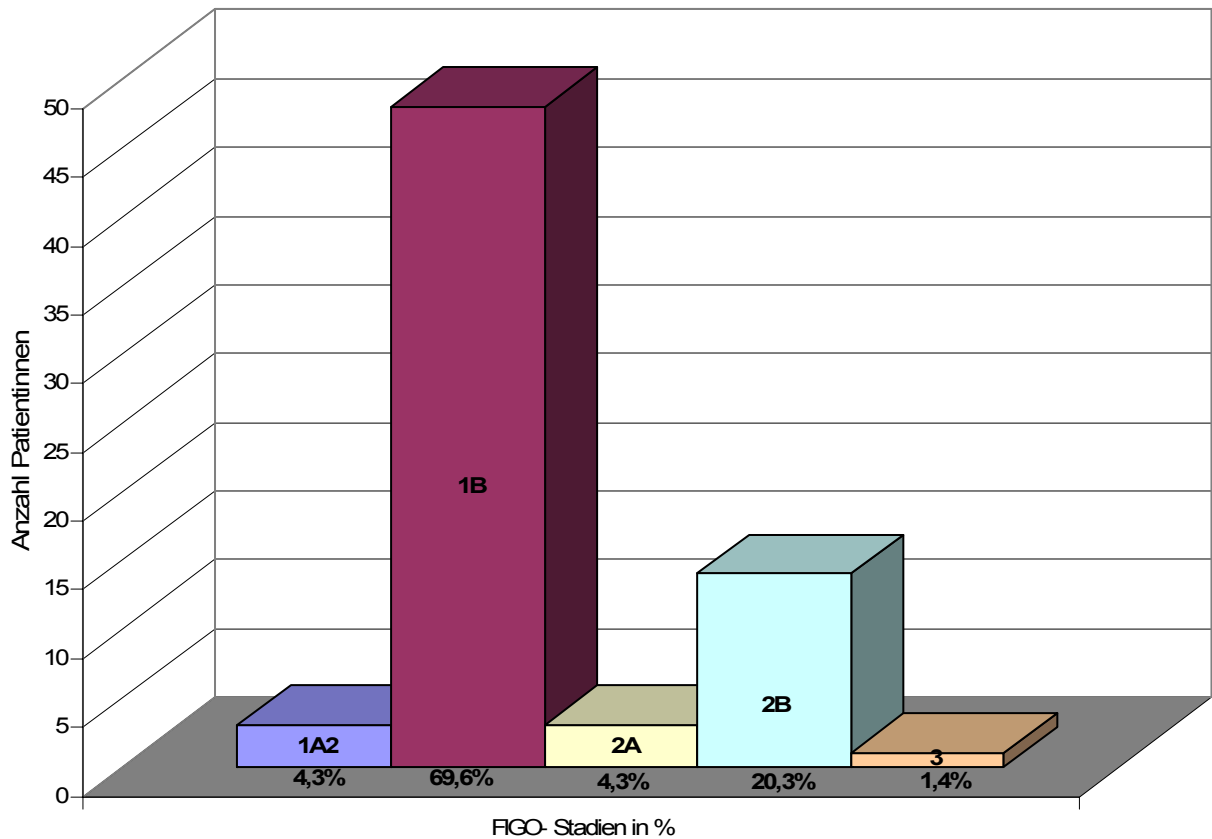


Abbildung 2: Aufteilung der FIGO- Stadien

## MIB-1 Index

Ermittelt wurde der MIB-1 Index aller 69 Patientinnen. Es lag in allen Fällen ein Plattenepithelkarzinom vor. Der Mittelwert des MIB-1 Index lag bei 47,7 % der Median bei 47,5 % die Standardabweichung betrug 16,5 %.

Als minimaler MIB-1 Index wurde 13,7 % ermittelt, als maximaler 75 %.

Die Häufigkeitsverteilung des MIB-1 Index geht aus Abbildung 3 hervor.

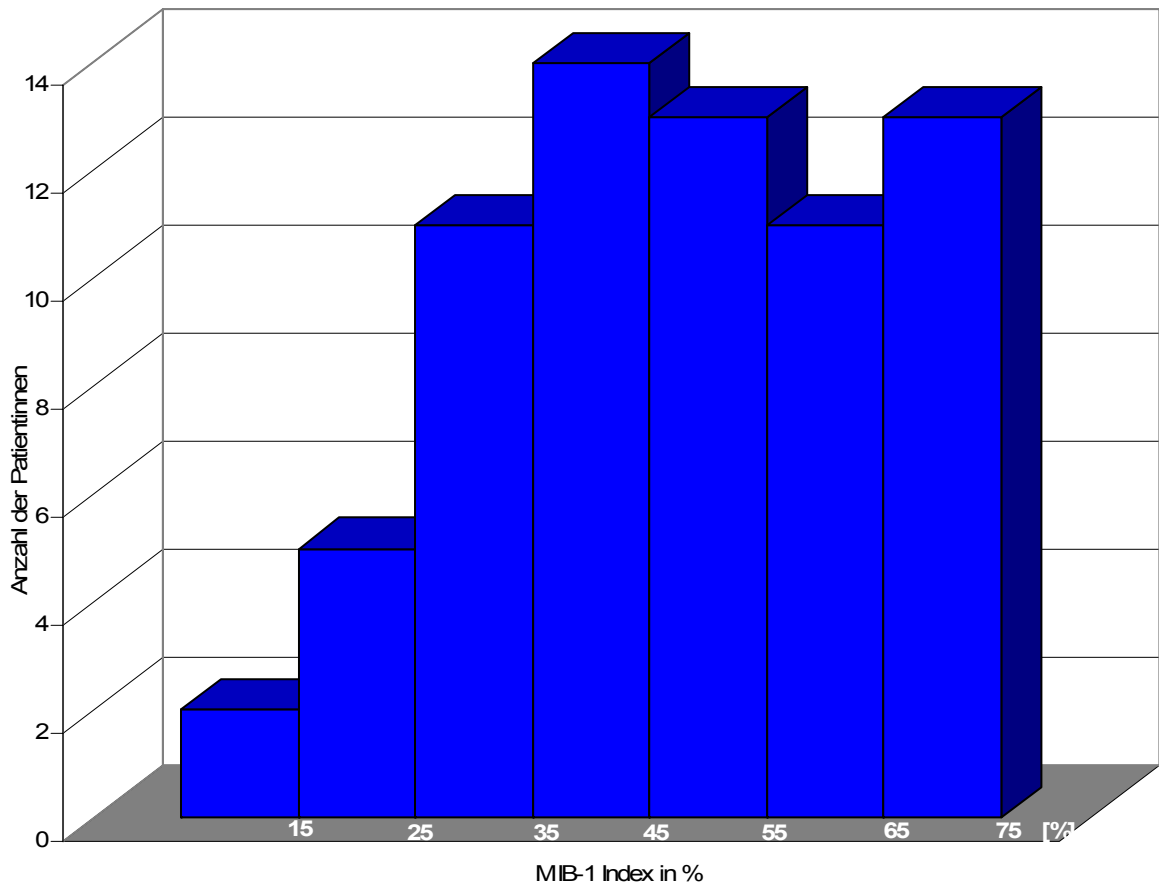
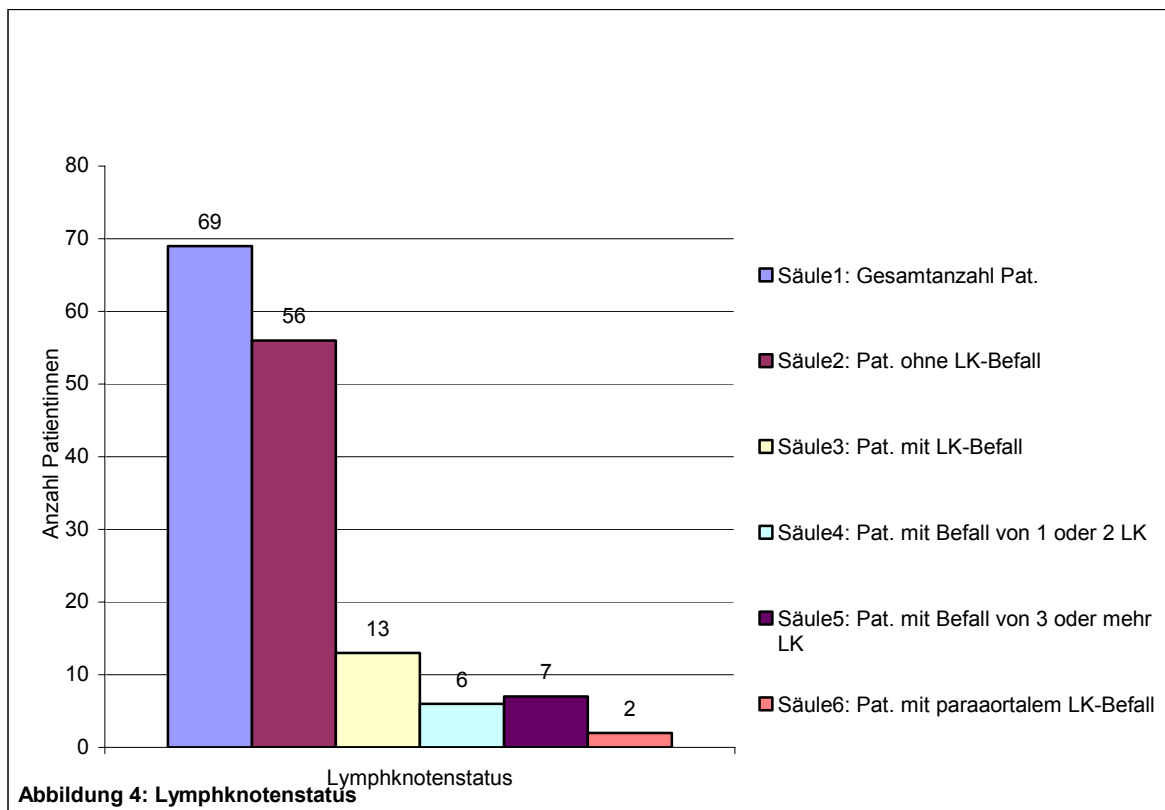


Abbildung 3: Verteilung MIB-1 Index in Prozent

## Lymphknotenstatus

Bei fast allen 69 Patientinnen waren Informationen über den Lymphknotenstatus aus dem histopathologischen Befund entnehmbar. Lediglich bei einer Patientin fehlte die Anzahl der operativ entfernten Lymphknoten. Der Mittelwert liegt bei 32,6 entfernten Lymphknoten. Die Streubreite liegt zwischen 10 und 90 entnommenen Lymphknoten pro Patientin. Eine Metastasierung der Lymphknoten lag bei 13 Patientinnen vor, bei 56 waren die Lymphknoten nicht befallen. Von den 13 Patientinnen war bei 6 ein Befall von 1-2 positiven Lymphknoten nachweisbar, bei 7 konnten 3 und mehr nachgewiesen werden. Bei letzteren zeigte sich in zwei Fällen ein Befall paraaortaler Lymphknoten.

Einen Überblick schafft Abbildung 4.



## Tumorvolumen

Das Tumorvolumen konnte bei 61 von 69 Patientinnen aus dem histopathologischen Befund übernommen werden. Bei 8 Patientinnen fehlte die Angabe. Teilweise war dies bei sehr kleinen Tumoren der Fall, teilweise war eine Konisation vorausgegangen, so dass nur das Resttumorvolumen vorlag. Die Volumina reichten von  $60 \text{ mm}^3$  bis  $123.750 \text{ mm}^3$ . Der Mittelwert lag bei  $21.334 \text{ mm}^3$ , der Median bei  $7750 \text{ mm}^3$ . Ein als prognostisch günstig beschriebenes Tumorvolumen von  $400 \text{ mm}^3$  und kleiner lag lediglich bei 6 Patientinnen vor. Die deutliche Mehrheit wies mit Volumina größer  $4000 \text{ mm}^3$  eine Risikokonstellation auf (89). Die nicht unerhebliche Anzahl von 15 Patientinnen lag mit Werten größer  $400$  und kleiner als  $4000$  dazwischen. Zur Verdeutlichung dient Abbildung 5.

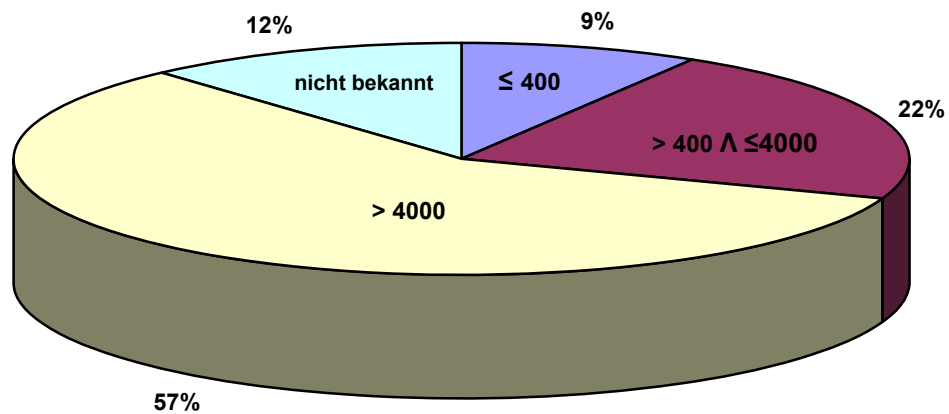


Abbildung 5: Tumorvolumen in  $\text{mm}^3$

## Invasionstiefe

Angaben zur Invasionstiefe konnten bei 65 Patientinnen ermittelt werden. In vier Fällen lagen diesbezüglich keine Informationen vor. Die Spannweite reicht von 2 mm minimal bis 45 mm maximal. Der Mittelwert der Invasionstiefe liegt bei 17,7 mm der Median bei 15 mm.

Eine in der Literatur beschriebene (89) „minimal risk“ Konstellation mit einer Invasionstiefe von  $< 5$  mm liegt lediglich bei 6 Patientinnen vor. „Low risk“ mit  $< 10$  mm erreichen 12, einen relativ ungünstigen Wert mit 11-15 mm haben 18 Patientinnen. Nahezu die Hälfte der Patientinnen [29] weist mit  $> 15$  mm ein hohes Risiko bezüglich des Merkmals Invasionstiefe auf.

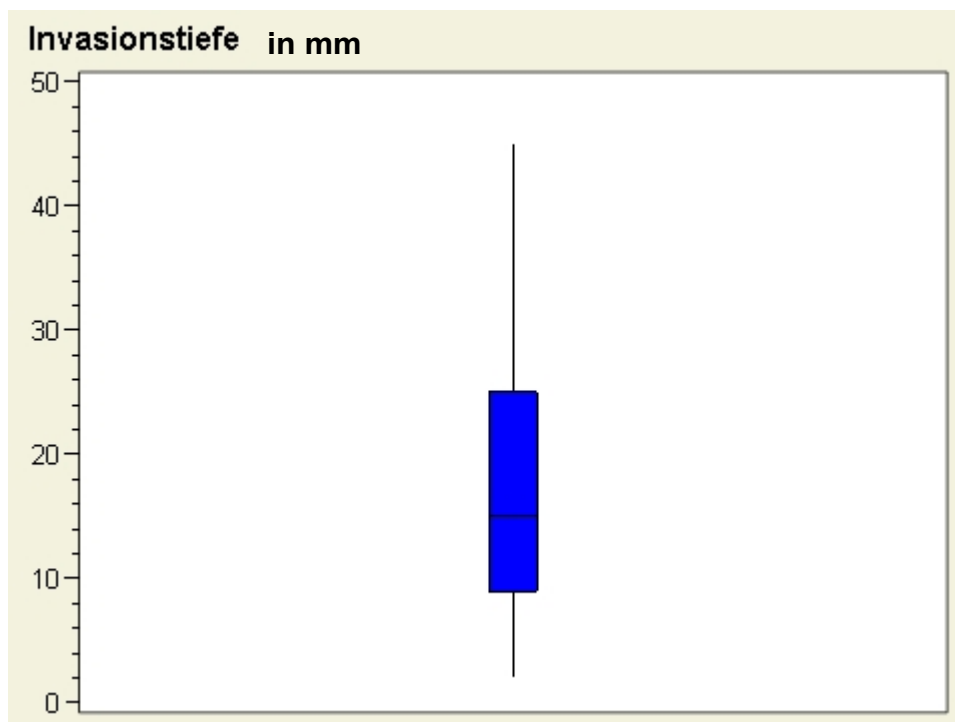


Abbildung 6: Invasionstiefe

## Lymph/Blutgefäßeinbrüche

Angaben über das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Blut und Lymphgefäßeinbrüchen lagen bei allen Patientinnen vor. Bei 52 Patientinnen waren Lymphgefäßeinbrüche nachweisbar, 17 hatten keine. Einbrüche in Blutgefäße traten in 26 Fällen auf, bei 43 Patientinnen konnten diese nicht festgestellt werden. Bei allen Patientinnen mit Blutgefäßeinbrüchen waren auch Lymphgefäßeinbrüche nachzuweisen. Jedoch waren nur bei 50 % der Patientinnen mit Lymphgefäßeinbrüchen auch Blutgefäßeinbrüche zu verzeichnen.

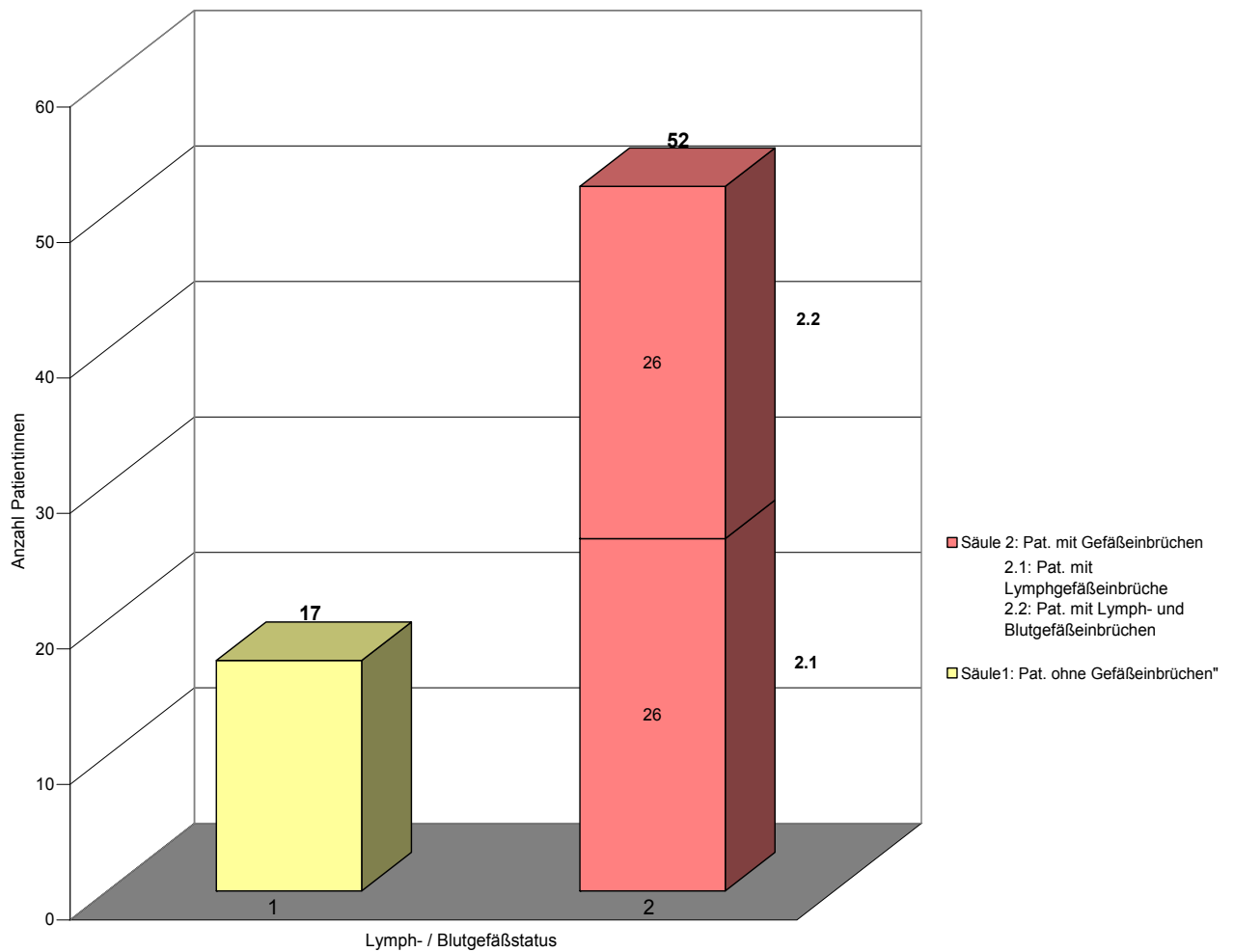


Abbildung 7: Lymph- / Blutgefäßstatus

## Differenzierungsgrad

Aussagen über den Differenzierungsgrad lagen in 68 Fällen vor. Allerdings gab es bei 9 Fällen keine eindeutige Zuordnung in mäßig bzw. schlecht differenziert. Hier wurde ein Grading von 2-3 angegeben. Die Häufigkeitsverteilung ist in Abbildung 8 dargestellt.

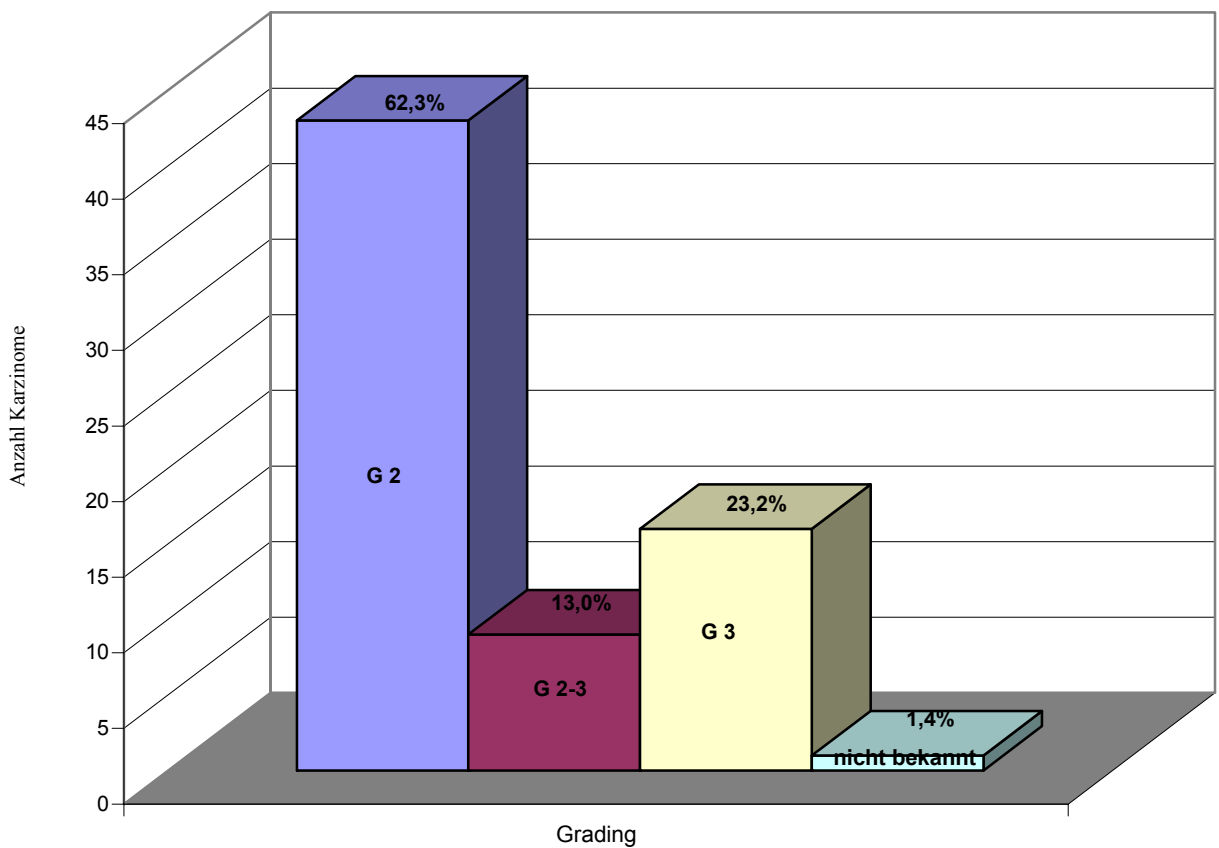


Abbildung 8: Differenzierungsgrad

## Postoperative Therapie

Die Faktoren welche zu einer postoperativen Therapie führten, sowie die verschiedenen angewendeten Therapieformen wurden bereits in 4.4. erläutert. Die folgende Graphik verschafft einen kurzen Überblick.

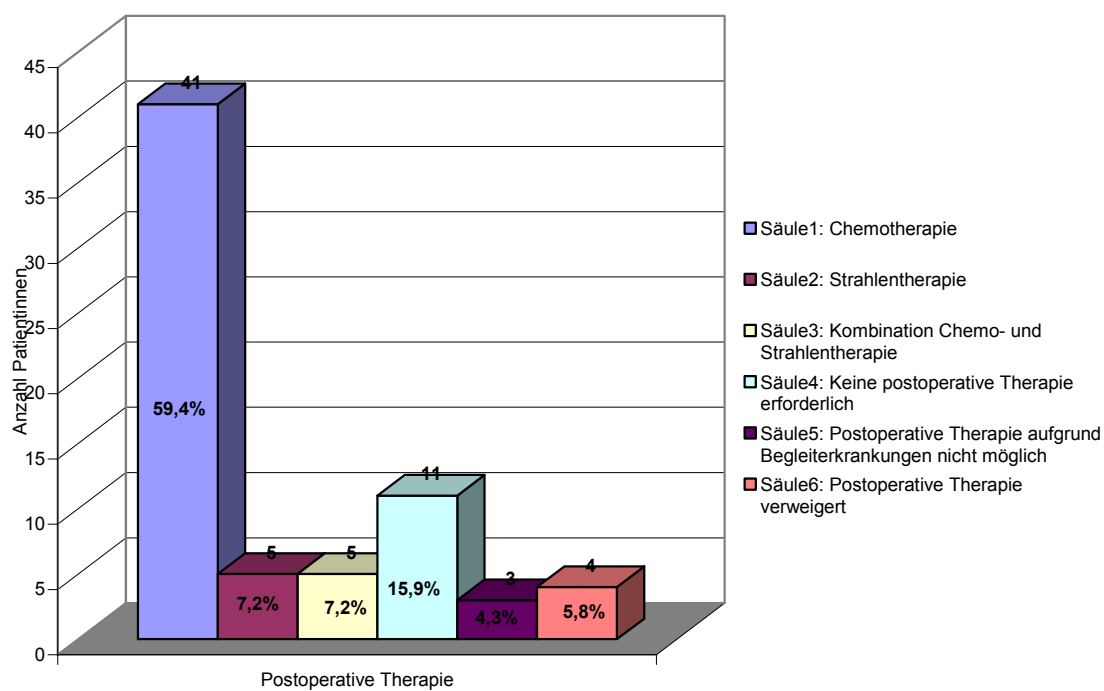


Abbildung 9: Postoperative Therapie

## Rezidive

Bei den insgesamt 69 Patientinnen wurde in 12 Fällen, also bei 17,4 %, ein Rezidiv diagnostiziert. Bei acht Patientinnen handelte es sich dabei um ein Lokalrezidiv im kleinen Becken, bei zwei wurde eine Fernmetastasierung (supraclaviculäre Lymphknotenmetastasen, Bauchdeckenmetastase) festgestellt. Fernmetastasen entwickelten insgesamt mindestens vier weitere Patientinnen mit Rezidiv im Verlauf ihrer Erkrankung. Bei zwei Patientinnen lagen keine Informationen über die Art des Rezidivs vor.

Das erste Rezidiv wurde bereits drei Monate nach erfolgter operativer Primärtherapie diagnostiziert, das letzte nach 22 Monaten unter Berücksichtigung des fünfjährigen Nachsorgezeitraums. Der Mittelwert des Auftretens eines Rezidivs lag bei 13,8 Monaten.

Alle 12 Patientinnen, die ein Rezidiv erlitten, verstarben an ihrer Erkrankung. Die erste bereits fünf Monate nach Diagnosestellung, die letzte nach 41 Monaten.

Die Faktoren welche zu einer postoperativen Therapie führten, sowie die verschiedenen angewendeten Therapieformen wurden bereits in 4.4 erläutert. Die folgende Graphik verschafft einen kurzen Überblick.

## **5.2. MIB-1 und andere klinische und histopathologische Faktoren in Beziehung zueinander**

### **Altersverteilung**

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen MIB-1 Index und dem Alter der Patientin zum Zeitpunkt der Diagnosestellung konnte nicht hergestellt werden. Der p-Wert liegt bei 0,65. Ebenso wenig kann die in der Literatur häufig erwähnte Aussage, dass mit steigendem Lebensalter auch das Tumorstadium steigt, bestätigt werden. Zwischen FIGO Stadium und Alter kann kein statistisch signifikanter Zusammenhang ermittelt werden ( $p=0,95$ ). Dieser fehlt auch beim Alter und den Faktoren Gefäßeinbrüche, Differenzierungsgrad sowie Lymphknotenbefall. Eine engere Beziehung, die jedoch die statistische Signifikanz knapp verfehlt, ergibt sich zwischen dem Alter der Patientinnen und den Faktoren Tumorumfang, Invasionstiefe und Anzahl der aufgetretenen Rezidive. Hier weisen die älteren Patientinnen (>50 Jahre) im Mittel größere Tumorumfänge sowie eine ausgeprägtere Stromainvasion auf. Außerdem gibt es in der Gruppe der älteren Patientinnen im Verhältnis zu den Jüngeren eine höhere Anzahl von Rezidiven.

### **FIGO Klassifikation**

Hier ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem FIGO Stadium und dem MIB-1 Index ( $p=0,15$ ). Auch zwischen dem FIGO Stadium, Differenzierungsgrad und (wie oben bereits erwähnt) dem Alter, konnte dieser nicht festgestellt werden. Gefäßeinbrüche traten in den höheren FIGO Stadien tendenziell häufiger auf, allerdings ohne statistische Relevanz.

Ein deutlich signifikanter Zusammenhang ergab sich zwischen den Parametern FIGO Stadium und Lymphknotenbefall, Anzahl aufgetretener Rezidive, Tumorumfang und Invasionstiefe.

Während es im Stadium 1A2 innerhalb des 5 jährigen Beobachtungszeitraums bei keiner Patientin zu einem Rezidiv kam, traten im Stadium 1B im selben Zeitraum 8,3 %, im Stadium 2A 33,3 % und im Stadium 2B 42,9 % Rezidive auf. Die einzige Patientin im Stadium 3 erlitt ebenfalls ein Rezidiv.

Im Zusammenhang mit dem Lymphknotenbefall ergeben sich ganz ähnliche Werte. Wie zu vermuten war, stiegen mit höherem FIGO Stadium auch Tumorumfang und Invasionstiefe statistisch signifikant an.

## Lymphknotenstatus

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem MIB-1 Index und dem Auftreten bzw. nicht Auftreten von Lymphknotenmetastasen konnte nicht nachgewiesen werden (bei  $p=0,55$ ). Das gleiche Ergebnis wurde bezüglich der Faktoren Lymphknotenbefall und Alter, Gefäßeinbrüche und Differenzierungsgrad erzielt. Auffällig ist ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem FIGO Stadium (siehe FIGO-Klassifikation, S. 36). Während bei keiner der Patientinnen im Stadium 1A2 Lymphknotenfiliae nachgewiesen werden konnten, lag der Anteil im Stadium 1B bereits bei 8,3 % und im Stadium 2B bei 50 %. Auch im Hinblick auf das Auftreten eines Rezidivs erwies sich der Lymphknotenstatus als maßgeblich, mit hoher statistischer Signifikanz ( $p=0,0071$ ).

Eine weitere Korrelation ergab sich zwischen Lymphknotenbefall und Tumolvolumen bzw. Invasionstiefe. Hier zeigten sich bei den Patientinnen mit Lymphknotenmetastasen deutlich größere Tumolvolumina ( $p=0,02$ ), sowie eine ausgeprägtere Stromainvasion ( $p = 0,004$ ).

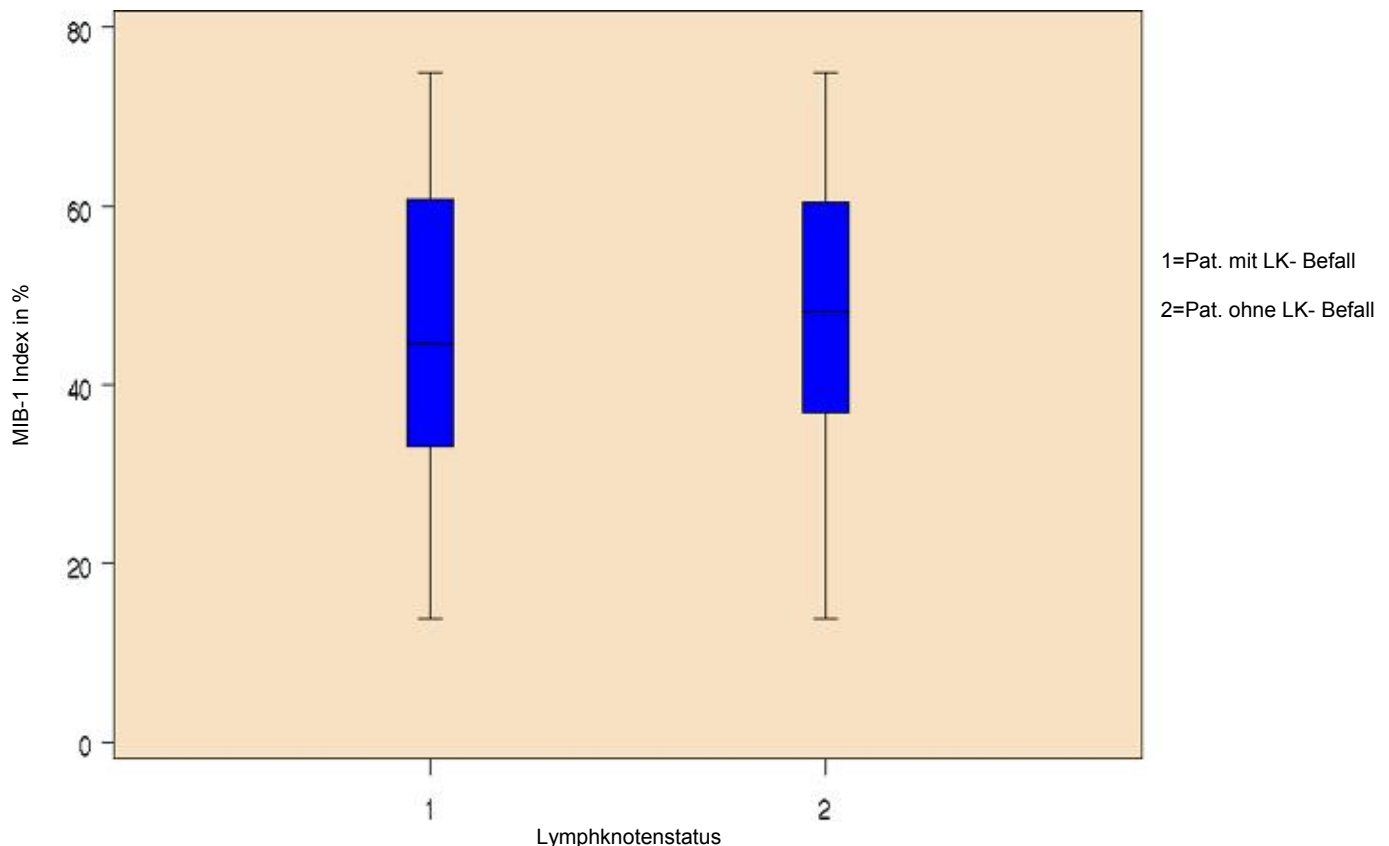


Abbildung 10: Verteilung des MIB-1 Index in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus

## Tumorvolumen

Auch beim Tumorvolumen ergab sich keine Abhängigkeit vom MIB-1 Index. Die in der Literatur (5) aufgestellte Hypothese, dass es bei steigendem Tumorvolumen zu einem mittels MIB-1 Index nachweisbaren Absinken der Tumorwachstumsrate kommt, kann hier nicht bestätigt werden. Auch zum Alter der Patientinnen und dem Differenzierungsgrad der Tumore lies sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang herstellen. Es besteht allerdings eine deutlich signifikante Beziehung zum Lymph/Blutgefäßstatus ( $p=0,02$ ). Patientinnen mit nachweisbaren Gefäßeinbrüchen weisen im Vergleich zu Patientinnen, bei denen kein Gefäßeinbruch bekannt ist, durchschnittlich größere Tumorvolumina auf. Ferner sind auch das Auftreten eines Rezidivs ( $p=0,04$ ; siehe Abbildung 11) bzw. von Lymphknotenmetastasen ( $p=0,02$ ) häufig mit größeren Tumorvolumina vergesellschaftet.

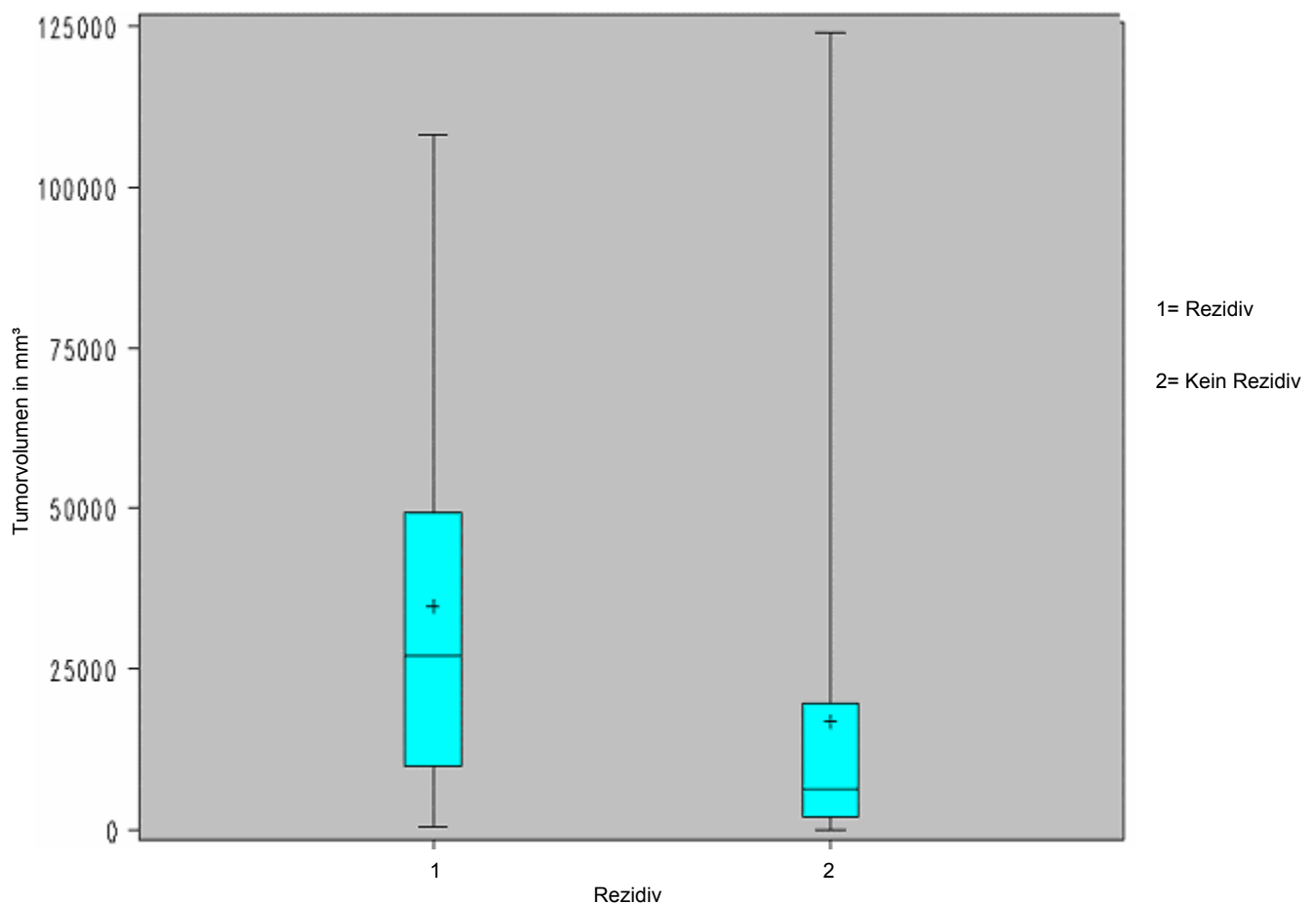


Abbildung 11: Tumorvolumen in Abhängigkeit des Auftretens eines Rezidivs

## Invasionstiefe

Eine statistisch signifikante Beziehung zwischen Invasionstiefe und MIB-1 Index ist nicht nachweisbar. Dies trifft auch auf die Faktoren Differenzierungsgrad des Tumors, Alter der Patientin, sowie Gefäßeinbrüche zu. Letzteres zeigt allerdings eine engere Beziehung zur Invasionstiefe, wenn auch ohne statistische Signifikanz. So liegt bei Patientinnen mit Lymph/ Blutgefäßeinbrüchen tendenziell eine ausgeprägtere Tumordinvasion vor. Da sich das Tumolvolumen aus der Invasionstiefe multipliziert mit Länge und Breite berechnet und eine deutlich signifikante Beziehung zu Lymph/ Blutgefäßeinbrüchen aufweist, spielt in diesem Zusammenhang vermutlich der (nicht bekannte) Tumordurchmesser noch eine wichtige Rolle.

Eine signifikante Rolle spielen FIGO Stadium und Lymphknotenbefall (siehe S. 37). Ferner ist wichtig, dass Patientinnen, welche rezidivfrei blieben, auch durchschnittlich deutlich geringere Invasionstiefen aufwiesen ( $p = 0,02$ ).

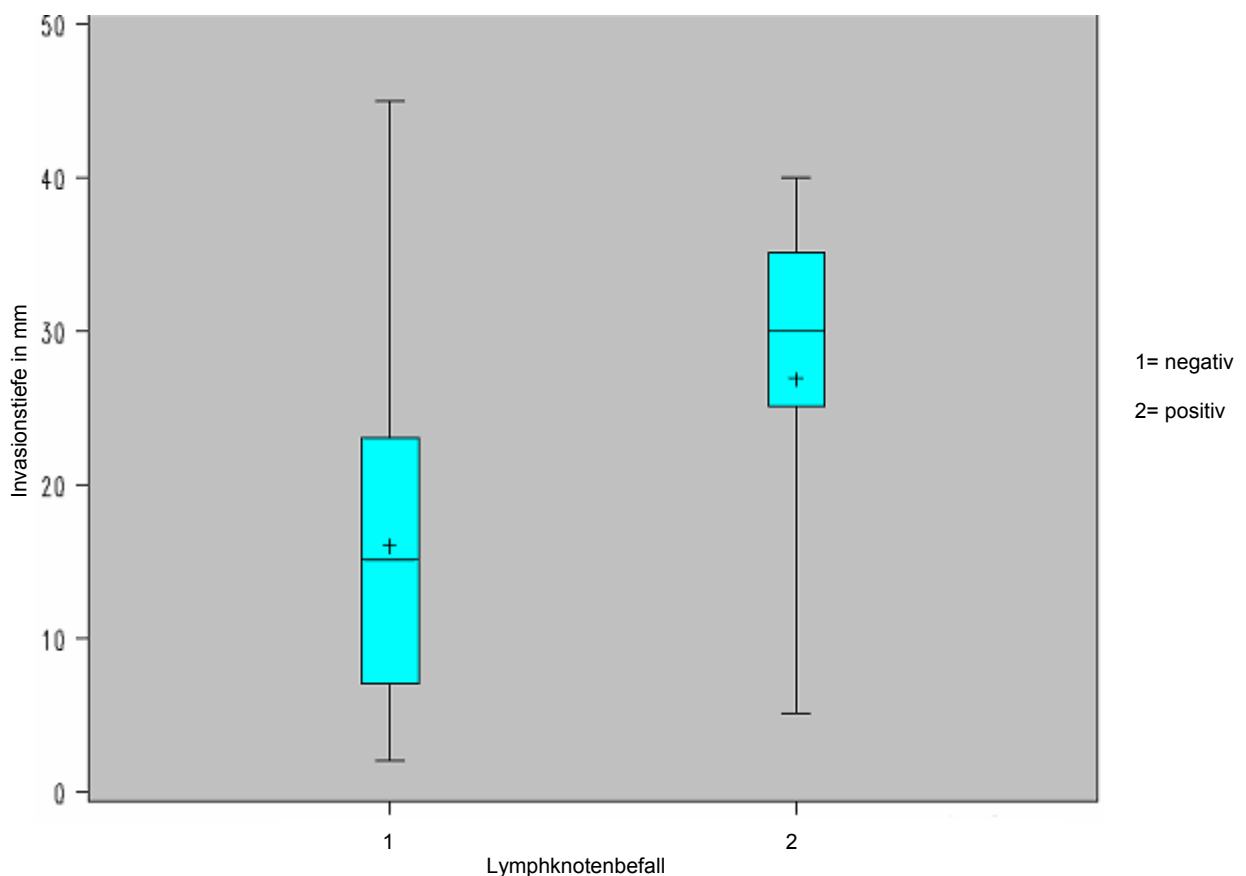


Abbildung 12: Invasionstiefe in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall

## Gefäßeinbrüche

Der MIB-1 Index korreliert nicht mit dem Auftreten von Lymph- und Blutgefäßeinbrüchen ( $p = 0,07$ ). Tendenziell (ohne erreichte statistische Signifikanz) weisen Patientinnen mit bekannten Gefäßeinbrüchen im Vergleich zu Patientinnen ohne nachgewiesene Gefäßeinbrüche jedoch durchschnittlich geringere MIB-1 Indices auf. Hier besteht ein Widerspruch zu der Theorie, dass hohe Proliferationsindices gehäuft (gemessen mit MIB-1) bei besonders aggressiven Tumoren auftreten.

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht zwischen dem Tumorzellen, dem Auftreten eines Rezidivs und Lymph- bzw. Blutgefäßeinbrüchen. So wiesen alle Patientinnen, welche ein Rezidiv erlitten, Lymphgefäßeinbrüche auf. Bei zwei Dritteln waren zusätzlich noch Blutgefäßeinbrüche nachweisbar.

Kein statistisch signifikanter Zusammenhang wurde zwischen Gefäßeinbrüchen und den Faktoren Alter, Differenzierungsgrad, Lymphknotenbefall, FIGO Stadium und Invasionstiefe nachgewiesen.

## Differenzierungsgrad

Differenzierungsgrad und	Alter	FIGO-Stadium	MIB-1-Index	LK-Status	Tumorzellen	Invasions-tiefe	LVSI/CSI	Rezidive
Signifikanz	0,79	0,65	0,87	0,43	0,59	0,98	0,36	0,51

**Tabelle 3: Zusammenhang zwischen Differenzierungsgrad und verschiedenen klinischen und patholog. Faktoren.**

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist, besteht zwischen dem Differenzierungsgrad des Tumors und dem MIB-1 Index sowie den anderen oben aufgeführten Faktoren kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

## Rezidive

Vom Auftreten eines Rezidivs waren 17,4 % der Patientinnen betroffen. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem MIB-1 Index konnte nicht festgestellt werden (bei  $p = 0,47$ ). Dieser zeigte sich jedoch deutlich in Bezug auf das FIGO Stadium. Während 33,3 % der Rezidive auf das Stadium 1 entfielen, waren es im Stadium 2 bereits 58,3 %. Ein ebenso deutlicher, signifikanter Zusammenhang ergab sich auch zwischen dem Auftreten eines Rezidivs und dem Lymphknotenstatus. So waren bei 50 % der von einem Rezidiv betroffenen Patientinnen ein oder mehrere Lymphknoten vom Tumor befallen.

Eine weitere Parallele besteht in Hinblick auf das Tumolvolumen. Hier weist die Rezidivgruppe im Vergleich zu den davon nicht betroffenen Patientinnen mit  $34.700 \text{ mm}^3$  zu  $14.355 \text{ mm}^3$  deutlich höhere Mittelwerte bezüglich des Tumolvolumens auf. Ganz ähnlich verhält es sich mit dem Parameter Invasionstiefe. Auch hier weisen die von einem Rezidiv betroffenen Frauen durchschnittlich signifikant größere Werte auf ( $25,3 \text{ mm}$  zu  $14,9 \text{ mm}$ ).

In Hinblick auf ein aufgetretenes Rezidiv ist auch der Faktor Lymph- und Blutgefäßeinbrüche beachtenswert. Während 7,7 % der Patientinnen mit nachgewiesenem Lymphgefäßeinbruch ein Rezidiv erlitten, war in der Gruppe der Frauen ohne nachgewiesenen Lymphgefäßeinbruch keine einzige betroffen. In der Gruppe der Patientinnen, welche zusätzlich noch Blutgefäßeinbrüche aufwiesen, hatten 30,8 % ein Rezidiv.

Kein statistisch signifikanter Zusammenhang ließ sich zwischen dem Alter der Patientinnen sowie dem Differenzierungsgrad des Tumors und dem Auftreten eines Rezidivs ableiten. Ein vermehrtes Auftreten von Rezidiven bei entdifferenzierten Tumoren (G3), wie teilweise in der Literatur vertreten (89, 96), kann hier nicht bestätigt werden. Auch die von einigen Autoren beschriebene erhöhte Rezidivwahrscheinlichkeit bei jüngeren Patientinnen (21, 84) kann hier nicht nachvollzogen werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Patientinnen die ein Rezidiv erlitten statistisch signifikant höhere FIGO Stadien, größere Tumorumfänge bzw. Invasionstiefen, sowie häufigeren Lymphknotenbefall oder Gefäßeinbrüche aufwiesen.

### 5.3. Überlebensstatistik

Gesamtkollektiv

Abbildung 13 zeigt die Überlebenswahrscheinlichkeit des Gesamtkollektivs nach fünf Jahren, ermittelt nach der Kaplan-Meier-Methode. Sie beträgt 82,4 %. Zwölf der insgesamt 69 Patientinnen verstarben an ihrer Erkrankung innerhalb des 5jährigen Beobachtungszeitraums.

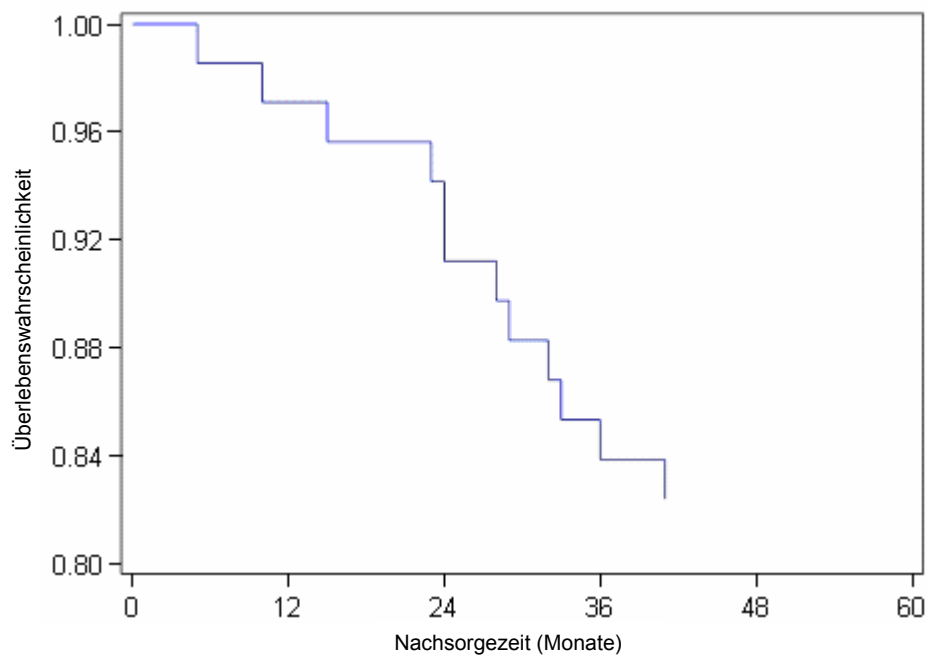


Abbildung 13: Überlebenswahrscheinlichkeit des Gesamtkollektivs nach 5 Jahren

## MIB-1 Index

Bezüglich des MIB-1 Index erfolgte die Aufteilung in zwei Gruppen. Werte  $\leq 50\%$  sind in Abbildung 15 der Gruppe 1 zugeordnet, Werte  $> 50\%$  der Gruppe 2. Die Überlebenswahrscheinlichkeit der MIB-1 negativen Patientinnen liegt bei 78,4 %, die der positiven bei 87,1 %. Die Unterschiede im Kurvenverlauf erreichten im Log-Rank-Test jedoch keine statistische Signifikanz mit  $p = 0,32$ . Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen MIB-1 Index und dem Gesamtüberleben des Patientenkollektivs kann hier also nicht hergestellt werden.

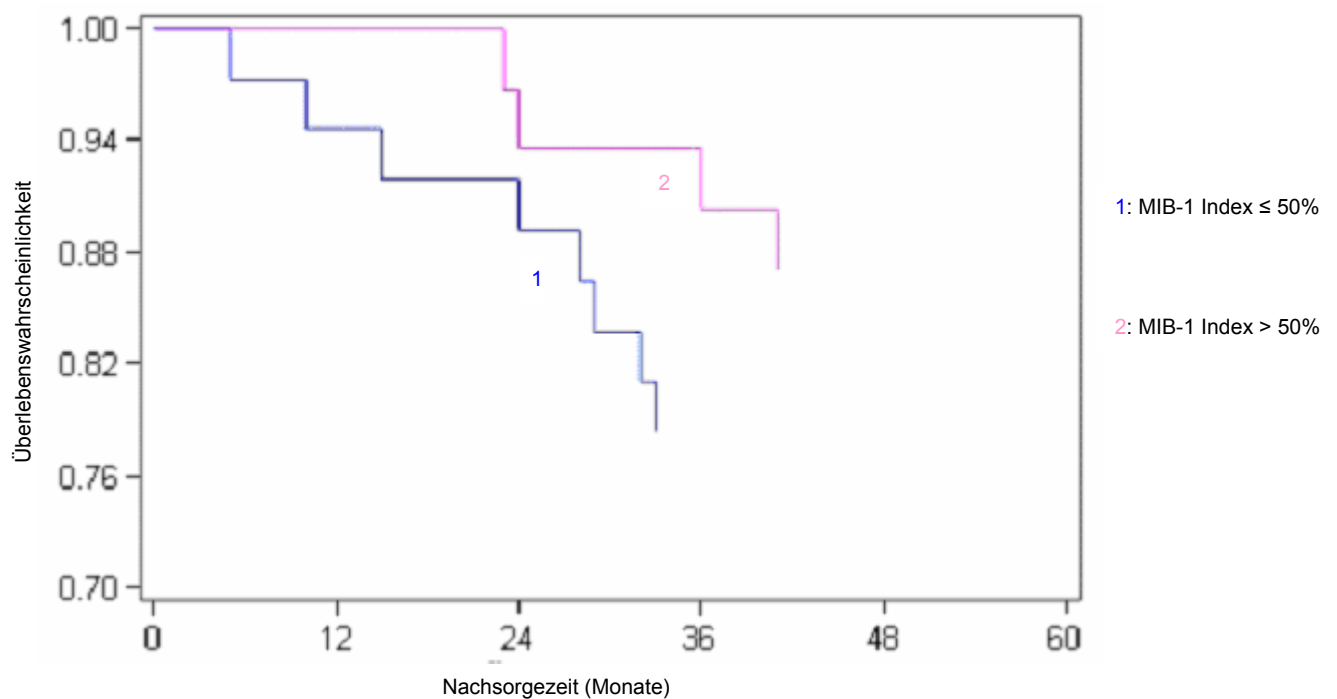


Abbildung 14: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom MIB-1 Index

## Altersverteilung

Die Überlebenskurven in Abbildung 15 zeigen eine höhere Überlebenschance für die jüngere Patientengruppe ( $\leq 50$  Jahre) mit 90 %, im Vergleich zur älteren Patientengruppe ( $> 50$  Jahre) mit 71,4 %. Der Unterschied im Kurvenverlauf verfehlte im Log-Rank-Test mit  $p = 0,058$  allerdings knapp die statistische Signifikanz. Ein kürzeres Überleben der jüngeren Patientinnen (bei prozentual etwa gleich verteilten FIGO Stadien) im Sinne eines besonders aggressiven Tumorwachstums kann nicht bestätigt werden. Die geringere Überlebenschance der älteren Patientinnen könnte mit der bereits erwähnten Tendenz zu größeren Tumorumfängen, ausgeprägteren Invasionsstufen und der vermutlich dadurch erhöhten Rezidivneigung zusammen hängen.

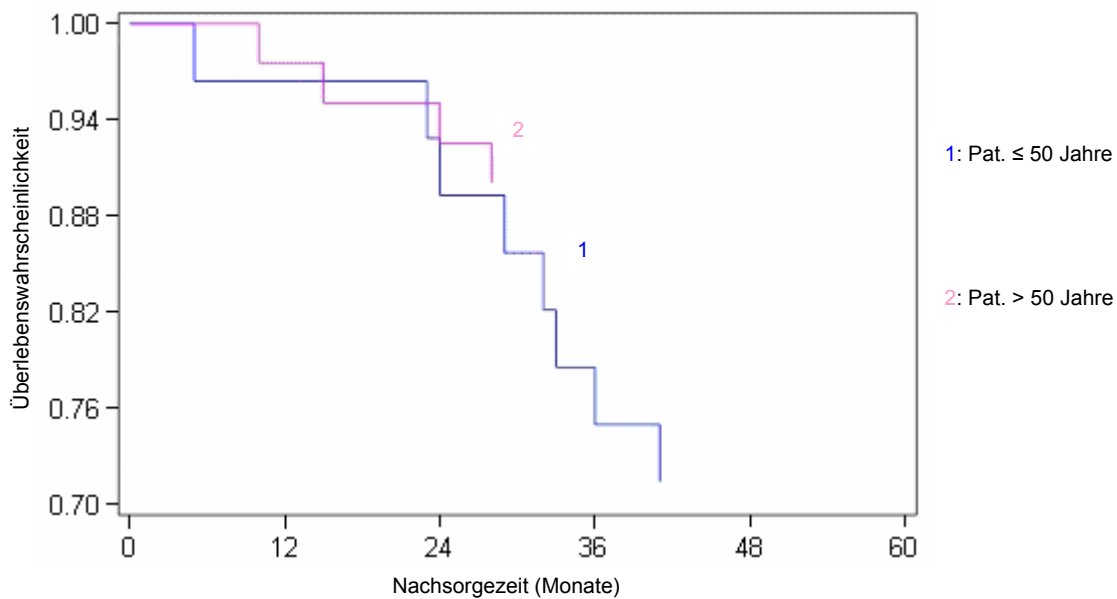


Abbildung 15: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen bei Diagnosestellung

## Lymphknotenstatus

Die Patientinnen wurden zunächst in eine Gruppe ohne Lymphknotenbefall und eine Gruppe mit Lymphknotenbefall eingeteilt - in der untenstehenden Graphik auch als negativ und positiv bezeichnet. Hier zeigt sich ein eindeutiger Überlebensvorteil der Patientinnen ohne Lymphknotenbefall. Während die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patientinnen ohne nachgewiesene Lymphknotenmetastasen 89,2 % beträgt, fällt sie bei den Patientinnen mit Lymphknotenmetastasen auf 53,9 % ab. Das Ergebnis ist statistisch signifikant im Log-Rank-Test mit  $p = 0,003$ . Der Lymphknotenstatus hat also deutlich Einfluss auf die 5-Jahres-Überlebensrate und ist somit von prognostischer Relevanz.

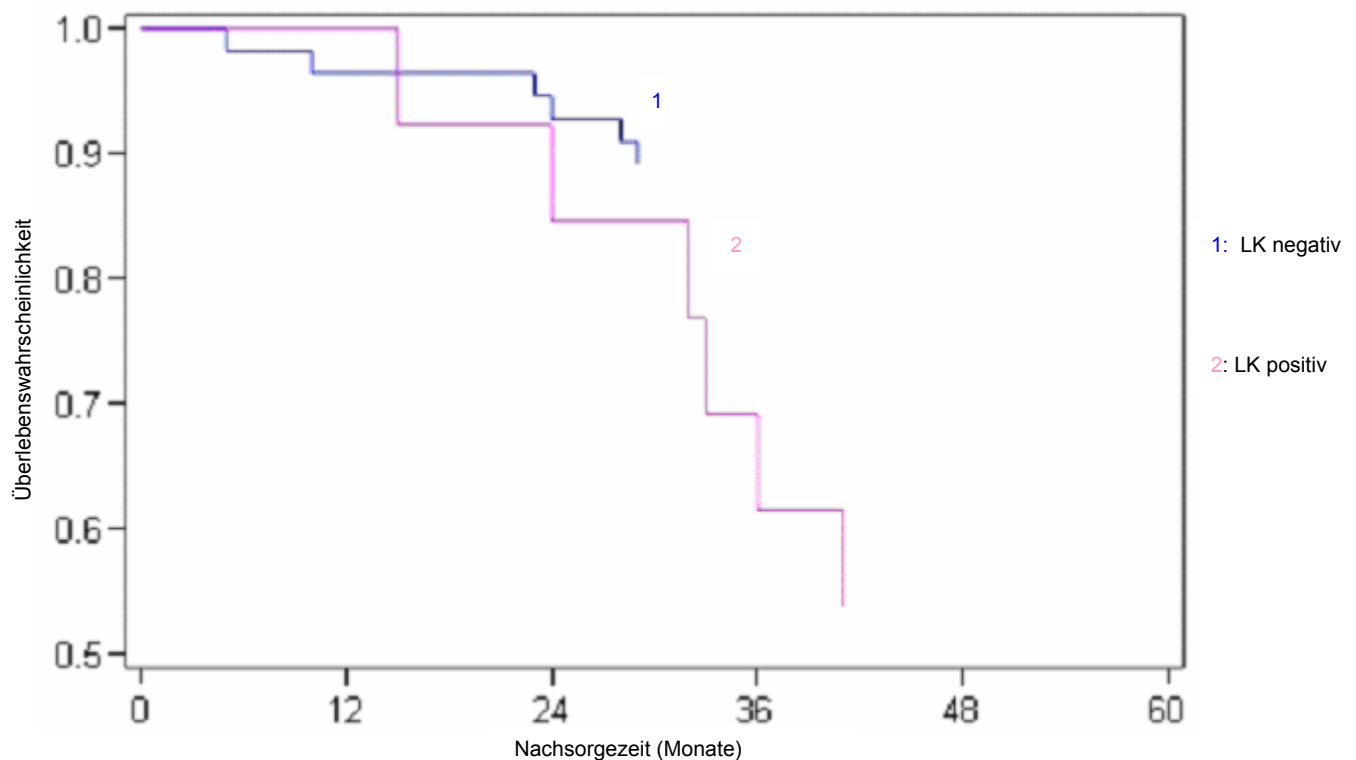


Abbildung 16: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus

## Anzahl befallener Lymphknoten

Um zu untersuchen, ob die Anzahl befallener Lymphknoten sich auf das Gesamtüberleben auswirkt, wie in der Literatur beschrieben (8, 48, 73, 88, 92, 97, 102), erfolgte die Einteilung der Patientinnen mit nachgewiesenen Lymphknotenmetastasen in zwei Gruppen. Die erste Gruppe umfasst die Patientinnen mit ein oder zwei befallenen Lymphknoten, die zweite alle mit drei oder mehr Lymphknotenfiliae. Das Ergebnis ist eindrucksvoll, auch wenn die statistische Signifikanz im Log-Rank-Test aufgrund der kleinen Fallzahlen mit  $p = 0,07$  knapp verfehlt wurde. Während die Überlebenschance der Patientinnen bei ein bis zwei befallenen Lymphknoten mit 83,3 % nur knapp unter der der Frauen ohne Lymphknotenbefall liegt (89,2 %), weisen die Patientinnen mit mindestens drei befallenen Lymphknoten lediglich eine 5-Jahres-Überlebensrate von 28,6 % auf.

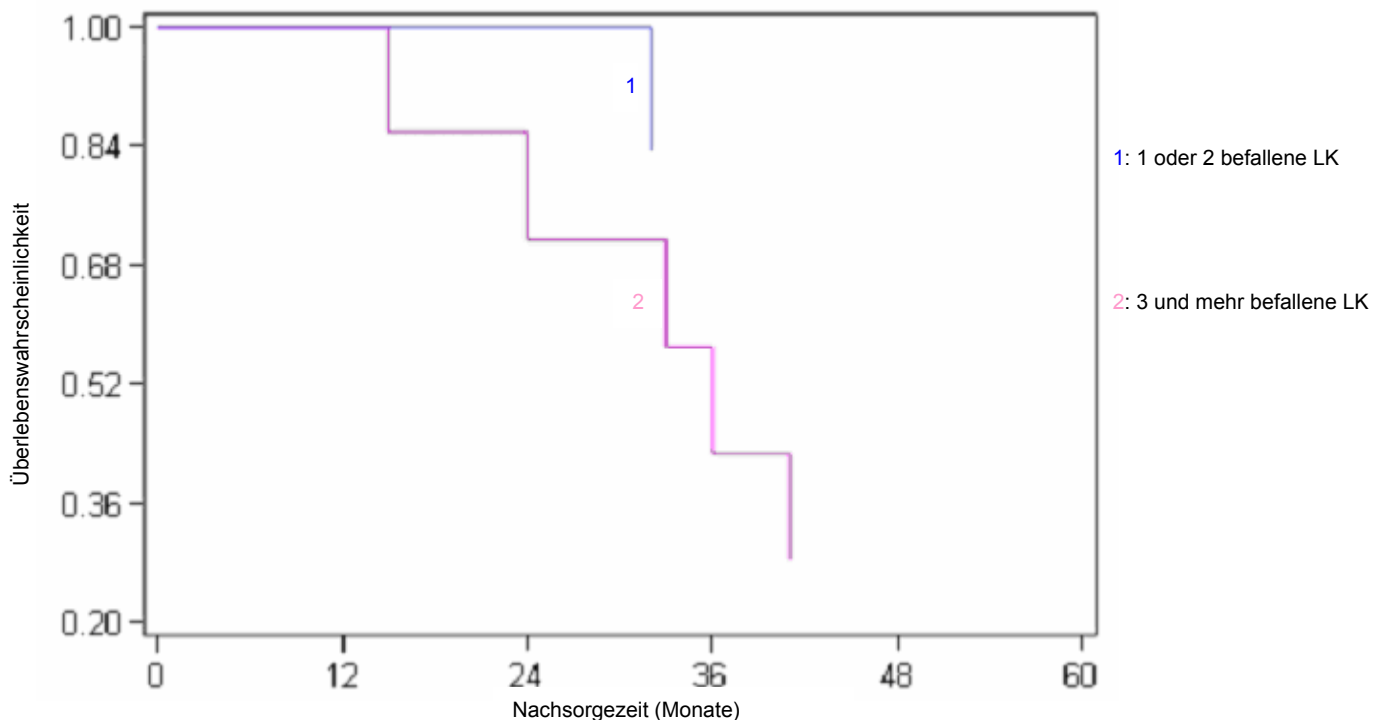


Abbildung 17: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der Anzahl befallener Lymphknoten

## Tumorvolumen

Auch hier erfolgte die Aufteilung in zwei Gruppen; Gruppe 1 mit einem Tumorvolumen  $< 4000 \text{ mm}^3$ , Gruppe 2 mit einem Tumorvolumen  $\geq 4000 \text{ mm}^3$ . Während die Überlebenswahrscheinlichkeit nach 5 Jahren bei den Patientinnen mit dem kleineren Tumorvolumen bei 89,5 % liegt, hat die Gruppe mit dem größeren Tumorvolumen eine Überlebenswahrscheinlichkeit von 75,7 %.

Die in Abbildung 18 dargestellten dazugehörigen Kurven spiegeln das kürzere Überleben der Patientinnen mit großem Tumorvolumen tendenziell wieder. Der Unterschied im Verlauf beider Kurven erreichte im Log-Rank-Test jedoch nicht die statistische Signifikanz, bei  $p = 0,22$ .

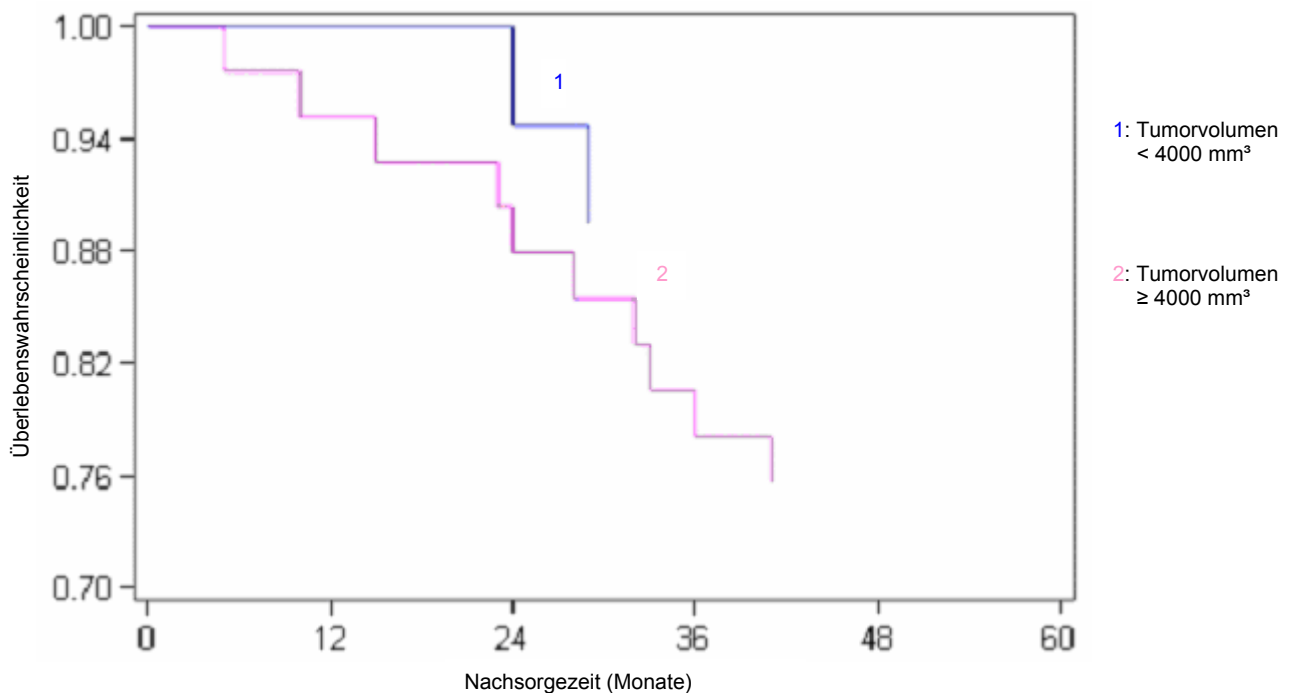


Abbildung 18: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom Tumorvolumen

## Invasionstiefe

Hier erfolgte die Gruppeneinteilung in Gruppe 1 mit einer Invasionstiefe  $< 15$  mm und Gruppe 2 mit einer Invasionstiefe  $\geq 15$  mm. Das Ergebnis ähnelt dem des Parameters Tumolvolumen. Auch hier weist die Gruppe mit dem geringer ausgeprägten Befund eine höhere 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit auf, mit 88,9 %, im Vergleich zur anderen Gruppe mit 75,7 %. Aber auch hier erreichte der Unterschied im Kurvenverlauf keine statistische Signifikanz im Log-Rank-Test mit  $p = 0,20$ .

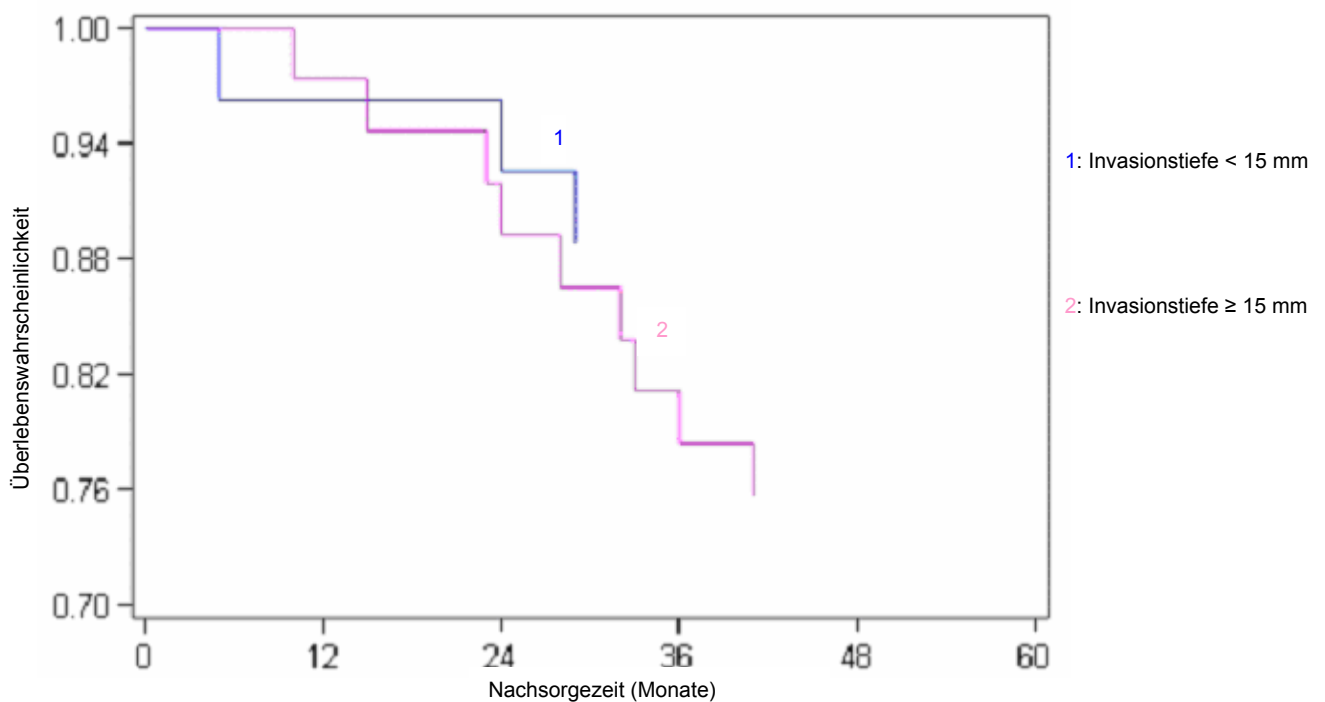


Abbildung 19: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der Invasionstiefe

## Gefäßeinbrüche

Verglichen wurde hier das 5-Jahres-Überleben der Patientinnen ohne Gefäßeinbrüche mit dem der Patientinnen mit nachgewiesenen Blut- und/oder Lymphgefäßeinbrüchen. In der zuletzt genannten Gruppe waren bei 50 % der Patientinnen lediglich Lymphgefäßeinbrüche bekannt, die anderen 50 % wiesen Blut- und Lymphgefäßeinbrüche auf.

Das Ergebnis ist eindeutig. Während es in der Gruppe ohne Gefäßeinbrüche zu keinem einzigen Todesfall kam, entsprechend einer Überlebenschance von 100 %, (deshalb auch nur eine Kurve in Abbildung 20) liegt die Überlebenschance in der Gruppe mit Gefäßeinbrüchen bei 76,9 %. Das Ergebnis ist statistisch signifikant mit  $p = 0,04$ . Das Vorliegen von Gefäßeinbrüchen korreliert also statistisch signifikant mit einem verkürzten 5-Jahres-Gesamtüberleben.

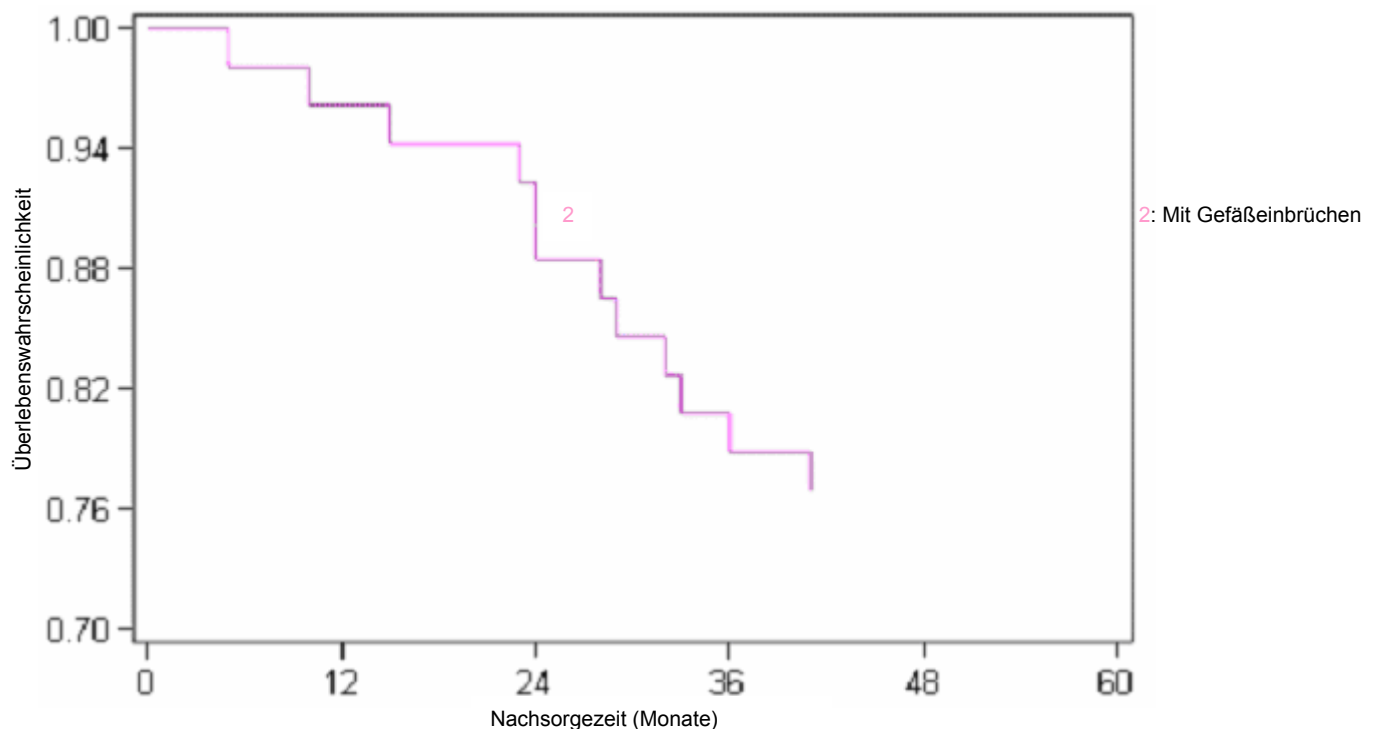


Abbildung 20: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von Gefäßeinbrüchen

## Differenzierungsgrad

Hier erfolgte ein Vergleich der mäßig differenzierten mit den gering differenzierten Tumoren und denen, deren Grading mit 2-3 angegeben wurde. Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patientinnen mit einem G2 Tumor liegt nach 5 Jahren bei 78,6 %, die, bei denen das Grading mit 2-3 angegeben ist bei 77,8 %. Wider erwarten weisen die Patientinnen mit den gering differenzierten Tumoren mit 93,8 % die höchste Überlebenswahrscheinlichkeit auf, obgleich keine Korrelation zwischen FIGO Stadium und Differenzierungsgrad besteht. Allerdings erreichte das Ergebnis keine statistische Signifikanz mit  $p = 0,38$ .

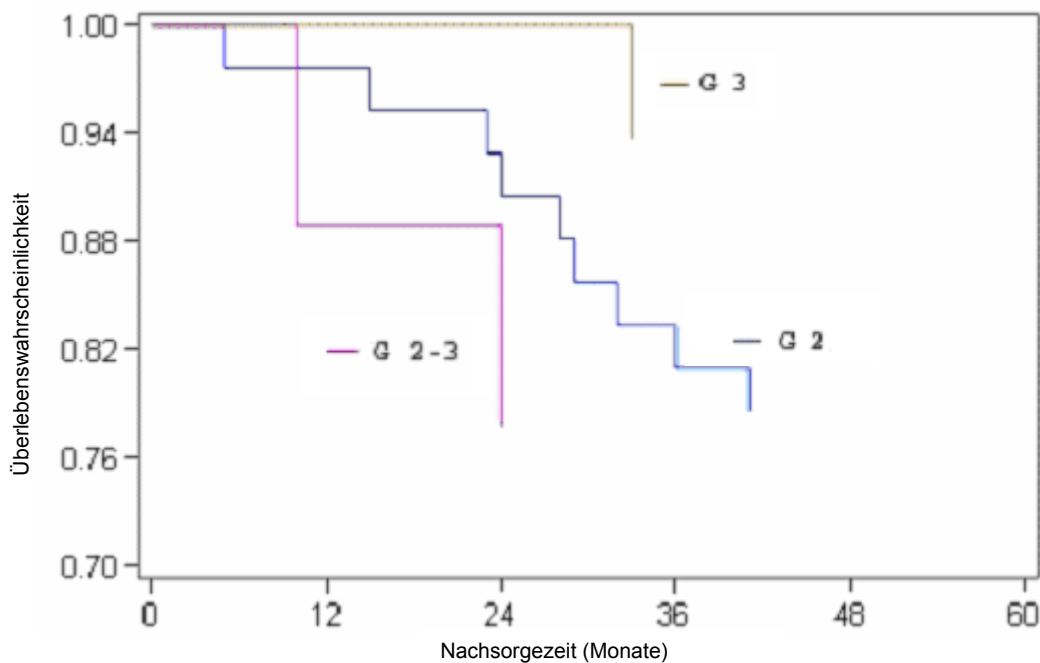


Abbildung 21: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit vom Differenzierungsgrad

## Postoperative Therapie

Verglichen wurde die Patientengruppe, welche nach erfolgter Operation nach Wertheim-Meigs noch eine Anschlusstherapie in Form einer Chemo oder Strahlentherapie, oder einer Kombination aus beiden, erhalten hatte, mit der Gruppe, deren Therapie (aus unterschiedlichen Gründen, siehe 5.1.) nach der Operation beendet war. Ein statistisch signifikanter Unterschied im 5-Jahres-Überleben konnte nicht festgestellt werden, der p-Wert liegt bei 0,48.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit für die Gruppe mit erfolgter postoperativer Therapie liegt bei 84,3 %, die für die Gruppe ohne postoperative Therapie mit 76,7 % knapp darunter. Hier muss auch berücksichtigt werden, dass 7 Patientinnen aus der Gruppe ohne erfolgte postoperative Therapie vom Risikoprofil eigentlich der anderen Gruppe zuzuordnen wären. Vier Patientinnen hatten eine Anschlusstherapie verweigert, bei Dreien war aufgrund von internistischen Begleiterkrankungen darauf verzichtet worden.

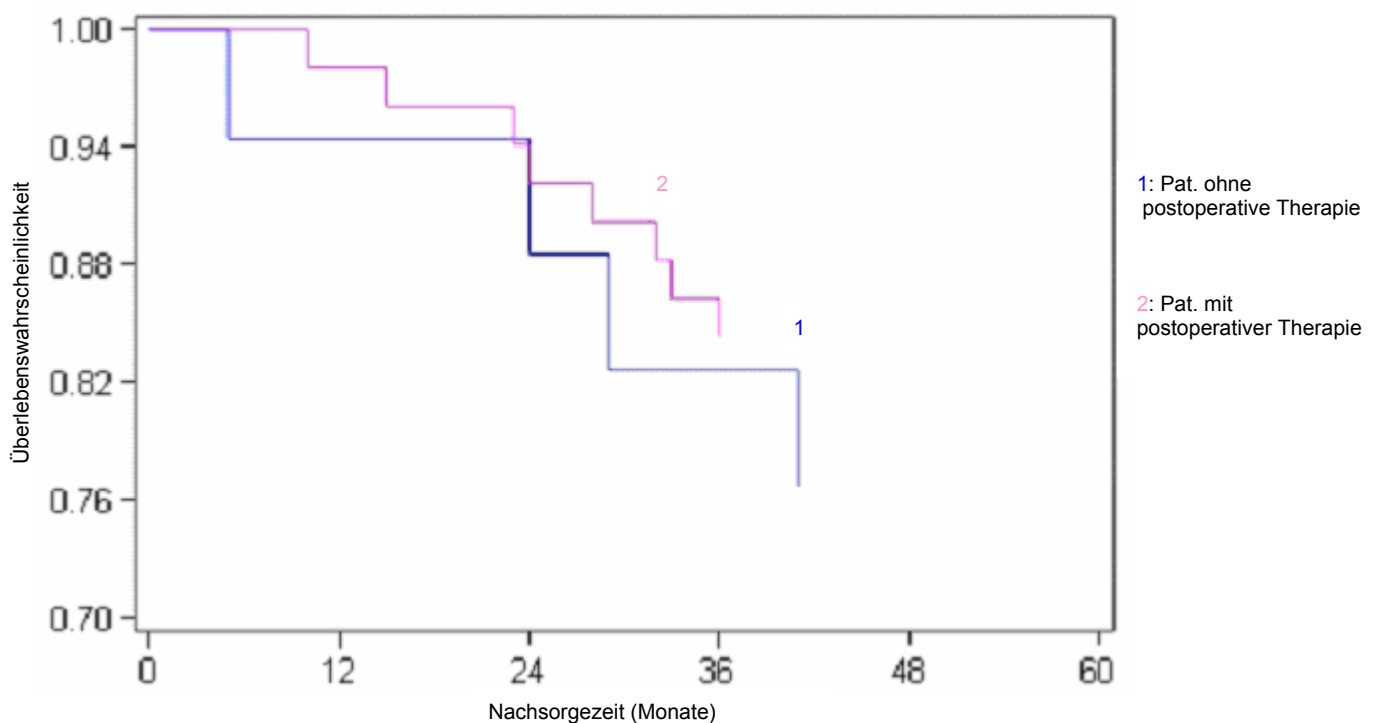


Abbildung 22: Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der postoperativen Therapie

## 6. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde der Proliferationsmarker MIB-1 an Gewebeschnitten von 69 Patientinnen mit einem Plattenepithelkarzinom der Zervix uteri bestimmt. Der ermittelte MIB-1 Index wurde zu zahlreichen klinischen und histopathologischen Faktoren in Beziehung gesetzt und auf seine prognostische Relevanz überprüft. Ferner sollte die prognostische Wertigkeit verschiedener, in der Literatur teilweise kontrovers diskutierter, Parameter am eigenen Patientenkollektiv nachvollzogen werden.

Der Proliferationsmarker MIB-1 findet in der gynäkologischen Pathologie in verschiedensten Bereichen seine Anwendung. So wird seine prognostische Aussagekraft z.B. bei Mamma- und Ovarial-Karzinomen von etlichen Autoren beschrieben (33, 46, 69). Auch bei Erkrankungen der Zervix uteri kommt MIB-1 zum Einsatz, z.B. zur Differenzierung maligner von benignen Läsionen in unklaren Fällen. Die Ergebnisse in der Anwendung beim invasiven Zervixkarzinom werden jedoch kontrovers diskutiert.

So berichten Garzetti et al (29) über signifikant höhere MIB-1 Indices in der Gruppe der jüngeren Patientinnen im Vergleich zu den älteren. Da die jüngeren Frauen gleichzeitig ein kürzeres krankheitsfreies Überleben sowie eine höhere Rate an Lymphknotenmetastasen aufwiesen, wurde ein besonders aggressiver Tumorverlauf (angezeigt durch hohe MIB-1 Indices) bei jüngeren Patientinnen vermutet. Dieses Ergebnis kann hier nicht bestätigt werden. Ein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich des MIB-1 Index konnte in den beiden Gruppen (Patientinnen 50 Jahre und jünger/ Patientinnen über 50 Jahre) nicht festgestellt werden. Zu dem gleichen Ergebnis kamen Cole et al (16), die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen MIB-1 Index und Alter der Patientinnen herstellen konnten. Gleichfalls kontrovers diskutiert wird die Frage, ob es einen Zusammenhang gibt zwischen MIB-1 Index und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen. So berichten Garzetti et al in zwei Studien über signifikant höhere MIB-1 Indices bei nodal positiven Patientinnen im Vergleich zu Patientinnen ohne Lymphknotenbeteiligung (28, 29). Demgegenüber stehen z. B. die Ergebnisse von Graflund et al (38). Hier wurde der MIB-1 Index von 141 Frauen mit einem Plattenepithelkarzinom der Zervix (FIGO 1-2) bestimmt. MIB-1 positive Tumore (>30 % Kernfärbung) zeigten die gleiche Rate an Lymphknotenmetastasen wie MIB-1 negative ( $\leq$ 30 % Kernfärbung) mit 12 % versus 11,9 %. Zu einem ähnlichen Ergebnis

kamen auch mehrere andere Autoren (4, 16, 22, 47, 100). Hiermit stimmt die vorliegende Studie überein. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen MIB-1 Index und Lymphknotenstatus konnte nicht festgestellt werden. Der mittlere MIB-1 Index der nodal positiven Patientinnen liegt sogar geringfügig unter dem der nodal negativen Frauen.

Auch die Frage nach einem Zusammenhang zwischen MIB-1 Index und FIGO Stadium bzw. Tumolvolumen muss hier negativ beantwortet werden. Ein Absinken des MIB-1 Index bei steigendem FIGO Stadium und somit zunehmendem Tumolvolumen (Korrelation vorhanden) konnte nicht nachgewiesen werden. Ausgangspunkt für diese Überlegungen war die Arbeit von Bar et al (5) welcher für die Mehrheit seiner Patientinnen im Tumorstadium 3 einen Ki-67 Index zwischen 5 % und 30 % ermittelte. Im Hinblick auf die Arbeit seines Kollegen Nakano (71), welcher bei seinen Zervixkarzinom Patientinnen im Stadium 1 einen durchschnittlichen Ki-67 Index von 69,6 % nachwies, vermutete er einen Abfall der Tumorstadiumsrate (nachweisbar durch einen absinkenden Ki-67 Index) bei steigendem Tumolvolumen (und somit auch bei zunehmendem FIGO Stadium). Die Ursache hierfür sah er in einer insuffizienter werdenden Blutversorgung. Diese Aussage lies sich jedoch von anderen Autoren nicht verifizieren, Chung et al, Cole et al sowie Ter Harmsel et al konnten keinen Zusammenhang zwischen FIGO Stadium und MIB-1 Index nachweisen (14, 16, 100).

Auch über eine mögliche Korrelation zwischen Differenzierungsgrad und MIB-1 Index gibt es in der Fachliteratur keinen Konsens. Während Chung et al (14) die höchsten Ki-67 Indices bei gering differenzierten Tumoren registrierten, fanden viele andere Autoren keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen MIB-1 Index und Differenzierungsgrad (4, 16, 22, 28, 111). Dieses Ergebnis kann bestätigt werden: auch in der vorliegenden Arbeit konnte keine Korrelation zwischen MIB-1 Index und Differenzierungsgrad des Tumors nachgewiesen werden. Die vermutete höhere proliferative Aktivität von G3 Tumoren hat sich hier also nicht bestätigt. Auch bezüglich der Parameter Invasionstiefe und Gefäßeinbrüche konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zum MIB-1 Index hergestellt werden.

Die von Garzetti et al (28) aufgestellte Hypothese, dass eine hohe proliferative Aktivität, messbar mittels MIB-1 Index, auf eine besonders aggressive Erkrankung hindeutet, kann bei fehlender Korrelation zwischen MIB-1 Index und potentiellen Risikofaktoren wie Invasionstiefe, Lymphknotenstatus oder Gefäßeinbrüche nicht bestätigt werden. Auch die ebenfalls geschilderte erhöhte Rezidivfrequenz bei hohen

MIB-1 Indices ließ sich nicht nachweisen. Der mittlere MIB-1 Index in der Rezidivgruppe lag sogar geringfügig unter dem Wert des MIB-1 Index der rezidivfreien Gruppe. Auch der in der Literatur mehrfach erwähnte Zusammenhang zwischen MIB-1 Index und 5-Jahres-Überlebensrate ließ sich nicht verifizieren. Entgegen meiner Erwartung war die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patientinnen mit hohem MIB-1 Index mit 87,5 % versus 78,4 % sogar größer als die der Patientinnen mit niedrigem MIB-1 Index, allerdings ohne erreichte statistische Signifikanz. Über die fehlende Korrelation zwischen 5-Jahres-Überlebensrate und MIB-1 Index berichten auch verschiedene andere Autoren. Eine Korrelation zwischen dem gehäuften Auftreten eines Rezidivs und dem MIB-1 Index wurde gleichfalls von vielen widerlegt (4, 16, 22, 47). Allerdings wird ein Zusammenhang von MIB-1 Index und Gesamtüberleben auch von mehreren Autoren befürwortet (41, 98). So beschreiben z.B. Ho et al bei 97 Patientinnen im Stadium 1B verbesserte 5- und 10-Jahres-Überlebensraten bei einem MIB-1 Markierungsindex von <55 % im Vergleich zu einem Index >55 %. In einer multivariablen Analyse erweist sich der MIB-1 Index hier zusammen mit Lymphknotenmetastasen und einer Tumorgröße >4 cm als aussagekräftiger Faktor für ein kürzeres Gesamtüberleben. Beachtenswert ist hier jedoch die fehlende Beziehung zwischen MIB-1 Index und anderen klinischen und histopathologischen Prognosefaktoren.

Zum Thema Lebensalter und Prognose beim Zervixkarzinom liegen umfangreiche Studien vor. So berichten Beral et al (7) über einen steigenden Anteil junger Zervixkarzinom-Patientinnen (<40 Jahre) in vielen Ländern, allen voran Großbritannien, Irland, Australien und Neuseeland. Ein ähnlicher Trend zeigt sich auch in dieser Studie; hier ist die Gruppe der unter vierzigjährigen mit 39 % am häufigsten vertreten. Nicht bestätigen lässt sich überraschender Weise das gehäufte Auftreten höherer FIGO Stadien bei zunehmendem Lebensalter. Diesbezüglich muss jedoch angemerkt werden, dass die Mehrheit des hier untersuchten Patientenkollektivs Frühstadien aufweist. So wurde nur bei einer Patientin das FIGO Stadium 3 diagnostiziert, Patientinnen im FIGO Stadium 4 konnten gar nicht berücksichtigt werden. Es ist zu vermuten, dass eine gleichmäßigere Stadienverteilung das Ergebnis beeinflusst hätte. Nachweisen ließ sich jedoch ein Trend der älteren Patientinnen hin zu größeren Tumervolumina und ausgeprägterer Stromainvasion. Die vergleichsweise höhere Anzahl an Rezidiven ist somit nicht verwunderlich. Obgleich hier keine statistische Signifikanz erreicht wurde, könnte die Tendenz des Auftretens von größeren

Tumoren bei den älteren Patientinnen auf die oft beschriebene unregelmäßige Teilnahme am Screeningprogramm hindeuten. Die Tendenz zu größeren Tumoren und gehäuftem Auftreten von Rezidiven spielt sicher auch bei dem kürzeren Gesamtüberleben (71,4 % gegenüber 90 % in der jüngeren Gruppe) eine wichtige Rolle. Allerdings wurde auch hier die statistische Signifikanz nicht erreicht ( $p = 0,058$ ). Klar verneint werden kann von mir die in der Literatur mehrfach beschriebene These, dass jugendliches Alter überdurchschnittlich oft mit einem aggressiveren Tumorverhalten und schlechterem Gesamtüberleben einhergeht. Neben dem bereits erwähnten besseren Gesamtüberleben der jüngeren Patientinnen konnte auch keine statistisch signifikante Korrelation zwischen jugendlichem Alter und Lymphknotenstatus oder Gefäßeinbrüchen hergestellt werden.

Zusammenfassend muss gesagt werden, dass zwischen Lebensalter der Patientinnen und Gesamtüberleben, sowie zwischen Lebensalter und den anderen klinischen und pathologischen Faktoren kein statistisch signifikanter Zusammenhang hergestellt werden kann. Tendenziell treten große Tumorumfänge, ausgeprägte Stromainvasion und Rezidive aber häufiger bei älteren Patientinnen auf.

Betrachtet man die 5-Jahres-Überlebensrate des Gesamtkollektivs, so liegt diese bei 82,4%. Dies ist ein durchaus positives Ergebnis, wenn man beachtet, dass die 5-Jahres-Überlebensraten für Frühstadien (bis Stadium 2A) in der Literatur mit 72 % bis 92 % angegeben werden (58, 66, 96). In dem von mir untersuchten Kollektiv befinden sich ja noch etliche Patientinnen im Stadium 2B sowie eine im Stadium 3. Wie erwartet ergaben sich mehrere signifikante Beziehungen zum FIGO Stadium. Besonders fällt hier die deutliche Zunahme an Lymphknotenmetastasen im Vergleich Stadium 1 zu 2 auf. In der Literatur werden 30 %-60% Lymphknotenmetastasen im Stadium 2B angegeben (89). Die von mir untersuchten Patientinnen weisen im Stadium 2B mit 50 % Lymphknotenmetastasen ein vergleichbares Ergebnis auf. Im Stadium 1B schneidet das Greifswalder Patientinnenkollektiv vergleichsweise gut ab. Nur 8,3% weisen Lymphknotenbeteiligung auf, während in der Literatur für das Stadium 1B 30%-40% angegeben werden. Ganz ähnlich verhält es sich mit dem Auftreten eines Rezidivs. Auch hier ist die Quote bei den von mir untersuchten Patientinnen im Stadium 1B mit 8,3 % vergleichsweise günstig. So berichten Larson et al (57) über 11 % Rezidive bei 249 primär operativ therapierten Patientinnen im Stadium 1B. Die von Look et al (61) untersuchten Patientinnen, ebenfalls im Stadium 1B, erleiden sogar zu 21,8 % ein Rezidiv. Die hier untersuchten Patientinnen im Stadium 2 sind davon zu 41,2 %

betroffen. Eine weitere statistisch signifikante Beziehung ergab sich zwischen FIGO Stadium und Tumolvolumen bzw. Invasionstiefe. Große Tumore bzw. ausgeprägte Invasionstiefen fanden sich vor allem in höheren FIGO Stadien. Dies trifft auch für Gefäßleinbrüche zu - hier allerdings ohne erreichte statistische Signifikanz.

Zusammenfassend lässt sich zwischen FIGO Stadium und allen das Gesamtüberleben beeinflussenden Faktoren, wie z.B. Lymphknotenbeteiligung, Auftreten eines Rezidivs oder Gefäßleinbrüche, eine zumindest enge Beziehung herstellen. Aufgrund der kleinen, inhomogenen Gruppen konnte für das FIGO Stadium keine Überlebenskurve erstellt werden.

Der vielleicht anerkannteste Prognosefaktor beim Zervixkarzinom überhaupt ist der Lymphknotenstatus (8, 73, 88, 92, 97, 102). So wird für das Stadium 1B ein Absinken der 5-Jahres-Überlebensrate von >90 % auf 40-50 % angegeben, wenn Lymphknotenbeteiligung vorliegt (8). Auch der Anzahl befallener Lymphknoten messen etliche Autoren Bedeutung bei.(45, 48, 73, 88, 92, 97). Tinga et al (102) berichten über eine Gesamtüberlebensrate im 5-jährigen Beobachtungszeitraum von 54 % bei Patientinnen mit Zervixkarzinom im FIGO Stadium 1B mit Lymphknotenmetastasen. Lag die Überlebensrate für Patientinnen mit einer Lymphknotenmetastase noch bei 84 %, so fiel sie beim Vorliegen mehrerer Lymphknotenmetastasen auf 24 % ab (102). Auch Inou et al (45) und Sevin et al (92) beschreiben eine Verschlechterung der Prognose bei mehr als zwei befallenen Lymphknoten.

Die hier geschilderten Ergebnisse kann ich bestätigen. Im von mir untersuchten Patientenkollektiv wiesen insgesamt 18,8 % der Frauen Lymphknotenmetastasen auf - eine vergleichsweise geringe Anzahl, wenn man die Stadienverteilung berücksichtigt. Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Patientinnen ohne Lymphknotenbefall lag bei 89,2 % und sank, vergleichbar mit Tinga et al (102), auf 53,9 % beim Vorliegen von Lymphknotenfiliae. Ebenfalls mit der Arbeit von Tinga et al (102) vergleichbar sind die Ergebnisse bezüglich der Anzahl befallener Lymphknoten. Liegt die Überlebensrate der Patientinnen mit nur ein bis zwei befallenen Lymphknoten mit 83,3 % nur knapp unter der der Patientinnen ohne Lymphknotenbefall, so kommt es zu einem deutlichen Abfall der Überlebenswahrscheinlichkeit der Patientinnen mit drei und mehr befallenen Lymphknoten (28,6 %). Das Ergebnis kann allerdings nur eine Tendenz aufzeigen, da aufgrund der kleinen Fallzahlen keine statistische Signifikanz erreicht wurde. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht jedoch zwischen dem

Lymphknotenstatus und dem Auftreten eines Rezidivs, sowie zwischen Lymphknotenstatus und Tumolvolumen bzw. Invasionstiefe. Bei großem Tumolvolumen und/oder ausgeprägter Invasionstiefe sind also häufiger Lymphknotenmetastasen nachweisbar. Auch die Wahrscheinlichkeit, ein Rezidiv zu erleiden erhöht sich beim Vorliegen von Lymphknotenmetastasen deutlich. Zusammenfassend kann hier die große prognostische Bedeutung des Lymphknotenstatus beim Zervixkarzinom nur bestätigt werden.

Ganz im Gegenteil dazu, wird das Auftreten von Gefäßeinbrüchen in prognostischer Hinsicht deutlich unterschiedlich beurteilt. Bei dem von mir untersuchten Patientenkollektiv wies mit 75,4 % ein relativ großer Anteil Gefäßeinbrüche auf. Von dieser Gruppe hatte die eine Hälfte isolierte Lymphgefäßeinbrüche und die andere Hälfte hatte Lymph- und Blutgefäßeinbrüche. Creasman et al (19) beschrieben in ihrer Literaturübersicht eine breite Spanne bezüglich des Auftretens von Lymphgefäßeinbrüchen, die hier von 17 %-85 % reichte. Auffällig bei dem von mir untersuchten Patientenkollektiv war eine signifikante Korrelation zwischen Gefäßeinbrüchen und Auftreten eines Rezidivs. So waren bei allen Patientinnen, welche ein Rezidiv erlitten, zumindest Lymphgefäßeinbrüche nachweisbar. Zwei Drittel der von einem Rezidiv betroffenen Frauen hatten zusätzlich noch Blutgefäßeinbrüche. Hier stimme ich mit anderen Autoren überein, die ebenfalls über ein erhöhtes Rezidivrisiko beim Vorliegen von Lymphgefäßeinbrüchen berichten (42, 92, 94, 113). Obgleich sich eine Tendenz zwischen dem Auftreten von Gefäßeinbrüchen und zunehmender Invasionstiefe abzeichnet, wurde keine statistische Signifikanz erreicht. Zu dem gleichen Ergebnis kamen auch Zaino et al (113). Als statistisch signifikant erwies sich jedoch das häufigere Auftreten von Gefäßeinbrüchen bei Patientinnen mit großem Tumolvolumen ( $>4000\text{mm}^3$ ). Hieraus ist zu folgern, dass dem hier nicht bestimmten Parameter Tumorgöße noch eine wichtige Rolle bezüglich des Auftretens von Gefäßeinbrüchen zukommt. Nicht bestätigen kann ich das von Roman et al (82) beschriebene erhöhte Risiko für den Befall von Beckenlymphknoten bei Gefäßeinbrüchen. Ein deutlicher, statistisch signifikanter Zusammenhang, ergab sich jedoch zwischen 5-Jahres-Überlebensrate und Gefäßeinbrüchen. Während die Patientinnen ohne Gefäßeinbrüche eine Überlebenswahrscheinlichkeit von 100 % aufwiesen, sank diese beim Auftreten von Lymph- Blutgefäßeinbrüchen auf 76,9 %. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch Sevin et al (92), sowie Ho et al (42). Auch hier kam es zu einer statistisch signifikanten Abnahme der 5-Jahres-Überlebensrate beim

Auftreten von Gefäßeinbrüchen. Zusammenfassend erwies sich der Parameter Gefäßeinbrüche in der vorliegenden Arbeit vor allem in Hinblick auf seine Korrelation mit erhöhtem Rezidivrisiko und verminderter 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit als prognostisch relevant. Dieses Ergebnis steht, wie bereits erwähnt, im Kontext mit oben genannten Autoren, aber auch im Widerspruch zu anderen Autoren, die Gefäßeinbrüche als Prognosekriterium ablehnen (96, 103).

Das Tumolvolumen des von mir untersuchten Patientenkollektivs wies mit  $7750\text{mm}^3$  einen relativ hohen Median auf. Die Mehrheit der Patientinnen (57 %) liegt über dem in der Literatur beschriebenen (89) „high risk“ Wert von  $>4000\text{mm}^3$ . Auffällig war in der „high risk“ Gruppe neben dem bereits beschriebenen gehäuften Auftreten von Gefäßeinbrüchen eine statistisch signifikant höhere Anzahl von Rezidiven im Vergleich zu den Patientinnen mit den geringeren Tumorumfängen ( $<4000\text{mm}^3$ ). Auch zum Lymphknotenstatus war eine Korrelation nachweisbar. Lymphknoten positive Patientinnen wiesen durchschnittlich statistisch signifikant höhere Tumorumfänge auf - ein Ergebnis, welches durch Trattner et al (104) und Sevin et al (92) bestätigt wird. So beschrieben diese z.B. eine Zunahme der Lymphknotenfilialisierung von 10,9 % auf 30,9 % bei steigendem Tumolvolumen (im Vergleich von den Volumina  $< 5000\text{mm}^3$  zu  $\geq 5000-20.000\text{mm}^3$ ). In Bezugnahme auf die 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit kam ich jedoch nicht zum gleichen Ergebnis wie Trattner et al (104). Zwar zeigte sich auch bei dem von mir untersuchten Patientenkollektiv ein verbessertes Gesamtüberleben in der Gruppe der Frauen mit kleineren ( $<4000\text{mm}^3$ ) Tumorumfängen (75,7% zu 89,5 %), aber das Ergebnis erreichte keine statistische Signifikanz.

Auch bei dem Parameter Invasionstiefe zeigte sich eine große Spannweite der Werte, welche zwischen 2mm und 45 mm lagen. Verglichen wurden zwei Gruppen ( $<15\text{mm}$  und  $\geq 15\text{mm}$ ), da in der Literatur eine Invasionstiefe ab 15mm als „high risk“ gewertet wurde (89). Ähnlich wie bei dem Parameter Tumolvolumen nahmen Lymphknotenbefall und Rezidivhäufigkeit bei steigender Tumorinvasion statistisch signifikant zu. Das ist ein Ergebnis, welches durch andere Autoren bestätigt wird (45, 92, 113). Eine ebenfalls statistisch signifikante Beziehung lies sich zum FIGO Stadium herstellen. Eine genauere Zuordnung wie bei Inou et al (45), wo die Mehrheit der 1B Stadien eine Invasionstiefe bis 10 mm aufwies, und die Mehrheit der 2B Stadien zwischen 10mm und 19mm lag, konnte jedoch nicht erstellt werden. Allerdings war die Zahl der von Inou et al (45) untersuchten Patientinnen mit 628 wesentlich höher als die des von mir untersuchten Patientinnenkollektivs. Bezüglich der 5-Jahres-Überlebensrate

zeigte sich zwar, wie vermutet, eine geringere Überlebenswahrscheinlichkeit bei den Patientinnen mit tiefer Invasion (75,7 % zu 88,9 %) gegenüber der Gruppe mit geringerer Invasion, aber das Ergebnis ist statistisch nicht signifikant. Abschließend lässt sich sagen, dass die Parameter Tumolvolumen und Invasionstiefe zwar keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben haben, aber in engem Zusammenhang mit prognostisch wichtigen Faktoren wie Lymphknotenstatus und Auftreten eines Rezidivs stehen.

Ein Parameter, welcher keinerlei statistisch signifikante Zusammenhänge aufwies - weder mit den anderen histopathologischen oder klinischen Faktoren, noch mit dem MIB-1 Index - ist der Differenzierungsgrad. Die Ergebnisse einiger Autoren, welche über eine höhere Anzahl an Rezidiven bei G3 Tumoren (8) oder über das vermehrte Auftreten von pelvinen und paraaortalen Lymphknotenmetastasen (73) berichten, können von mir nicht bestätigt werden. Auch die von Smiley et al (96) geschilderte verminderte 5-Jahres-Überlebensrate bei G3 Tumoren im Vergleich zu G1 und G2 Tumoren konnte ich nicht feststellen. Ein statistisch signifikanter Unterschied in der 5-Jahres-Überlebensrate konnte für den Faktor Differenzierungsgrad nicht ermittelt werden. Dies deckt sich mit vielen anderen Arbeiten, welche den Differenzierungsgrad beim Plattenepithelkarzinom der Zervix in prognostischer Hinsicht sehr kritisch beurteilen (55, 88, 92, 94, 95, 113). Während sich der Differenzierungsgrad bei anderen Karzinomen, wie z.B. beim Endometrium-Karzinom als wichtig, mitunter entscheidend erweist, scheint er beim Zervixkarzinom eher eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Bei dem von mir untersuchten Patientenkollektiv trat in 17,4 % der Fälle ein Rezidiv auf - das erste bereits drei Monate nach erfolgter Primärtherapie, das letzte nach 22 Monaten. Die mittlere Rezidivzeit lag bei 13,8 Monaten. Dies deckt sich mit Angaben in der Literatur. So berichten Kim et al (52) über 18 % Rezidive bei den von ihnen untersuchten 800 Patientinnen im FIGO Stadium 1B bis 2B. Das Auftreten eines Rezidivs ereignete sich zu 80 % innerhalb der ersten zwei Jahre (89). Die 5-Jahres-Überlebensrate nach Auftreten eines Rezidivs wurde mit 8,8 % (53), 10,1 % (110) oder 10 % (Lokalrezidiv) und 11 % (distales Lymphknoten-Rezidiv) (44) als extrem schlecht geschildert. Unter zytostatischer Therapie werden mittlere Überlebenszeiten von sieben bis zehn Monaten beschrieben (73). Die 5-Jahres-Überlebensrate bei den von mir untersuchten Patientinnen mit Rezidiv lag bei 0 %. Die letzte Patientin verstarb 19 Monate nach Diagnose eines Rezidivs. Mehrere Faktoren stehen mit dem Auftreten eines Rezidivs in Zusammenhang. An erster Stelle ist hier der Lymphknotenstatus zu

nennen. So weisen 50 % der Patientinnen mit einem Rezidiv Lymphknotenbeteiligung auf. Auch zum FIGO Stadium besteht eine deutliche Korrelation, denn Rezidive treten häufiger in höheren FIGO Stadien auf. Ferner weisen die Rezidiv Patientinnen durchschnittlich größere Tumorumfänge und ausgeprägtere Tumorerkrankung auf. Einen statistisch signifikanten Einfluss hat auch das Auftreten von Gefäßbrüchen. Patientinnen mit isoliertem Lymphgefäßbruch haben zu 7,7 % ein Rezidiv, bei Lymph- und Blutgefäßbrüchen sind es 30,8 %. Keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Auftreten eines Rezidivs hat neben dem Alter der Patientin und dem MIB-1 Index, der Differenzierungsgrad des Tumors. Von besonderem Interesse ist auch die Frage, inwiefern sich eine postoperative Therapie bei Hochrisikopatientinnen günstig auf das Auftreten eines Rezidivs bzw. das 5-Jahres-Gesamtüberleben auswirkt. Bei den Greifswalder Patientinnen wurde beim Vorliegen von Lymphknotenmetastasen, Lymph- und Blutgefäßbrüchen, sowie bei großem Tumorumfang (>4000mm<sup>3</sup>) und, zumindest auch wenn es in Kombination mit anderen ungünstigen Faktoren vorlag, bei G3 Tumoren eine postoperative Therapie durchgeführt. Die Art der Therapie war unterschiedlich. Während die Patientinnen 1991 alle eine postoperative Strahlentherapie, eine Kombination aus Brachytherapie und perkutaner Strahlentherapie, erhielten, stand von 1992-1998 die Chemotherapie (Carboplatin und Ifosfamid) im Vordergrund. Trotz bestehendem Risikoprofil konnte jedoch bei fünf Patientinnen keine postoperative Therapie durchgeführt werden. Die Gründe waren mangelnde Compliance bzw. ein reduzierter Allgemeinzustand. Weder bezüglich des Auftretens eines Rezidivs, noch im Hinblick auf das Gesamtüberleben unterschieden sich die Gruppen statistisch signifikant. Die Gruppe mit erfolgter postoperativer Therapie wies mit 84,3 % sogar eine geringfügig bessere Überlebensrate auf, als die Gruppe ohne postoperative Therapie. Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass letzterer Gruppe auch die fünf Patientinnen zugeordnet werden mussten, die vom Risikoprofil her eigentlich einer weiteren Therapie bedurft hätten. Zu einem vergleichbaren Ergebnis kommen Rhu et al (85), welche die Effizienz einer postoperativen Therapie bei 151 „high risk“ und „low risk“ Patientinnen im FIGO Stadium 1A2-2A untersuchten. Die 5-Jahres-Überlebenszeit unterschied sich mit 96,7 % und 97,7 % nicht statistisch signifikant. Bei der postoperativen Therapie handelte es sich in allen Fällen um eine Kombination aus Strahlen und Chemotherapie. Dieses Ergebnis demonstriert den hohen Stellenwert einer postoperativen Therapie bei Hochrisikopatientinnen - nach neueren Forschungsergebnissen ist hier eine simultane

Radiochemotherapie am erfolgversprechensten - nach der die „high risk“ Patientinnen ähnlich günstige 5-Jahres-Überlebensraten erreichen wie die „low risk“ Patientinnen.

Zusammenfassend muss gesagt werden, dass der Proliferationsmarker MIB-1 in Bezug auf das Zervixkarzinom die hohen Erwartungen, die in ihn gesetzt wurden, nicht erfüllt hat. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen 5-Jahres-Überlebensrate und MIB-1 Index konnte ebenso wenig nachgewiesen werden, wie zwischen MIB-1 Index und den genannten klinischen und histopathologischen Faktoren. Im Gegensatz zu anderen Tumoren, wie z.B. beim Mammakarzinom, wo sich MIB-1 längst als Prognosefaktor etabliert hat, konnte die prognostische Relevanz beim Zervixkarzinom nicht nachgewiesen werden. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommen auch eine Reihe anderer Autoren (4, 16, 22, 75). So konnten Oka et al bei 186 Patientinnen mit einem Zervixkarzinom im Stadium 3 keine prognostischen Unterschiede zwischen Patientinnen mit hohem (>43) und Patientinnen mit niedrigem (<43) MIB-1 Index finden(75). Als Grund vermuteten sie eine große Streubreite des MIB-1 Markierungsindex bei Zervixkarzinom Patientinnen, welche auch schon in einer vorangegangenen Untersuchung aufgefallen war. Hier wurden vier Proliferationsmarker (MIB-1, PC10, 19A2; zytoplasmatischer p105 Index) und der Mitose Index bei 194 Patientinnen mit Zervixkarzinom im Stadium 3 verglichen. Eine Korrelation der Marker untereinander konnte nicht nachgewiesen werden. Zudem zeigte sich eine große Streubreite im MIB-1 Index des untersuchten Patientenkollektivs (74). Interessant ist in diesem Zusammenhang auch die Arbeit von Dellas et al (22). Hier wurde unter anderem ein Vergleich der MIB-1 Markierungsindices von normalem Epithel, high grade CIN, low grade CIN und invasiven Plattenepithelkarzinomen der Zervix erstellt. Wie erwartet ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen normalem Epithel, high grade CIN sowie low grade CIN. Die höchsten Indices waren in high grade CIN zu finden, die niedrigsten im normalen Epithel; low grade CIN lagen dazwischen. Eine weitere Zunahme des MIB-1 Index beim invasiven Karzinom, wie folgerichtig zu vermuten wäre, konnte jedoch nicht festgestellt werden. Das Gegenteil war der Fall, die Werte lagen unter denen der high grade CIN. Das invasive Plattenepithelkarzinom der Zervix scheint hier also eine Sonderrolle einzunehmen. Warum sich die CIN jedoch gut in niedrig- oder hochmaligne einteilen lassen mittels des MIB-1 Index, während der MIB-1 Index beim invasiven Karzinom (unabhängig von Aggressivität und Prognose der Erkrankung) relativ willkürlich vorzuliegen scheint, kann hier nicht geklärt werden. Die vorliegende Arbeit zeigt jedoch, dass der Proliferationsmarker MIB-1 beim

Plattenepitelkarzinom der Zervix keine prognostische Relevanz hat. Während der Einsatz von MIB-1 z.B. zur Differenzierung benigne/ maligne Zervixläsion in schwierigen Fällen seine Berechtigung hat, bringt seine Bestimmung beim invasiven Plattenepitelkarzinom der Zervix keine Vorteile.

### **Zusammenfassung und Schlussfolgerungen**

In den letzten zwanzig Jahren wurde der Proliferationsmarker MIB-1 bei verschiedenen humanen Tumoren eingesetzt (32, 33, 49, 89, 99, 107). Bei einigen, wie z.B. dem Mammakarzinom oder dem Prostatakarzinom konnte die prognostische Relevanz des Markers nachgewiesen werden (46, 59, 81, 106). Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die prognostische Relevanz des monoklonalen Antikörpers MIB-1 beim Zervixkarzinom zu untersuchen. Ferner sollte ermittelt werden, ob das Alter der Patientin zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, der Differenzierungsgrad, das Volumen und die Invasionstiefe des Tumors sowie das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen und/ oder Lymph- und Blutgefäßeinbrüche einen Einfluss auf die 5-Jahres-Überlebensrate haben.

An den formalinfixierten und in Paraffin eingebetteten Präparaten von 69 Patientinnen, welche sich in den Jahren 1991 bis 1998 aufgrund eines Zervixkarzinoms in der Universitätsfrauenklinik Greifswald behandeln ließen, wurden die immunhistochemischen Untersuchungen durchgeführt. Diese erfolgten am Pathologischen Institut Greifswald durch die dort angestellten MTA mittels der APAAP-Methode. Am computergestützten Mikroskoparbeitsplatz wurde der MIB-1 Index bestimmt, indem für jedes Präparat eintausend Zellen ausgezählt, und davon der Anteil der MIB-1 positiven Zellen ermittelt wurde. Dieser wurde nun zu verschiedenen klinischen und histopathologischen Faktoren in Beziehung gesetzt. Zusammenfassend zeigt sich, dass der MIB-1 Index beim Zervixkarzinom in keinem statistisch signifikanten Zusammenhang steht mit der 5-Jahres-Überlebensrate, dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen oder eines Rezidivs, dem Alter der Patientin, dem FIGO-Stadium, dem Tumolvolumen, der Invasionstiefe, Gefäßeinbrüchen oder dem Differenzierungsgrad. Vielmehr scheint der Anteil der MIB-1 positiven Zellen relativ willkürlich vorzuliegen. Die Erwartungen, mit MIB-1 einen Marker gefunden zu haben, welcher Auskunft über die Progressionsneigung bzw. das metastatische Potential gibt, haben sich in Bezug auf das Plattenepithelkarzinom der Zervix nicht erfüllt.

Bezüglich der prognostischen Relevanz der klinischen und histopathologischen Faktoren konnte ein statistisch signifikanter Einfluss auf die 5-Jahres-Überlebensrate lediglich für die Faktoren Lymphknotenmetastasen sowie Gefäßeinbrüche nachgewiesen werden. Ohne signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben, aber in engem Zusammenhang stehend mit prognostisch wichtigen Faktoren wie Auftreten eines Rezidivs, Lymphknotenbefall oder Gefäßeinbruch, stehen das Tumolvolumen und die Invasionstiefe. Auch das FIGO Stadium korreliert mit dem Auftreten eines Rezidivs und von Lymphknotenmetastasen. Keine statistisch signifikante Beziehung, weder zum Gesamtüberleben noch zu anderen prognostisch wichtigen Faktoren, wiesen Patientenalter und Differenzierungsgrad auf. Die postoperative Therapie bei Risikopatientinnen erweist sich als bedeutsam für die Prognose. Die Überlebenskurven der Patientinnen mit postoperativer Therapie weichen nicht statistisch signifikant von denen ohne postoperative Therapie ab.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Al Saleh W: Assessment of Ki-67 antigen immunostaining in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix, *Anat Pathol* 104 (1995), H 2, S. 154-160.
2. Arends MJ, Buckley CH, Wells M: Ätiology, pathogenesis and pathology of cervical neoplasia, *J Clin Pathol* 51 (1998), S. 96-103.
3. Arrossi S, Sankaranarayanan R, Parkin DM: Incidence and mortality of cervical cancer in Latin America, *Salud Publica Mex.* 45 (2003), Suppl 3, S. 306-314.
4. Avall-Lundquist EH, Silfversward C, Aspenblad U, Nilsson BR, Auer GU: The impact of tumour angiogenesis, p53 overexpression and proliferative activity (MIB-1) on survival in squamous cervical carcinoma, *Eur J Cancer* 33 (1997), H 11, S. 1799-1804.
5. Bar JK, Harlozinska A, Markowska J, Nowak M: Studies on tumour proliferation using monoclonal antibody Ki-67 and expression of p53 in cancer of the uterine cervix, *Eur J Gynecol Oncol* 17 (1996), S. 378-380.
6. Bekkers RLM, Massuger LFAG, Bulten J, Melchers WJG: Epidemiological and clinical aspects of human papilloma-virus detection in the prevention of cervical cancer, *Rev Med Virol* 14 (2004), S. 95-105.
7. Beral V, Hermon C, Munoz N, Devesa SS: Cervical cancer, *Cancer Surv.* 19-20 (1994), S. 265-85.
8. Berman M, Bergen S, Salozan H: Influence of histological features and treatment on the prognosis of patients with cervical cancer metastatic to pelvic lymph nodes, *Gynecol oncol* 39 (1990), S. 127-131.

9. Brewster WR, Di Saia DJ, Monk BJ, Ziogas A, Yamada SD, Anton C: Young age as a prognostic factor in cervical cancer: results of a population based-study, *Am J Obstet Gynecol* 180 (1999), H 6 Pt 1, S. 1464-1467.
10. Brinton LA, Hoover RN: Epidemiology of gynecologic cancers, in: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC (Hg.), *Principles and practice of gynecologic oncology*, 3. edition, Lippincott Williams & Wilkins 2000, S. 3-26.
11. Brun JL, Stoven-Camou D, Trouette R, Lopez M, Chene G, Hocke C: Survival and prognosis of women with invasive cervical cancer according to age, *Gynecol Oncol* 91 (2003), H 2, S. 395-401.
12. Cattoretti G, Becker MH, Key G, Duchrow M, Schlüter C, Galle J, Gerdes J: Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave- processed formalin-fixed paraffin sections, *J Pathol* 168 (1992), S. 357-363.
13. Chapman GW: Survival of advanced aged females with cervical carcinoma, *Gynecol Oncol* 46 (1992), S. 287-291.
14. Chung TKH, Cheung TH, Wong FWS, Wong YF: Ki-67 and AgNORs staining in squamous cell carcinoma of the cervix: a comparison, *Gynecol Obstet Invest* 37 (1994), S. 127-129.
15. Cina SJ, Richardson MS, Austin RM, Kurman RJ: Immunohistochemical staining for Ki-67 antigen, carcino-embryonic antigen and p53 in the differential diagnosis of glandular lesions of the cervix, *Mod Pathol* 10 (1997), H 3, S. 176-180.
16. Cole D, Brown CD, Crossley E, Alcock CJ, Gatter KC: Carcinoma of the cervix uteri :an assessment of the relationship of tumour proliferation to prognosis, *Br J Cancer* 65 (1992), H 5, S. 783-785.

17. Comerci G, Bolger BS, Flannelly G, Maini M, de Barros L, Lopez A, Monaghan JM: Prognostic factors in surgically treated stage 1B-2B carcinoma of the cervix with negative lymph nodes, *Int J Gynecol Cancer* 8 (1998), H 1, S. 23-26.
18. Cordell J, Falini B, Erber WN, Ghosh AK, Abdulaziz Z, Mac Donalds S, Pulford KA, Stein H, Mason DY: Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies, using immune complexes of alkaline Phosphatase and monoclonal anti-alkaline Phosphatase (APAAP complexes), *J Histochem Cytochem* (1984), S. 219-229.
19. Creasman WT, Kohler MF: Is lymph vascular space involvement an independent prognostic factor in early cervical cancer? *Gynecol Oncol* 92 (2004), H 2, S. 525-529.
20. Deavers MT, Malpica A, Silva EG: Immunohistochemistry in gynecological pathology, *Int J Gynecol Cancer* 13 (2003), S. 567-579.
21. Delaloye JF, Pampallona S, Coucke PA, De Grandi P: Younger age as a bad prognostic factor in patients with carcinoma of the cervix, *Eur J Obstet Reprod Biol* 64 (1996), H 2, S. 201-205.
22. Dellas A, Schultheiss E, Almendral AC, Gudat F, Oberholzer M, Feichter G, Moch H, Torhorst J: Altered expression of mdm-2 and it's association with p53 protein status , tumor cell proliferation rate and prognosis in cervical neoplasia. *Int J Cancer* 74 (1997), S. 421-425
23. de Rijke JM, van der Putten HW, Lutgens LC, Voogd AC, Kruitwag, van Dijk JA, Schouten LJ: Age-specific differences in treatment and survival of patients with cervical cancer in the southeast of the netherlands, 1986-1996, *Eur J Cancer* 38 (2002), H 15, S. 2041-2047.
24. Einstein MH, Goldberg GL: Human papillomavirus and cervical neoplasia, *Cancer Invest* 20 (2002), S. 1080-1085.

25. Elling D, Dzikonski M, Götze W, Morack G: Das Zervixkarzinom - Früherkennung, Springer Verlag 1991, S. 11-24.
26. Fischer U, Raptis G, Geßner W, Roschlau U, Dressel K, Bilek K, Horn LC: Epidemiologie und formale Pathogenese des Zervixkarzinoms, Zentralblatt für Gynäkologie 123 (2001), S. 198-205.
27. Franco EL, Schlecht NF, Saslow D: The epidemiology of cervical cancer, Cancer J 9 (2003), H 5, S. 348-59.
28. Garzetti GG, Ciavattini A, Lucarini G, Goteri G, de Nictolis M, Muzzioli M , Fabris N, Romanini C, Biagini G: MIB-1 immunostaining in stage 1 squamous cervical carcinoma in relationship with natural killer cell activity, Gynecol Oncol 58 (1995), H 1, S. 28-33.
29. Garzetti GG, Ciavattini A, Lucarini G, Goteri G, De Nictolis M, Biagini G: MIB-1 immunostaining in cervical carcinoma of young Patients, Gynecol Oncol 67 (1997), H 2, S. 184-187.
30. Gerdes J, Schwab U, Lembke H, Stein H: Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation, Int J Cancer 31 (1983), S. 13-20.
31. Gerdes J, Lembke H, Baisch H, Wacker H-H, Schwab U, Stein H: Cell cycle analysis of a cell proliferation associated nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67, J Immunol 133 (1984), S. 1710-1715
32. Gerdes J, Dallenbach F, Lennert K, Lembke H, Stein H: Growth fractions in malignant non-Hodgkin's lymphomas (NHL) as determined in situ with the monoclonal antibody Ki-67, Hemato Oncol 2 (1984), H 4, S. 365-371.
33. Gerdes J, Lelle RJ, Pickartz H, Heidenreich W, Schwarting R, Kurtsiefer L, Stauch G, Stein H: Growth fractions in breast cancer determined in situ with the monoclonal antibody Ki-67, J Clin Pathol 39 (1986), S. 977-980.

34. Gerdes J: Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in malignancies, *Semin Cancer Biol* 1 (1990), H 3, S. 199-206.
35. Gerdes J, Li L, Schlüter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C, Stahmer I, Kloth S, Brandt E, Flad H-D: Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67, *Am J Pathol* 138 (1991), S. 867-873.
36. Gerdes J, Becker MH, Key G, Cattoretti G: Immunohistological detection of tumour growth fraction (Ki-67 antigen) in formalin-fixed and routinely processed tissues, *J Pathol* 168 (1992), S. 85-87.
37. Graf A und Ortseifen C: *Statistische und grafische Datenanalyse mit SAS*, Spektrum akademischer Verlauf 1995.
38. Graflund M, Sorbe B, Bryne M, Karlsson M: The prognostic value of a histologic grading system, DNS profile, and MIB-1 expression in early stages of cervical squamous cell carcinomas, *Int J Gynecol Cancer* 12 (2002), H 2, S. 149-157.
39. Harrison TA, Sevin BE, Koechli PD, Hoa N, Nguyen MD, Averette HE, Penalver M, Daniel M, Nadji D, Nadji M: Adenosquamous carcinoma of the cervix: prognosis in early stage disease treated by radical hysterectomy, *Gynecol Oncol* 50 (1993), H 3, S. 310-315.
40. Helm CW: Radical surgery for stage 1B adenosquamous carcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix: a matched study of outcome (abstract), *Gynecol Oncol* 52 (1994), S. 140.
41. Ho DM, Hsu CY, Chiang H: MIB-1 labeling index as a prognostic indicator for survival in patients with FIGO stage 1B squamous cell carcinoma of the cervix, *Gynecol Oncol* 76 (2000), H 1, S. 97-102.

42. Ho CM, Chien TY, Huang SH, Wu CJ, Shih BY, Chang SH: Multivariate analysis of the prognostic factors and outcomes early cervical cancer patients undergoing radical hysterectomy, *Gynecol Oncol* 93 (2004), H 2, S. 458-464.
43. Hoeven KH, Ramondetta L, Kovatich AJ, Bibbo M, Dunton CJ: Quantitative image analysis of MIB-1 reactivity in inflammatory, hyperplastic and neoplastic endocervical lesions, *Int J Gynecol Pathol* 16 (1997), S. 15-21.
44. Hong JH, Tsai CS, Lai CH, Chang TC, Wang CC, Chou HH, Lee SP, Hsueh S: Recurrent squamous cell carcinoma of cervix after definitive radiotherapy, *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 60 (2004), H 1, S. 249-257.
45. Inoue T: Prognostic significance of the depth of invasion relating to nodal metastases, parametrial extension, and cell types, *Cancer* 54 (1984), S. 3035-3042.
46. Jansen RL, Hupperets PS, Arends JW, Joosten-Achjanie SR, Volovics A, Schouten HC, Hillen HF: MIB-1 labelling index is an independent prognostic marker in primary breast cancer, *Br J Cancer* 78 (1998), S. 460-465.
47. Kamer SA, Yalman D, Özer E, Sayhan S, Hanhan M, Özsaran H, Haydaroglu A: Changes of Ki-67 index in squamous cell carcinoma of the cervix during the early course of radiotherapy and prediction of prognosis, *Eur J Gynecol Oncol* 23 (2002), S. 287-292.
48. Kamura T, Tsukamoto N, Tsuruchi N, Saito T, Matsuyama T, Akazawa K, Nakano H: Multivariate analysis of the histopathological prognostic factors of cervical cancers in patients undergoing radical hysterectomy, *Cancer* 69 (1992), S. 181-186.
49. Katoh R, Bray CE, Suzuki K, Komiyama A, Hemmi A, Kawaoi A, Oyama T, Sugai T, Sasou S: Growth activity in hyperplastic and neoplastic thyroid

- determined by an immunohistochemical staining procedure using monoclonal anti-body MIB-1, *Human Pathology* 26 (1995), S. 139-146.
50. Key G, Becker MH, Baron B, Duchrow M, Schluter C, Flad DH, Gerdes J: New Ki-67 equivalent murine monoclonal antibodies (MIB 1-3) generated against bacterially expressed parts of the Ki-67 cDNA containing three base pair repetitive elements encoding for the Ki-67 epitope, *Lab Invest* 68 (1993), S. 629-636.
  51. Keys MH, Bundy BN, Stehman FB, Laila MD, Muderspach MD, Weldon E, Suggs CL, Walker JL, Gersell D: Cisplatin, radiation and adjuvant hysterectomy compared with radiation and adjuvant hysterectomy for bulky stage 1B cervical carcinoma, *N Engl J Med* 340 (1999), S. 1154-1161.
  52. Kim JH, Kim HJ, Hong S, Wu HG, Ha SW: Post-hysterectomy radiotherapy in FIGO stage IB – IIB uterine cervical carcinoma, *Gynecol Oncol* 96 (2005), H 2, S. 407-414.
  53. Kimmig R, Kürzel R, Höß C, Landsmann H: Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge beim Zervixkarzinom, Tumorzentrum München 1999.
  54. Köhler G, Weise J, Breitsprecher R, Nehmzow M, Schwesinger G: Neoadjuvant chemotherapy and brachytherapy – a new perspective in the therapy of advanced cervical carcinoma, *Onkologie* 21 (1998), H 2, S. 19-22.
  55. Kühn W, Pickartz H: Tumoren der Zervix uteri, in: Schneider J und Weitzel H (Hg.), *Klinische Pathologie des weiblichen Genitale*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2001, S. 162-172.
  56. Landoni F, Manco A, Colombo A, Placa F, Milani R, Perego P, Favini G, Ferri L, Mangioni C: Randomised study of radical surgery versus radiotherapy for stage 1B-2A cervical cancer, *The Lancet* 350 (1997), S. 535-540.

57. Larson DM, Copeland LJ, Stringer CA, Gershenson DM, Malone IM, Edwards CL: Recurrent cervical carcinoma after radical hysterectomy , *Gynecol Oncol* 30 (1988) , H 3, S 381-387.
58. Lee YN, Wang KL, Lin MH, Liu CH Wang KG, Lan CC, Chuang JT, Chen AC, Wu CC: Radical hysterectomy with pelvic lymph node dissection for treatment of cervical cancer: a clinical review of 954 cases, *Gynecol Oncol* 32 (1989), H 2, S. 135-142.
59. Li R, Heydon K, Hammond ME, Grignon DJ, Roach M, Wolkov HB, Sandler HM, Shipley WU, Pollack A: Ki-67 staining index predicts distant metastasis and survival in locally advanced prostate cancer treated with radiotherapy: An analysis of patients in radiation therapy oncology group protocol 86-10, *Clin Cancer Res* 10 (2004), H 12 Pt 1, S. 4118-4124.
60. Look KY, Rocereto TF: Relapse patterns in FIGO stage 1B carcinoma of the cervix, *Gynecol Oncol* 38 (1990), H 1, S. 114-120.
61. Look KY, Brunetto VL, Clarke-Pearson DL, Averette HE, Major FJ, Alvarez RD, Homesley HD, Zaino RJ: An analysis of cell type in patients with surgically staged stage 1B carcinoma of the cervix: A Gynecologic Oncology Group Study, *Gynecol Oncol* 63 (1996), S. 304-311.
62. Mc Cluggage WG: Monoclonal antibody MIB-1 in the assessment of cervical squamous intraepithelial lesions, *Int J Gynecol Pathol* 15 (1996), S. 131-136.
63. Memarzadeh S, Natarajan S, Dandade DP, Ostrzega N, Saber PA, Busuttil A , Lentz SE, Berek JS: Lymphovascular and perineural invasion in the parametria: prognostic factor for early stage cervical cancer, *Obstet Gynecol* 102 (2003), H 3, S. 612-619.
64. Mittal K: Utility of proliferation-associated marker MIB-1 in evaluating lesions of the uterine cervix, *Adv Anat Pathol* 6 (1999), H 4, S. 177-185.

65. Mittal K, Mesia A, Demopoulos RL: MIB-1 expression is useful in distinguishing dysplasia from atrophy in elderly women, *Int J Gynecol Pathol* 18 (1999), S. 122-124.
66. Morley GW, Seski JC: Radical pelvic surgery versus radiation therapy for stage I carcinoma of the cervix (exclusive of microinvasion), *Am J Obstet Gynecol* 126 (1976), H 7, S. 785-798.
67. Morris M, Eifel PJ, Lu J, Grigsby PW, Levenback C, Stevens RE, Rotman M, Gershenson DM, Mutch DJ: Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high risk cervical cancer, *N Engl J Med* 340 (1999), S. 1137-1143.
68. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ: Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer, *N Engl J Med* 348 (2003), H 6, S. 518-527.
69. Munstedt K, von Georgi R, Franke FE: Correlation between MIB-1 determined tumor growth fraction and incidence of tumor recurrence in early ovarian carcinomas, *Cancer Invest* 22 (2004), H 2, S. 185-194.
70. Nakano T, Oka K: Transition of Ki-67 index of uterine cervical tumors during radiation therapy, *Cancer* 68 (1991), S. 517-523.
71. Nakano T, Oka K: Differential values of Ki-67 index and mitotic index of proliferating cell population. An assessment of cell cycle and prognosis in radiation therapy for cervical cancer, *Cancer* 15 (1993), H 8, S. 2401-2408.
72. Newton M: Radical hysterectomy or radiotherapy for stage 1 cervical cancer. A prospective comparison with 5 and 10 years follow-up, *Am J Obstet Gynecol* 123 (1975), H 5, S. 535-542.

73. Oettling G, Kreienberg: Cervix uteri, in: Kaufmann/ Costa/ Scharl (Hg.), Die Gynäkologie, Springer Verlag 2002, S. 369-397.
74. Oka K, Nakano T, Arai T: Expression of proliferation-associated antigen in cervical carcinoma: correlations among indexes, Pathol Res Pract 191 (1995), H 10, S. 997-1003.
75. Oka K, Arai T: MIB-1 growth fraction is not related to prognosis in cervical squamous cell carcinoma treated with radio therapy, Int J Gynecol Pathol 15 (1996), H 1, S. 23-27.
76. Padovan P, Salmaso R, Padovan R: Prognostic value of bcl-2, p53 and Ki-67 in invasive squamous carcinoma of the uterine cervix, Eur J Gynec Oncol 21 (2000), H 3, S.267-272
77. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J: Global cancer statistics, Ca cancer J Clin 49 (1999), S. 33-64.
78. Pecorelli S, Odicino F: Cervical cancer staging, The Cancer Journal 9 (2003), S. 390-394.
79. Peters WA, Liu PY, Barrett RJ, Stock RJ, Monk BJ, Berek JS, Souhami L, Grigsby P, Gordon W, Alberts DS: Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high risk early-stage cancer of the cervix, J Clin Oncol 18 (2000), S. 1606-1613.
80. Piver MS, Marchetti DL, Patton T, Halpern J, Blumenson L, Driscoll DL: Radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy versus radiation therapy for small (less than or equal to 3 cm) stage 1B cervical carcinoma, Am J Clin Oncol 11 (1988), H 1, S. 21-24.
81. Pollack A, DeSilvio M, Khor LY, Li R, Al-Saleem TI, Hammond ME, Venkatesan V, Lawton CA, Roach M, Shipley WU, Hanks GE, Sandler HM: Ki-

- 67 is a strong predictor of distant metastasis and mortality for men with prostate cancer treated with radiotherapy plus androgen deprivation: Radiation Therapy Oncology Group Trial 92-02, *J Clin Oncol* 22 (2004), H 11, S. 2133-2140.
82. Roman L, Felix JC, Muderspach LI, Varkey T, Burnett AF, Qian D, Morrow CP: Influence of quantity of lymph-vascular space invasion on the risk of nodal metastases in women with early stage squamous cancer, *Gynecol Oncol* 68 (1998), S. 220-225.
83. Rose PG: Stage 2B –4A cancer of the cervix, *The Cancer Journal* 9 (2003), S. 404-414.
84. Rutledge FN, Mitchell MF, Munsell M, Bass S, Mc Guffee V, Atkinson: Youth as a prognostic factor in carcinoma of the cervix: a matched analysis, *Gynecol Oncol* 44 (1992), H 2, S. 123-130.
85. Ryu HS, Chun M, Chang KH, Chang HJ, Lee JP: Postoperative adjuvant concurrent chemoradiotherapy improves survival rates for high risk, early stage cervical cancer patients, *Gynecol Oncol* 96 (2005), H 2, S. 490-495.
86. Schauer A, Marx D, Kuhn W, Meden H, et al: Immunohistochemische Tumordiagnostik in der Gynäkologie, in: Günther Kindermann und Björn Lampe (Hg.), *Immunohistochemische Diagnostik gynäkologischer Tumoren*, Thieme Verlag 1992, S. 41-83.
87. Schenck U, von Karsa L: Cervical cancer screening in Germany, *Eur J Cancer* 36 (2000), H 17, S. 2221-2226.
88. Schilder J, Stehman FB: Stage 1A-2A cancer of the cervix, *The cancer Journal* 9 (2003), S. 395-403.
89. Schmidt-Matthiesen H, Bastert G, Wallwiener D: *Gynäkologische Onkologie, Diagnostik, Therapie und Nachsorge der bösartigen Genitaltumoren und des Mammakarzinoms*, 6. Auflage, Schattauer Verlag 2000.

90. Scholzen T, Gerdes J: The Ki-67 protein: From the known and the unknown, *J Cell Physiol* 182 (2000), S. 311-322.
91. Serur E, Fruchter RG, Maiman M, Mc Guire J, Arrastia CD, Gibbon: Age, substance abus, and survival of patients with cervical carcinoma, *Cancer* 75 (1995), H 10, S. 2530-2538.
92. Sevin BU, Nadji M, Lampe B, Lu Y, Hilsenbeck S, Koechli OR, Averette HE: Prognostic factors of early stage cervical cancer treated by radical hysterectomy, *Cancer* 76 (1995), Suppl. 10, S. 1978-1986.
93. Shi S-R, Key ME, Kalra KL: Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections, *J Histochem Cytochem* 39 (1991), S. 741-748.
94. Silberberg SG, Ioffe OB: Pathology of cervical cancer, *The Cancer Journal* 9 (2003), S. 335-347.
95. Silva-Filho AL, Reis FM, Traiman P, Pedrosa MS, Miranda D, Triginelli SA: Clinicopathological features influencing pelvic lymph node metastasis and vaginal and parametrial involvement in patients with carcinoma of the cervix, *Gynecol Obstet Invest* 59 (2004), H 2, S. 92-96.
96. Smiley LM, Burke TW, Silva EG, Morris M, Gershenson DJ, Wharton JT: Prognostic factors in stage 1B squamous cervical cancer patients with low risk for recurrence, *Obstet Gynecol* 77 (1991), S. 271-275.
97. Stehman FB, Perez CA, Kurman RJ, Thigpen JT: Uterine cervix, in: Hoskins WJ, Perez CA, Young RC (Hg.), *Principles and practice of gynecologic oncology*, 3. edition, Lippincott Williams & Wilkins 2000, S. 841-918.

98. Suzuki M, Tsukagoshi S, Saga Y, Ohwada M, Sato I: Assessment of proliferation index with MIB-1 as prognostic factor in radiation therapy for cervical cancer, *Gynecol Oncol* 79 (2000), H 29, S. 300-304.
99. Takahashi JA, Ureba T, Hashimoto N, Nakashima Y, Katsuki N: The combination of mitotic and Ki-67 indices as a useful method predicting short term recurrence of meningiomas, *Surg Neurol* 61 (2004), H 2, S. 149-155.
100. Ter Harmsel , van Muyden R, Smedts F, Hermans J, Kuijpers J, Raikhlins N, Petrov S, Lebedevs A, Ramaekers F, Trimlos B: the significance of cell type and tumor growths markers in the prognosis of unscreened cervical cancer patients, *Int J Gynecol Cancer* 8 (1998), S.336-344.
101. Thigpen T: The role of chemotherapy in the management of carcinoma of the cervix, *The Cancer Journal* 9 (2003), S. 425-432.
102. Tinga DJ, Timmer PR, Bouma J, Aalders JG: Prognostic significance of singel versus multipel lymphnode metastases in cervical carcinoma stage 1B, *Gynecol Oncol* 39 (1990), S. 175-180.
103. Tinga DJ, Bouma J, Aalders JG: Patients with squamous cell versus adeno (squamous) carcinoma of the cervix, what factors determine the prognosis, *Int J Gynecol Cancer* 2 (1992), S. 83-91.
104. Trattner M, Anton H, Lax S, Forstner R, Dandachi N, Haas J, Pickel H, Reich O, Staudach A, Winter R: Prognostic factors in surgically treated 1B-2b cervical carcinomas with special emphasis on the importance of tumor volume, *Gynecol Oncol* 82 (2001), S. 11-16.
105. Uno T, Ito H, Isobe K, Kaneyasu Y, Tanaka N, Mitsuhashi A, Suzuka K, Yamazawa K, Shigematsu N, Itami I: Postoperative pelvic radiotherapy for cervical patients with positive parametrial invasion, *Gynecol Oncol* 96 (2005), H 2, S. 335-340.

106. van Diest PJ, van der Wall E, Baak JP: Prognostic value of proliferation in invasive breast cancer: a review, *J Clin Pathol* 57 (2004), H 7, S. 675-681.
107. Viberti L, Papotti M, Abbona GC, Celano A, Filosso PL, Bussolati G: Value of Ki-67 immunostaining in preoperative biopsies of carcinomas of the lung, *Human Pathology* 28 (1997), S.189-192.
108. Vizcaino AP, Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Barros-Dios XM, Borrás J, Parkin DM: International trends in incidence of cervical cancer: 2. squamous cell carcinoma, *Int J Cancer* 86 (2000), S. 429-435.
109. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N: Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide, *J Pathol* 189 (1999), H 1, S. 12-19.
110. Wang CJ, Lai CH, Huang HJ, Hong IH, Chou HH, Huang KG, Lin JD: Recurrent cervical carcinoma after primary radical surgery, *Am J Obstet Gynecol* 181 (1999), H 3, S. 518-524.
111. Wong FW: Immunohistochemical detection of proliferating tumor cells in cervical cancer using monoclonal antibody Ki-67, *Gynecol Obstet Invest* 37 (1994), S. 123-126.
112. Wright, TC, Ferenczy A, Kurman RJ: Carcinoma and other tumors of the cervix, in: Kurman RJ (Hg.), Blaustein`s pathology of the female genital tract, fifth edition, Springer Verlag, 325-381.
113. Zaino RJ, Ward S, Delgado G, Bundy B, Gore H, Fetter G, Ganjei P, Fraumeni E: Histopathologic predictors of the behavior of surgically treated stage 1B squamous cell carcinoma of the cervix, *Cancer* 69 (1992), S. 1750-1758.

## 8. Abbildungen

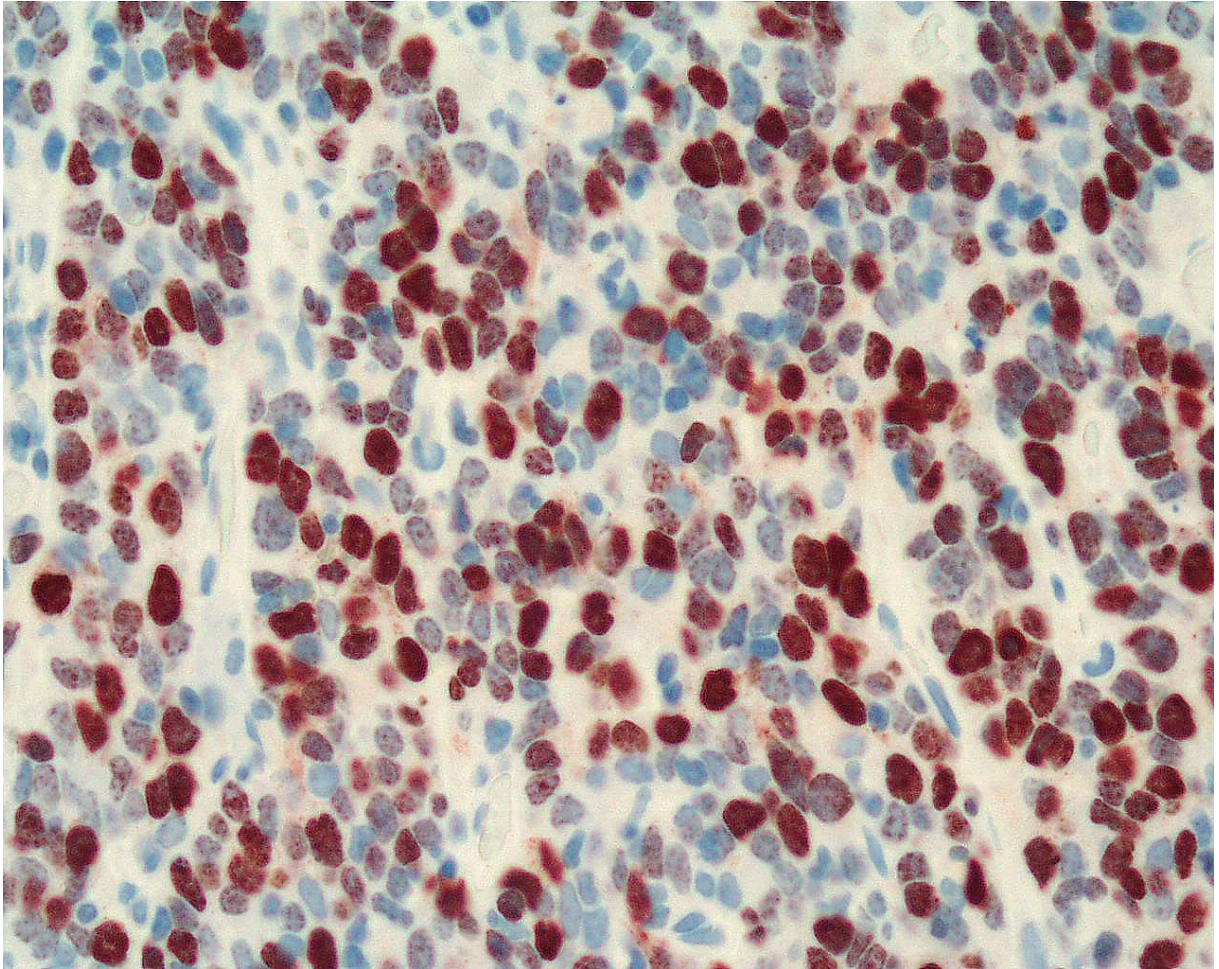


Abb. 1: Mäßig differenziertes Plattenepitelkarzinom der Zervix mit hohem MiB-1 Index.

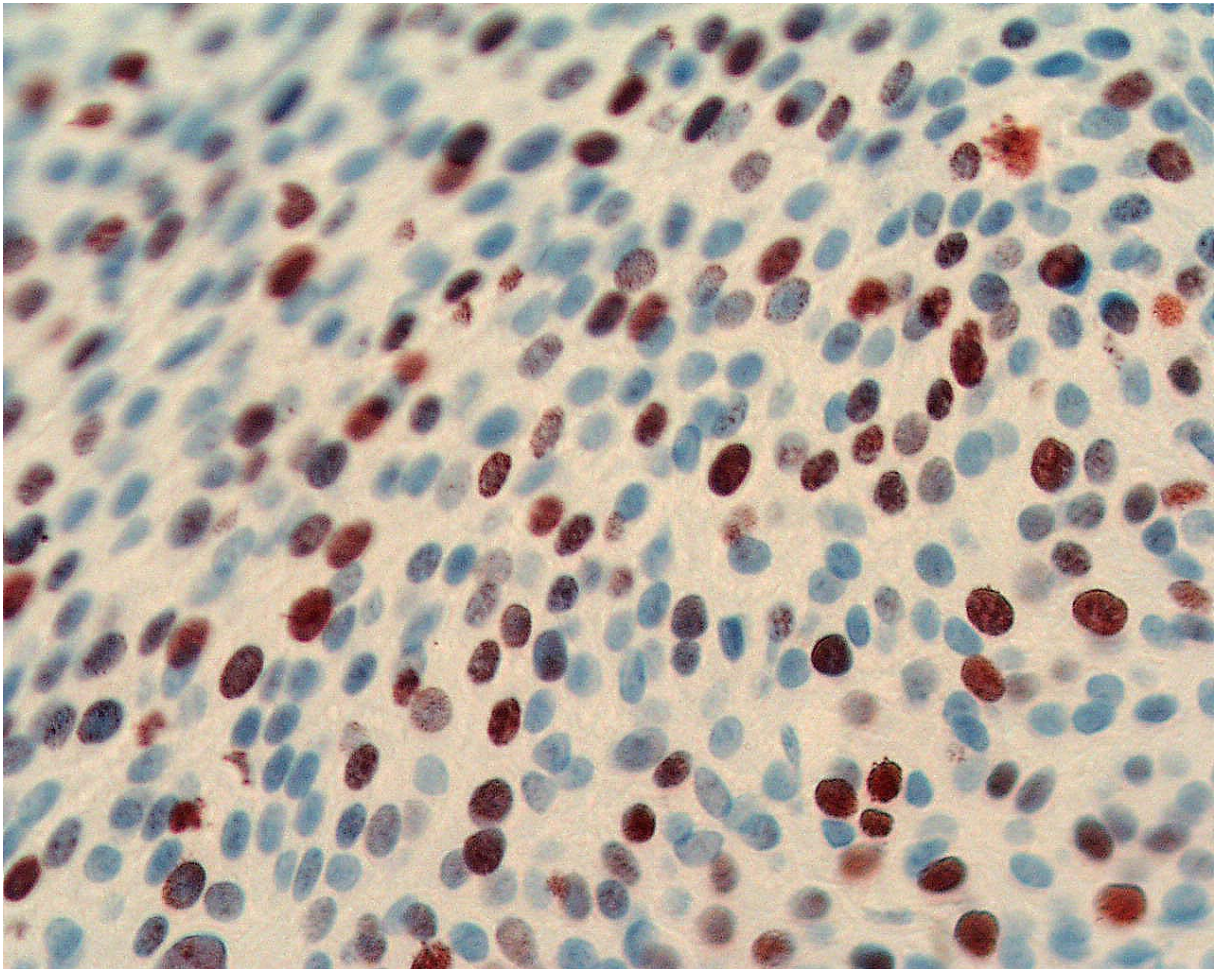


Abb. 2: Mäßig differenziertes Plattenepitelkarzinom der Zervix mit mittlerem MiB-1 Index.

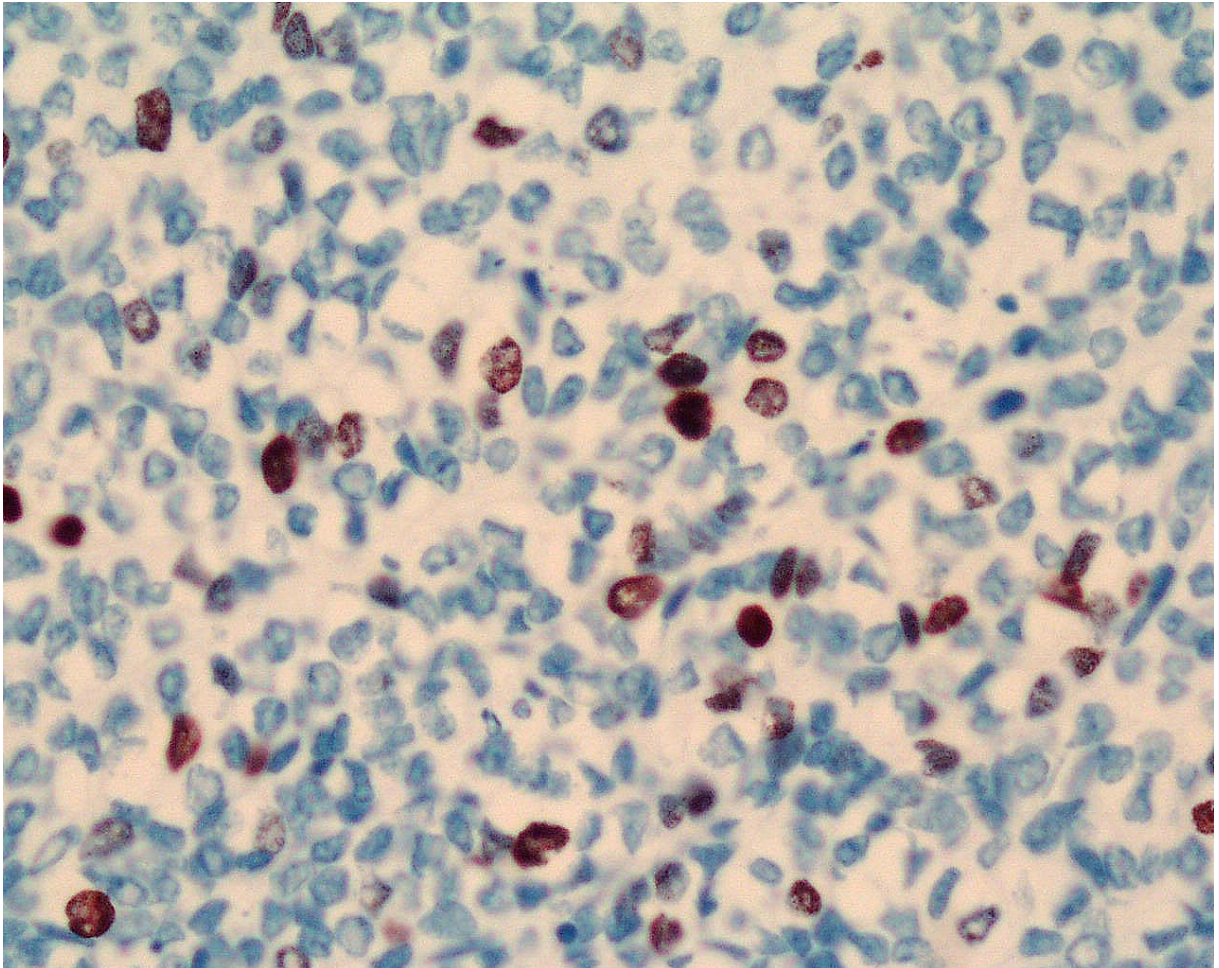


Abb. 3: Mäßig differenziertes Plattenepitelkarzinom der Zervix mit niedrigem MiB-1 Index.



Abb. 4: Computergestützter Mikroskop-Arbeitsplatz

## 9. Thesen

1. Bei höheren FIGO Stadien sind häufiger Lymphknotenmetastasen nachweisbar. Auch die Anzahl aufgetretener Rezidive steigt ebenfalls statistisch signifikant mit zunehmendem FIGO Stadium.

2. Tumorumfänge und Invasionstiefe steigen mit höherem FIGO Stadium statistisch signifikant an.

3. Patientinnen mit nachgewiesenen Lymphknotenmetastasen erlitten statistisch signifikant häufiger ein Rezidiv im Vergleich zu Patientinnen ohne Lymphknotenmetastasen.

4. Bei Patientinnen mit nachgewiesenem Lymphknotenbefall konnten durchschnittlich statistisch signifikant größere Tumorumfänge sowie eine ausgeprägtere Tumordinvasion festgestellt werden.

5. Auch die Anzahl befallener Lymphknoten wirkt sich auf das Gesamtüberleben aus. Die Überlebenschance sinkt von 83,3% (bei 1-2 befallenen Lymphknoten) auf 28,6% (bei mindestens 3 befallenen Lymphknoten).

6. Große Tumorumfänge ( $>4000 \text{ mm}^3$ ) sind statistisch signifikant häufiger mit Gefäßbrüchen sowie dem Auftreten eines Rezidivs vergesellschaftet.

7. Alle Patientinnen mit Rezidiv weisen zumindest Lymphgefäßbrüche auf. Bei zwei Dritteln lagen zusätzlich noch Blutgefäßbrüche vor.

8. Es besteht kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Differenzierungsgrad des Tumors und den hier untersuchten klinischen und histopathologischen Faktoren, einschließlich der 5-Jahres-Überlebensrate.

9. Einen statistisch signifikanten Einfluss auf die 5-Jahres-Überlebensrate haben lediglich die Faktoren Lymphknotenbefall und Gefäßbrüche.

10. Ferner von prognostischer Relevanz, da eng mit dem entscheidenden Faktor Rezidiv verknüpft, sind neben dem FIGO Stadium und den oben genannten Parametern Lymphknotenbefall und Gefäßeinbrüche auch Tumorzellen und Invasionsstiefe.

11. Der MIB-1 Index steht in keinem statistisch signifikanten Zusammenhang mit 5-Jahres-Überlebensrate, Lymphknotenbefall, Auftreten eines Rezidivs, Alter der Patientinnen, FIGO Stadium, Tumorzellen, Invasionsstiefe, Gefäßeinbrüche oder Differenzierungsgrad des Tumors.

12. Der Einsatz des Proliferationsmarkers MIB-1 beim Plattenepithelkarzinom der Zervix bringt in prognostischer Hinsicht keine Vorteile.

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. habil. G. Köhler danke ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei dessen Bearbeitung. Gleichfalls danken möchte ich Herrn Oberarzt Dr. med. Schwesinger und der MTA Frau Müller für die Durchführung der immunhistochemischen Untersuchungen am Pathologischen Institut Greifswald, sowie Frau Oberärztin Dr. med. Mieke für die Überlassung des computergestützten Mikroskoparbeitsplatzes am Anatomischen Institut. Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. Jäger vom Institut für Biometrie und Medizinische Statistik, sowie Herrn Dr. Harald Bauer für die umfangreiche Hilfe und Beratung in statistischen Fragen. Ferner möchte ich mich bei Frau Schmidt für die Archivarbeit bedanken und bei meinem Ehemann, sowie bei meinem Bruder für weitere tatkräftige Unterstützung.

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, Christina Pohlman, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

## **Lebenslauf**

Name: Christina Pohlman  
Wohnort: 17489 Greifswald, Friedrich-Löffler-Straße 13A  
Geburtstag und -ort: 09.07.1971 Göppingen  
Familienstand: verheiratet, ein Kind  
Nationalität: deutsch

### **Schulbildung:**

1978 - 1982 Grundschule Bezgenriet  
1982 - 1991 Mörike Gymnasium Göppingen  
1991 Abitur

### **Freiwilliges Soziales Jahr:**

1991 - 1992 je sechsmonatige Pflegetätigkeit in der  
Psychiatrischen Universitätsklinik sowie in der  
Pädiatrischen Universitätsklinik/ Tübingen

### **Berufsbildung:**

Oktober 1992-Mai 1999 Studium der Humanmedizin an der Ernst-Moritz-  
Arndt Universität Greifswald (3. Staatsexamen am  
21. Mai 1999)

### **Beruflicher Werdegang**

10. Januar 2000 – 31. Januar 2001 Kreiskrankenhaus Nürtingen Innere Medizin  
5. Februar – 30. September 2001 Lukas-Hospital Anklam Chirurgie  
15. Oktober – 15. März 2003 Assistenzärztin in der Inneren Medizin im DRK-  
Krankenhaus Grimmen  
April 2003 – April 2005 Elternzeit und Arbeit an der Promotion  
Seit 11. April 2005 Assistenzärztin im NRZ Greifswald