

Aus der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauengesundheit
der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

**Objektivierbares Maß des Tumorrestes nach primärem Tumordebulking beim
fortgeschrittenen Ovarialkarzinom**

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der

Medizin der Universitätsmedizin

der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Alexandra Hengsbach

aus Arnsberg

Mainz, 2021

Tag der Promotion:

06. Juli 2021

Inhaltsverzeichnis

1.	Abkürzungsverzeichnis.....	3
2.	Abbildungsverzeichnis.....	5
3.	Tabellenverzeichnis.....	6
4.	Einleitung.....	7
4.1	Das Ovarialkarzinom.....	7
4.2	Diagnostik des Ovarialkarzinoms.....	12
4.3	Risikofaktoren für die Entstehung des Ovarialkarzinoms.....	15
4.4	FIGO-Stadien und TNM-Klassifikation.....	17
4.5	Prognostische Faktoren des Ovarialkarzinoms.....	20
4.6	Therapie des Ovarialkarzinoms.....	21
5	Fragestellung der Dissertation.....	31
6	Material und Methodik.....	33
6.1	KEM/HSK/Charité, Einschlusskriterien, statistische Methoden zu Fragestellungen 3.1 und 3.2.....	33
6.2	Evaluation und Validierung des diskriminierenden CA125-Cut-off zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest nach Primäroperation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom in zwei spezialisierten gynäko- onkologischen Zentren.....	34
6.3	Durchführung der prospektiven Analyse zu den Fragestellungen 3.3 bis 3.5 ..	35
6.4	Prospektive Evaluation einer cfDNA Mutationsanalyse vor und nach Primär- Operation bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom und Komplettresektion oder inkompletter Resektion.....	39
7	Ergebnisse.....	43
7.1	Retrospektive Evaluation von klinischen Einflussfaktoren auf die Höhe des CA125-Wertes vor der Operation und vor Beginn der Chemotherapie.....	43
7.2	Evaluation und Validierung eines diskriminierenden CA125-Cut-offs zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom in zwei spezialisierten gynäko- onkologischen Zentren.....	48
7.3	Einschlusskriterien der prospektiven Analyse.....	57
7.4	Prospektive Evaluation der postoperativen Serum CA125- und HE4-Werte zur individuellen Beurteilung des Tumorrestes nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom.....	58
7.5	Prospektive Evaluation der postoperativen Aszites CA125- und HE4-Werte zur individuellen Beurteilung des Tumorrestes nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom.....	63

7.6	Prospektive Evaluation einer cfDNA Mutationsanalyse vor und nach Primär-Operation bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom und Komplettresektion vs. inkompletter Resektion	65
	Diskussion	73
8	Zusammenfassung	78
9	Danksagung	79
	Literaturverzeichnis	81

1. Abkürzungsverzeichnis

AGO	Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie
ARID1A	AT-rich interactive domain-containing protein 1A
ASCO	American Society of Clinical Oncology
AUC	Area under the curve
BMI	Body-Mass-Index
BRCA1/2	Breast Cancer Gen 1/2
CA125	Cancer Antigen 125
cfDNA	Circulating cell free DNA = zirkulierende freie DNA
CT	Computertomographie
DKG	Deutsche Krebsgesellschaft
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dsDNA	doppelsträngige Desoxyribonukleinsäure
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
ESGO	European Society of Gynaecological Oncology
ECLIA	Elektrochemilumineszenz-Immunoassay
FFPE	formaldehyde-fixed paraffin-embedded tissue = Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes Gewebe
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
GCIG	Gynecologic Cancer Intergroup
ggf.	gegebenenfalls
HE4	Human Epididymis Protein 4
HNPCC	Hereditary Non-Polyposis Colorectal Cancer = hereditär nicht-Polyposis-assoziiertes kolorektales Karzinom
Indels	Gleichzeitig auftretende Insertion und Deletion in einer Mutation
KEM	Evangelische Kliniken Essen-Mitte gGmbH, Klinik für Gynäkologie & Gynäkologische Onkologie
KRAS	V-Ki-Ras2 Kirsten Rat Sarcoma 2 Viral Oncogene Homolog
Ln	Logarithmus Naturalis
MAF	Minor allele frequency
MLH1	MutL homolog 1, DNA mismatch repair protein
MSH2	MutS-homolog 2, DNA mismatch repair protein
MLH3	MutL homolog 3, DNA mismatch repair protein

MSH6	MutS homolog 6, DNA mismatch repair protein
Multi-Gen-NGS	Multi-Gen-Next-Generation-Sequenzierung
OC125	Monoklonarer Antikörper gegen Tumorzellen, welche mit dem Antigen CA125 markiert ist
OVCA433	Zelllinie des Ovarialkarzinoms
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PD	Pharmodynamische Response
PET/CT	Positronen-Emissions-Tomographie mit Computertomographie
PI	Predictive Index
PIK3CA	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
PMS2	Mismatch repair endonuclease PMS2, DNA mismatch repair protein
qRT-PCR	real-time quantitative PCR (herkömmliche PCR und zusätzliche Quantifizierung der gewonnenen DNA)
RNA	Ribonukleinsäure
ROMA-Index	Risk of Ovarian Malignancy Algorithm-Index
SD	Standardabweichung
SDR	Surgical dynamic response
SET-Tumor	Solide, pseudoendometrioide, transitionale Tumoren
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismen
STIC	Seröses tubares intraepitheliales Karzinom
TNM	Tumorklassifikation: engl. T = tumor, N = node, M = metastasis
TP53	Tumor Protein p53
TR	Tumorrest
TR=0	Kein makroskopischer Tumorrest
TR>0	Makroskopischer Tumorrest
WFPC-Protein	Whey acidic four-disulfide core Protein
WHO	World Health Organization

2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	8
Abbildung 2	9
Abbildung 3	13
Abbildung 4	36
Abbildung 5	38
Abbildung 6	45
Abbildung 7	46
Abbildung 8	49
Abbildung 9	51
Abbildung 10	52
Abbildung 11	55
Abbildung 12	60
Abbildung 13	61
Abbildung 14	62
Abbildung 15	63
Abbildung 16	64
Abbildung 17	65
Abbildung 18	68
Abbildung 19	69
Abbildung 20	71
Abbildung 21	72

3. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.....	7
Tabelle 2.....	9
Tabelle 3.....	9
Tabelle 4.....	19
Tabelle 5.....	24
Tabelle 6.....	41
Tabelle 7.....	41
Tabelle 8.....	45
Tabelle 9.....	47
Tabelle 10.....	49
Tabelle 11.....	50
Tabelle 12.....	50
Tabelle 13.....	51
Tabelle 14.....	52
Tabelle 15.....	53
Tabelle 16.....	54
Tabelle 17.....	55
Tabelle 18.....	55
Tabelle 19.....	56
Tabelle 20.....	58
Tabelle 21.....	67
Tabelle 22.....	71

4. Einleitung

4.1 Das Ovarialkarzinom

4.1.1 Epidemiologische und Ätiologie des Ovarialkarzinoms

Das Ovarialkarzinom ist laut Robert-Koch-Institut mit 3,1 % der bösartigen Tumoren die achthäufigste Krebserkrankung und die zweithäufigste gynäko-onkologische Erkrankung der Frau (Stand: 2019). Im Jahr 2016 gab es 7.350 Neuerkrankungen (Tabelle 1). Für das Jahr 2020 wird laut Robert-Koch-Institut mit einem Rückgang auf 7.000 Neuerkrankungen gerechnet. Durchschnittlich erkrankt eine von 75 Frauen im Laufe ihres Lebens an einem Ovarialkarzinom (Kaatsch et al. 2015; Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2019).

Das mittlere Erkrankungsalter von Frauen bei der Diagnosestellung liegt bei 68 Jahren und die altersspezifische Inzidenz zeigt einen kontinuierlichen Anstieg der Erkrankungshäufigkeit ab dem 70. Lebensjahr (Abbildung 1).

Inzidenz	2015	2016	Prognose für 2020
	Frauen	Frauen	Frauen
Neuerkrankungen	7.760	7.350	7.000
Rohe Erkrankungsrate	18,7	17,6	16,7
Standardisierte Erkrankungsrate je 100.000 Personen, altersstandardisiert nach Alter Europabevölkerung	11,8	11,1	10,1
Mittleres Erkrankungsalter Median	68	68	

Tabelle 1: Inzidenz des Ovarialkarzinoms für Deutschland von 2015 und 2016 und deren Prognose für 2020.

Altersspezifische Erkrankungsrate, ICD-10 C56, Deutschland 2015–2016
je 100.000

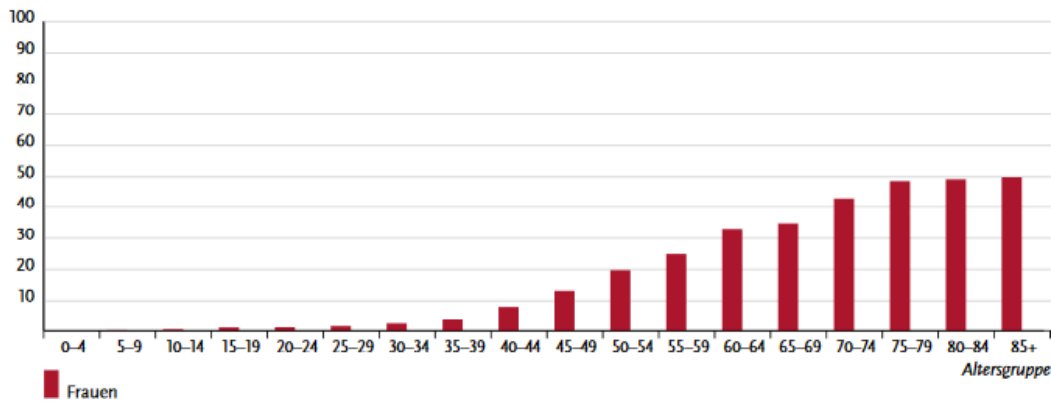


Abbildung 1 Altersspezifische Erkrankungsrate des Ovarialkarzinoms in Deutschland von 2015-2016 (Kaatsch et al. 2015).

Im weltweiten Vergleich deutet sich eine erhöhte Inzidenz in den Industrieländern im Vergleich zu den Dritte-Welt-Staaten an. Werden die europäischen Industrieländer untereinander betrachtet, befindet sich Deutschland im mittleren Bereich der Inzidenzraten; es liegt ein deutliches Nord-Süd-Gefälle vor.

In den letzten Jahren konnte in Deutschland neben dem Rückgang der Erkrankungsrate auch ein Rückgang der Sterberaten verzeichnet werden (Tabelle 1). Trotz dieses Rückgangs kam es im Jahr 2017 zu 5.431 Sterbefällen. Das mittlere Sterbealter betrug 75 Jahre (Tabelle 2). Die 5-Jahresüberlebensrate des Ovarialkarzinoms liegt bei 43 % und die relative 10-Jahresüberlebensrate bei 35 %. Somit ist das Ovarialkarzinom eine der Krebsarten, die am häufigsten zum Tode führen (Abbildung 2, Tabelle 3). Da es keine hinreichenden Screeningmethoden für das Ovarialkarzinom gibt, werden die Karzinome zumeist spät und in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert (76 % der Patientinnen mit Erstdiagnose befinden sich bereits im FIGO-Stadium III/IV). Werden die Karzinome in einem früheren Erkrankungsstadium diagnostiziert, so liegt die relative 5-Jahresüberlebensrate bei 89 % im Stadium I und 77 % im Stadium II (Kaatsch et al. 2015; Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2019).

Mortalität	2015	2016	2017
	Frauen	Frauen	Frauen
Sterbefälle je 100.000 Personen	5.466	5.354	5.431
Rohe Sterberate	13,3	13,0	13,1
Standardisierte Sterberate je 100.000 Personen, altersstandardisiert nach Alter Europabevölkerung	7,1	6,9	6,9
Mittleres Sterbealter	74	74	75

Tabelle 2: Mortalität des Ovarialkarzinoms in Deutschland 2015, 2016, 2017.

Altersstandardisierte Erkrankungs- und Sterberaten, ICD-10 C56, Deutschland 1999 – 2016/2017, Prognose (Inzidenz) bis 2020 je 100.000 (alter Europastandard)

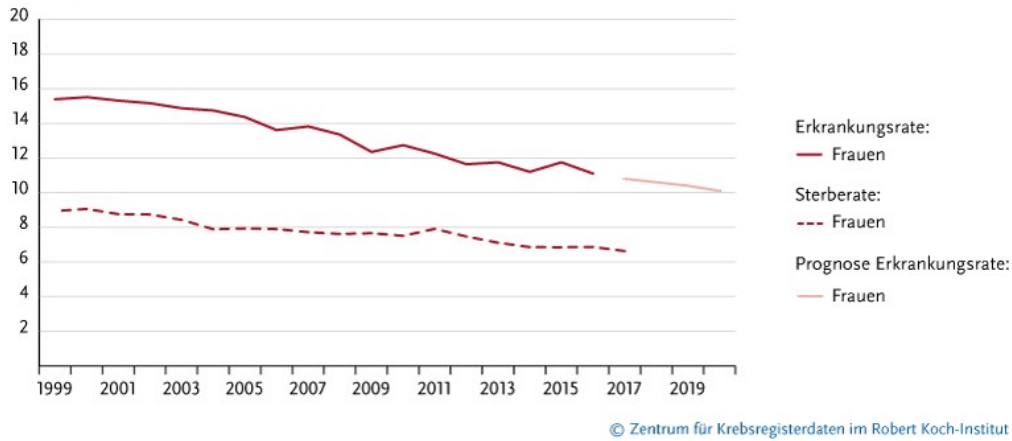


Abbildung 2: Altersstandardisierte Erkrankungsrate und Sterberate 1999-2016/17, Prognose (Inzidenz) bis 2020 (Kaatsch et al. 2015).

Prävalenz und Überlebensraten	5 Jahre	10 Jahre
	Frauen	Frauen
Prävalenz	22.400	35.900
Absolute Überlebensrate (2015-2016) in Prozent	40 (35-46)	29 (26-37)
Relative Überlebensrate (2015-2016) in Prozent	43 (38-50)	35 (30-43)

Tabelle 3: Prävalenz und Überlebensraten des Ovarialkarzinoms in Deutschland für 5 beziehungsweise 10 Jahre.

4.1.2 Histologische Klassifikationen des Ovarialkarzinoms

Das Ovarialkarzinom kann in unterschiedliche Tumorentitäten unterteilt werden. Unterschieden wird hierbei nach dem histologischen Subtyp sowie dem möglichen Ursprungsgewebe. Ovarialkarzinome lassen sich generell in zwei histologische Gruppen einteilen, die nicht-epithelialen Tumoren und die epithelialen Tumoren. Der größte Anteil der Ovarialkarzinome lässt sich den epithelialen Tumoren zuordnen (ca. 80-90 %) (Prat 2017).

4.1.2.1 Nicht-epitheliale Tumoren

Die nicht-epithelialen Tumoren des Ovarialkarzinom lassen sich in fünf Untergruppen unterteilen, die insgesamt 10-20 % der Ovarialkarzinome ausmachen: maligne Keimstrang-Stroma-Tumoren, maligne Keimzelltumoren, Sarkome ohne weitere Spezifität, Metastasen anderer Primärtumoren - der bekannteste ist hierbei der Krukenberg Tumor des Magenkarzinoms - sowie maligne Tumoren, die aus lymphatischem oder blutbildendem Gewebe entspringen und zu den nicht-epithelialen Tumoren des Ovarialkarzinoms gehören (Petru et al. 2014; Ulrich 2013).

4.1.2.2 Epitheliale Tumoren

80-90 % der Ovarialkarzinome sind epitheliale Tumore. Nach dem derzeitigen WHO Konsensus werden die epithelialen Karzinome in fünf Untergruppen eingeteilt: high-grade seröses, klarzelliges, endometrioides, low-grade seröses und muzinöses Karzinom.

4.1.2.2.1 High-grade seröses Ovarialkarzinom

In 70 % der Fälle handelt es sich bei den epithelialen Tumoren um high-grade seröse Karzinome, welche eine hohe Proliferationsrate haben (Prat 2017; Peres et al. 2019; Reid et al. 2017). Somit sind sie schnell wachsend und aggressiv. In der histologischen Aufarbeitung der high-grade serösen Karzinome werden häufig *TP53*-Mutationen nachgewiesen (Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2019; Scottish Intercollegiate Guidelines Network 2013; The Cancer Genome Atlas Research Network 2011). Zu den high-grade serösen Karzinomen gehören ebenso die Karzinosarkome, die sich aus malignen epithelialen und mesenchymalen Zellen zusammensetzen. Durch die Aggressivität, das schnelle

Wachstum und die späte Symptomatik führt diese Erkrankung zu einer hohen Sterberate (Shih und Kurman 2004). High-grade seröse Ovarialkarzinome zeigen schon in den frühen Stadien eine Ausdehnung im gesamten Bauchraum sowie eine frühzeitige Metastasierung, die sich sowohl lymphogen als auch zum Beispiel in die Lunge ausdehnt und oftmals durch Pleuraergüsse auffallen (Ulrich 2013). Zu den Vorläuferläsionen des high-grade serösen Ovarialkarzinoms zählt das so genannte STIC (Seröses tubares intraepitheliales Karzinom), das in den Eileitern entsteht. Durch Progress des STIC kommt es zur weiteren Entartung und in der Folge zum high-grade serösen Ovarialkarzinom (Piek et al. 2001; Medeiros et al. 2006). Diese Entartungen befinden sich am distalen Ende der Tube sowie an den Fimbrientrichern. Diese Läsionen konnten primär bei Patientinnen, die sich einer prophylaktischen Adnexektomie bei positiver *BRCA*-Testung unterzogen hatten, vermehrt diagnostiziert werden. Zudem konnte bei Patientinnen, bei welchen sowohl ein STIC als auch ein high-grade seröses Ovarialkarzinom nachweisbar gewesen war, die gleiche *TP53*-Mutation detektiert werden. Dies ist ein Hinweis dafür, dass STIC Vorläuferzellen high-grade seröser Ovarialkarzinome sind (Kuhn et al. 2012). Um STIC verifizieren zu können, müssen diese durch morphologische Merkmale und durch immunhistochemische Färbungen belegt werden. Hierzu gibt es ein SEE-FIM Protokoll (Sectioning and Extensively Examining the FIMbriated End of Fallopian Tube), welches bei einer prophylaktischen Salpingo-Oophorektomie bei Patientinnen mit einer *BRCA*-Mutation zur histologischen Aufarbeitung durchgeführt werden soll. Derzeit ist umstritten, ob es sich dabei selbst um eine frühe Form des high-grade serösen Ovarialkarzinoms oder um eine nicht-invasive Vorläuferläsion handelt. In der Studie u.a. von Schneider et al. (2017) konnte nachgewiesen werden, dass es sich bei den STIC um keine Vorläuferläsionen, sondern bereits um Karzinome handelt, da sie bereits lymphatisch als auch intraperitoneal metastasiert sein können.

4.1.2.2.2 Weitere epitheliale Ovarialkarzinome

Etwa 9,4 % der epithelialen Tumore sind muzinöse Karzinome (Peres et al. 2019). Diese gehen von dem schleimbildenden, differenzierten Gewebe aus und ähneln dabei der Endozervix. Die muzinösen Karzinome werden in 48 % der Fälle bereits im frühen Tumorstadium diagnostiziert (Peres et al. 2019). In der immunhistochemischen Aufarbeitung treten *BRAF*- und *KRAS*-Mutationen auf (Wagner und Reuß 2019).

Zu den weiteren histologischen Untergruppen gehören u.a. die klarzelligen (9,6 %) Karzinome, die immer zu den high-grade Karzinomen gerechnet werden. Die endometrioiden (9,9 %) Karzinome (Peres et al. 2019) können in einer Endometriose die Ursprungszellen haben. Bei endometrioiden Karzinomen konnten häufiger Mutationen in dem Tumorsuppressorgen *ARID1A* nachgewiesen werden. Diskutiert wird dabei, ob es sich bei dieser Mutation um eine frühe Veränderung auf dem Weg von einer Endometriose zum Karzinom handelt (Wiegand et al. 2010).

4.1.2.2.3 Low-grade seröse Ovarialkarzinome

Low-grade seröse Karzinome können sich durch Mutationen aus serösen Borderlinetumoren entwickeln (Wagner und Reuß 2019). Um die Tumore voneinander zu unterscheiden, muss der Borderlinetumor auf Mikroinvasionen (kleine epithelialen Zellen im Stroma mit eosinophilem Plasma) und Implants (Peritonealläsionen) untersucht werden. Implants, die sich an der Oberfläche des Peritoneums befinden, zählen weiterhin zu den Borderlinetumoren mit Implants. Die ehemaligen invasiven Implants, die mit einem Wachstum in die tieferen Gewebeschichten einhergehen, zählen zu den low-grade serösen Karzinomen (Bell et al. 2004). In den letzten Jahren hat sich durch molekularpathologische Studien eine klarere Unterscheidung der low- und high-grade serösen Karzinome herausgestellt. Hierbei zeigte sich, dass bei low-grade serösen Karzinomen häufig Mutationen in den *BRAF*- und *KRAS*-Genen vorliegen. In den high-grade Ovarialkarzinomen zeigten sich gehäuft *BRCA* und *p53*-Mutationen.

Die vorliegende Dissertation fokussiert sich auf high-grade seröse Karzinome, unter anderem auf deren Diagnostik, Therapie und Prognose.

4.2 Diagnostik des Ovarialkarzinoms

4.2.1 Gynäkologische Untersuchung und weiterführende Bildgebung

Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom haben selten frühe Symptome, sodass dieses häufig erst im späten Stadium diagnostiziert wird. Symptome sind vorwiegend Bauchumfangszunahme mit Völlegefühl, Miktionsymptomatik und Ileusbeschwerden (Wagner et al. 2013).

Bei diesen Symptomen und einem Alter der Patientin über 50 Jahren sollte immer eine gynäkologische Untersuchung durchgeführt und gegebenenfalls mit weiteren bildgebenden Untersuchungen ergänzt werden. Hierbei eignet sich die bimanuelle Tastun-

tersuchung, um die Größe der Ovarien und gegebenenfalls bestehende Raumforderung in der Beschaffenheit und Größe besser beurteilen zu können. Weitere Faktoren der Untersuchung sind dabei die Infiltration der Parametrien und des Rektums sowie die Schmerzhaftigkeit und Beweglichkeit des Tumors. Anhand der digitalrektalen Untersuchung wird das Vorhandensein von Aszites im Douglasraum, Peritonealkarzinose sowie eine mögliche Infiltration in das Rektum diagnostiziert. In der gynäkologischen Untersuchung ist darüber hinaus der transvaginale Ultraschall der bildgebend erste und einfachste diagnostische Schritt. Diese Untersuchungsmethode ist preiswert, nicht invasiv und reproduzierbar. Für eine bessere Abschätzung der Größe eignet sich eine abdominelle Sonographie. Zur Beurteilung der Dignität wurden Kriterien von der IOTA Gruppe aufgestellt, die Befunde besser einstufen können. In **Abbildung 3** werden die B- und M-Kriterien dargestellt. Kann der Befund den B-Kriterien (benigne) zugeordnet werden, handelt es sich höchstwahrscheinlich um einen gutartigen Tumor. Sollten nur M-Kriterien (maligne) nachgewiesen werden, wird der Tumor als maligne eingestuft. Erst nach dieser Einstufung nach den IOTA-Kriterien sollte eine Tumormarkerbestimmung durchgeführt werden (Timmerman et al. 2000).

Mit Hilfe der Schnittbilddiagnostik können extraperitoneale Metastasenlokalisationen zum Beispiel in Leber und Lunge sowie Vergrößerung der Lymphknoten nachgewiesen werden (Choi et al. 2010). Eine Aussage zur intraperitonealen Tumorausbreitung und die Möglichkeit der Vorhersage einer Komplettresektion des intraabdominellen Tumors ist nur sehr eingeschränkt möglich (Axtell et al. 2007; Risum et al. 2008; Qayyum et al. 2005; Meyer et al. 1995).

IOTA Kriterien zur Einschätzung von Adnextumoren

B-Kriterien		M-Kriterien	
B1	lokulär	M1	Irregulärer solider Tumor
B2	solide Komponente <7 mm vorhanden	M2	Aszites vorhanden
B3	Schallschatten vorhanden	M3	wenigstens 4 papilläre Strukturen
B4	glattwandiger multilokulärer Tumor <100 mm	M4	irregulärer multilokulärer solider Tumor ≥100 mm
B5	Kein Blutfluss vorhanden	M5	sehr starker Blutfluss vorhanden

Abbildung 3: IOTA-Kriterien zur sonographischen Einschätzung von Adnextumoren.

4.2.2 Tumormarker

4.2.2.1 CA125

Der für das high-grade seröse Ovarialkarzinom spezifischste Tumormarker ist das CA125, welches im Serum nachweisbar ist. Hierbei handelt es sich um ein Protein bestehend aus 22.152 Aminosäuren. CA125 ist das Pseudonym des Proteins Mucin-16, bei dem es sich um ein Transmembran-Glykoprotein handelt. Dieses Glykoprotein befindet sich meist auf Epithelzellen des weiblichen Genitals, jedoch auch auf dem Mesothel, zu welchem das Peritoneum zählt (Streppel et al. 2012). Aufgrund dessen kann eine CA125-Erhöhung auch bei einer Entzündung des Eierstocks oder bei Endometriose vorhanden sein. Hohe Werte treten ebenfalls während der Menstruation und in der Schwangerschaft auf. Dies zeigt, dass es sich bei diesem Tumormarker um einen unspezifischen Marker handelt. Sein Cut-off-Wert liegt bei 35 U/ml. Die Sensitivität des Tumormarkers zur Detektion eines Ovarialkarzinoms liegt bei 93 %, die Spezifität bei 63 % (Moore et al. 2008). Normale CA125-Werte können außerdem auch bei malignen Entartungen der Eierstöcke auftreten und somit eine Erkrankung verschleiern. Der Tumormarker CA125 wird meist als Verlaufskontrolle unter Chemotherapie oder zur frühzeitigen Detektion eines Rezidives verwendet (Rustin et al. 2010; Wei et al. 2016; Jacobs und Bast 1989; Jacobs et al. 2016; Jacobs).

4.2.2.2 HE4

Seit einigen Jahren kann außerdem der Tumormarker HE4 zu der Untersuchung auf Ovarialkarzinome bestimmt werden.

Bei HE4 handelt es sich um ein sogenanntes „Whey Acidic Four Disulfide Core-Protein“ (WFDC-Protein), welches ein intrazelluläres Glykoprotein ist und vorwiegend von Ovarialkarzinomzellen produziert wird. HE4 ist ein Tumormarker, der im Vergleich zu CA125 Vorteile hat. Einer dieser Vorteile ist die höhere Sensitivität in frühen Erkrankungsstadien. Die hohe Spezifität bei diesem Tumormarker liegt darin begründet, dass dieser, sobald es zu einer Entartung des Eierstocks kommt, überexprimiert wird. Durch eine kombinierte Abnahme von CA125 und HE4 bei dem Verdacht eines frühen Ovarialkarzinoms wird eine Sensitivität von 76,4 % und eine Spezifität von 95 % zur Detektion erreicht (Jacobs und Bast 1989; Jacobs; Wei et al. 2016). Eine HE4-Erhöhung kommt nicht nur bei Ovarialkarzinomen vor. Die Tumormarkererhöhung kann auch zum Beispiel bei einer Niereninsuffizienz sowie bei einem Endometrium- als auch bei einem Lungenkarzinom gegeben sein (van Gorp et al. 2011; Nagy et al. 2012).

Referenzwerte bei der prämenopausalen Frau liegen bei bis zu 70 pmol/l, bei der postmenopausalen Frau bei bis zu 140 pmol/l (Allard et al. 2008; Huy et al. 2018).

4.3 Risikofaktoren für die Entstehung des Ovarialkarzinoms

4.3.1 Risikofaktoren

Faktoren, die mit einem erhöhten Risiko für Entstehung des Ovarialkarzinoms assoziiert werden, sind ein höheres Alter von Frauen (55. Lebensjahr: 25/100.000 Patientinnen, 80. Lebensjahr: 50/100.000 Patientinnen) (Petru et al. 2014) und ein erhöhter Body-Mass-Index (BMI) (Schouten et al. 2008). In der Meta-Studie von Olsen et al. (2007) konnte ein Zusammenhang zwischen dem BMI und dem Risiko für Ovarialkarzinome verdeutlicht werden. Es konnte eine Risikoerhöhung von 30 % zwischen einem erhöhten BMI ≥ 30 kg/m² und einem Ovarialkarzinom nachgewiesen werden. Zudem konnte in der Studie von Leitzmann et al. (2009) gezeigt werden, dass Patientinnen mit einem erhöhter BMI und gleichzeitiger hormoneller Therapie ein gleich hohes Risiko für die Entstehung eines Ovarialkarzinoms haben wie Patientinnen ohne hormonelle Therapie. Daraus lässt sich gegebenenfalls schließen, dass sowohl Adipositas als auch die hormonelle Therapie zu ähnlichen Effekten führen.

Ein weiteres Risiko für das Ovarialkarzinom ist die Infertilität (Cetin et al. 2008). In einer Studie von Brinton et al. (2005) wurde herausgestellt, dass die ovulationsauslösenden Medikamente keine Risikosteigerung für die Erkrankung ausmachen. Zu den Risikofaktoren gehört darüber hinaus die Einnahme von Hormonersatzpräparaten (Mørch et al. 2009). In einer Studie von Anderson et al. (2003) wurden zwei Gruppen mit und ohne Östrogen- und Progesteron-Therapie über einen Zeitraum von 5,6 Jahren untersucht. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass eine Hormontherapie in der Menopause das Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken um 58 % steigert (Anderson et al. 2003). Als weitere Risikofaktoren für die Entstehung des Ovarialkarzinoms sind unterschiedliche Genmutationen beschrieben. Diese Mutationen werden über autosomal-dominante Erbgänge weitergegeben. Zu den Hochrisiko-Genen zählen unter anderem *BRCA1*- und *BRCA2*- (aber auch *RAD51C*, *RAD51D*, *ATM*, *CDH1*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *TP53* und Lynch-assoziierte Gene). Bei den *BRCA1* (lokalisiert auf Chromosomen 17) und *BRCA2*-Genen (lokalisiert auf Chromosom 13) (Couch et al. 2013) handelt es sich um häufige Genmutationen, wobei *BRCA* *Breast Cancer Mutation* bedeutet und es sich um ein Tumorsuppressorgen handelt (Wagner et al. 2013).

In einer Studie von Antoniou et al. (2003) wurden an einer populationsbasierten Kohorte die Keimbahnmutationen *BRCA1* und *BRCA2* untersucht. Lag bei einer Frau eine *BRCA1*-Genmutation vor, erkrankten 39 % der Betroffenen bis zum 69. Lebensjahr und bei einer *BRCA2*-Mutation 11-22 % der Betroffenen bis zum 69. Lebensjahr an einem Ovarialkarzinom. Auch das relative Risiko für die Entstehung von Brustkrebs ist mit der *BRCA1*- und *BRCA2*-Mutation assoziiert. Bestand eine *BRCA1*-Mutation, so lag das Risiko bis zum 69. Lebensjahr an einem Mammakarzinom zu erkranken bei 46-65 % (Konfidenzintervall 44-78 %). Bei einer *BRCA2*-Mutation lag das Risiko an einem Mammakarzinom zu erkranken bei 45 % (Konfidenzintervall 31-56 %). Schmutzler (2017) und Meindl et al. (2010) bestätigten in ihren Arbeiten, dass *BRCA1*- und *BRCA2*-Keimbahnmutationen mit einem erhöhten Risiko für Brust- und Eierstockkrebs einhergehen. Darüber hinaus zeigten sie, dass das *RAD51C*-Gen, welches ein Protein codiert und wie die *BRCA* Proteine für die Reparatur der DNA verantwortlich ist, bei einer Mutation auch zu einer Entartung führen kann. In der AGO-TR1-Studie konnte an einer Patientenkohorte mit primären Ovarialkarzinomen und platinsensitiven Ovarialkarzinomrezidiven gezeigt werden, dass bei 20,8 % der Patientinnen eine Keimbahnmutation in den Genen *BRCA1* und *BRCA2* nachweisbar war. Insgesamt machten die Hochrisikogenmutationen (*BRCA1*, *BRCA2* und *RAD51C*) 25,8 % aus (Harter et al. 2017).

Auch bei Vorliegen eines Lynch-Syndroms (HNPCC) ist das Risiko an einem Ovarialkarzinom zu erkranken erhöht (Kast und Arnold 2012; Antoniou et al. 2003; Loukola et al. 2001; Meindl et al. 2011). In einer Studie von Bonadona et al. (2011) wurde nachgewiesen, dass das Risiko, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, bei einer Mutation von *MLH1* beziehungsweise *MSH2* bis zu einem Alter von 40 Jahren bei 1 % liegt. Dem gegenüber steht eine Risikoerhöhung nach dem 40. bis zum 70. Lebensjahr bei 20 % bei der *MLH1*-Mutation und 24 % bei der *MSH2*-Mutation (Bonadona et al. 2011).

4.3.2 Protektive Faktoren

In einer Arbeit von Beral et al. (2008) wurde dargestellt, dass die Einnahme oraler Kontrazeptiva mit einer Reduktion der Entstehung von Ovarialkarzinomen einhergeht. Eine Vermutung ist, dass sich dadurch auch die Senkung der Neuerkrankungen der Ovarialtumoren in den Industrieländern herleiten lässt. Das relative Risiko, an einem Ovarialtumor zu erkranken, führt durch die Einnahme von Ovulationshemmern über

einen Zeitraum von zehn Jahren zu einer Reduktion von ca. 40 % (Agenzia internazionale per la ricerca sul cancro 1999). Bereits durch eine wenige Jahre (1-4 Jahre) dauernde Anwendung oraler Kontrazeptiva kann das Risiko, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken um 22 % gesenkt werden. Bei einer über 15-Jahre andauernden Einnahme kommt es sogar zu einer Risikoreduktion von 56 % (Moore et al. 2009; Beral et al. 2008). Zu einer Verringerung der Fälle kam es bei allen histologischen Typen bis auf den des muzinösen Typs des Ovarialkarzinoms. Neben den oben aufgeführten Faktoren werden auch die Parität und Laktation als protektive Faktoren gegenüber dem serösen Ovarialkarzinom diskutiert. Genauso konnte nachgewiesen werden, dass es zu einer Verminderung von Ovarialkarzinomen bei Frauen mit hoher Geburtenrate kommt. Es wird angenommen, dass es durch die Reduktion der Ovulationen durch die Einnahme von Kontrazeptiva zu einer Verringerung der Entstehung von Ovarialkarzinomen kommt (Beral et al. 2008).

In einer weiteren Studie wurde ein Zusammenhang zwischen einer Entfernung der Tuba uterina und einem Eierstockkarzinom mit einer Risikoreduktion von 34 % auf einen persistierenden Zeitraum von 14 Jahren belegt (Cibula et al. 2011). Gerade bei Patientinnen mit nachgewiesenen *BRCA1*- und *BRCA2*-Mutationen sollte eine beidseitige Salpingo-Oophorektomie in Erwägung gezogen werden. Durch diese lässt sich das Erkrankungsrisiko um über 80 % reduzieren (Finch et al. 2006; Kauff et al. 2002). Der richtige Zeitpunkt für die Adnexektomie kann schwer eingeschätzt werden, jedoch kann davon ausgegangen werden, dass der beste Zeitraum für die Operation bei Patientinnen mit einer *BRCA1*-Mutation zwischen dem 35-40. Lebensjahr und bei Patientinnen mit *BRCA2*-Mutation zwischen dem 40-45. Lebensjahr anzusiedeln ist. (Kauff et al. 2002; Finch et al. 2006).

4.4 FIGO-Stadien und TNM-Klassifikation

Die FIGO-Klassifikation ist eine spezielle Einteilung der Stadien von gynäkologischen Tumoren, die von der Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO) entwickelt wurde (Prat 2015). Die FIGO-Stadien lassen sich beim Ovarialkarzinom durch die intraoperativen Befunde und die darauffolgende feingewebliche Untersuchung bestimmen. Grob lässt sich diese in vier Gruppen einteilen. Im FIGO-Stadium I ist die Erkrankung auf das erkrankte Organ beschränkt, während im FIGO-Stadium II der Tumor auf das angrenzende Gewebe übergeht. Beim FIGO-Stadium III kommt es zur Infiltration des Tumors in benachbarte Organe und beim FIGO-Stadium IV ist eine Ausbreitung des Tumors mit Fernmetastasen vorhanden (Tabelle 4). Das

FIGO-Stadium fasst verschiedene Aspekte zusammen und beinhaltet auch prognostische Informationen (Höhn et al. 2014).

Auch wenn die Ausbreitung des Ovarialkarzinoms zumeist nach der FIGO-Klassifikation eingeteilt wird, ist eine ebenso bedeutende Klassifikation die TNM-Klassifikation der WHO. Die TNM-Klassifikation beschreibt separat die intraperitoneale, retroperitoneale und extraperitoneale Aussaat des Tumorgeschehens (Wittekind und Oberschmid 2010). T steht in dieser Klassifikation für die Ausbreitung und Größe des Tumors, N bedeutet Nodus und klassifiziert damit das Fehlen oder Auftreten von regionalen Lymphknotenmetastasen. M bezeichnet das Auftreten oder Fehlen von Fernmetastasen (Tabelle 4) (Sobin et al. 2010).

FIGO-Stadium	Beschreibung	TNM-Klassifikation
FIGO I	Tumor auf Ovarien oder Tuben begrenzt	T1 N0 M0
FIGO IA	Tumor auf ein Ovar oder eine Tube begrenzt, Kapsel intakt, Oberfläche nicht erreicht und negative Zytologie	T1a N0 M0
FIGO IB	Tumor auf beide Ovarien oder Tuben begrenzt, Kapsel intakt, Oberfläche nicht erreicht und negative Zytologie (bei HGSC als FIGO IIA zu klassifizieren)	T1b N0 M0
FIGO IC 1-3	Tumor auf Ovar oder Tube begrenzt und: C1: intraoperative Ruptur C2: präoperative Ruptur oder Oberflächenbefall C3: positiver Aszites/ Spülzytologie	T1c N0 M0
FIGO II	Ovarial-, Tuben- oder Peritoneal-Ca befällt das kleine Becken	T2 N0 M0
FIGO IIA	Befall von Uterus, Tuben, Ovarien; beidseitiges HGSC (früher FIGO IB); STIC und Ovarialbefall mit HGSC	T2a N0 M0
FIGO IIB	Befall im kleinen Becken jenseits des inneren Genitals (z.B. Sigma/Rektum, Peritoneum; jedoch nicht LK oder Dünndarm)	T2b N0 M0
FIGO III	Ovarial-, Tuben- oder Peritoneal-Ca mit Befall der Abdominalhöhle jenseits des Beckens und /oder LK Metastasen	T3 N0 M0 T1/2 N1 M0
FIGO IIIA1	Tumor begrenzt auf das Becken, aber positive LK IIIA (i) LK Metastasen bis 10 mm IIIA (ii) LK Metastasen >10 mm	T1/2 N1 M0
FIGO IIIA2	Mikroskopischer Tumor intraabdominal jenseits des Beckens +/- LK Metastasen	T3a2 N0/1 M0
FIGO IIIB	Makroskopischer Tumor intraabdominal jenseits des Beckens bis max. 2 cm Größe +/- LK Metastasen	T3b N0/1 M0
FIGO IIIC	Makroskopischer Tumor intraabdominal jenseits des Beckens >2 cm +/- LK Metastasen	T3c N0/1 M0
FIGO IV	Fernmetastasen jenseits des Peritoneums oder abdominale LK	T1-3 N0/1 M1
FIGO IVA	Zytologisch positiver Pleuraerguss	
FIGO IVB	Parenchymmetastasen (inkl. Mucosabefall des Darms) / extra-abdominale Metastasen (inkl. Leisten/ präkordiale LK), extraperitoneale Bauchdecken-/ Nabelmetastase	

Tabelle 4: FIGO-Klassifikationen.

4.5 Prognostische Faktoren des Ovarialkarzinoms

4.5.1 Generelle Faktoren

Bisher gibt es kein verlässliches Screeningverfahren für die Früherkennung des Ovarialkarzinoms (Jacobs et al. 2016; Buys et al. 2011). Darüber hinaus fehlt es an Frühsymptomen, da Symptome wie Bauchumfangszunahme oder abdominelle Schmerzen erst bei fortgeschrittenen Tumorstadien nachweisbar sind. Dementsprechend wird die Diagnose „Ovarialkarzinom“ in ca. 76 % der Fälle erst in einem weit fortgeschrittenen Erkrankungsstadium (FIGO-Stadium III bis IV) gestellt. Das Tumorstadium ist der wichtigste Prognosefaktor in Bezug auf das Überleben. Da bei Diagnosestellung eines Ovarialkarzinoms meist ein späteres Krankheitsstadium vorliegt, ist die 5-Jahresüberlebensrate im Vergleich zu anderen bösartigen Tumorerkrankungen mit 40 Monaten schlecht (Kaatsch et al. 2015; Heintz et al. 2006; Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2019).

Neben dem FIGO-Stadium sind auch der histologische Typ, die Größe des postoperativen Tumorrestes, der Allgemeinzustand (ECOG-Status), das Alter, die leitliniengerechte Therapie sowie das Tumorgrading unabhängige Prognosefaktoren (Wagner et al. 2013). Serös-papilläre und endometrioiden Tumore gehen mit einer signifikant besseren Prognose einher als klarzellige und muzinöse Karzinome (du Bois et al. 2009).

4.5.2 Tumorrest

Der wichtigste vom Arzt zu beeinflussende prognostische Faktor bei der operativen Therapie des Ovarialkarzinoms ist der postoperative Tumorrest. In einer Metaanalyse von du Bois et al. (2009) konnte eine signifikant längere Überlebenszeit bei Patientinnen ohne Tumorrest im Vergleich zu Patientinnen mit einem Tumorrest von 1-10 mm gezeigt werden. Das mediane Überleben der Patientinnen ohne Tumorrest lag bei 99,1 Monaten (95 % KI:83.5 to -) und das Überleben der Patientinnen mit einem Tumorrest zwischen 1-10 mm bei 36,2 Monaten (95 % KI:34.6, 39.4). Bei einem Tumorrest von größer 10 mm lag das mediane Überleben bei 29,6 Monaten (95 % KI:27.4- 32.2).

In den letzten Jahren konnte eine Verbesserung des Überlebens durch eine Optimierung der Operationen in einigen Zentren erzielt werden (du Bois et al. 2009; Bristow et al. 2002; Harter et al. 2011a). Diese Optimierung konnte v.a. durch die Resektion von Tumormanifestationen im Bereich des Oberbauches erreicht werden (Eisenhauer et

al. 2006; Zivanovic et al. 2008). Hierzu gehört die Deperitonealisierung des Zwerchfells, die Entfernung kardiophrenischer Lymphknoten, aber auch die Entfernung von der Milz und Tumoren anderer Lokalisationen (Heitz et al. 2016).

In der Beurteilung des Tumorrestes gibt es jedoch Verzerrungen. Dazu gehört die Einschätzung des Tumorrestes durch den Operateur (Préfontaine et al. 1994)

4.6 Therapie des Ovarialkarzinoms

Die generelle Strategie der Therapie des Ovarialkarzinoms ist die operative Therapie, gefolgt von einer Chemotherapie (Wagner und Reuß 2019). In speziellen Fällen kann nach der histologischen Sicherung des Ovarialkarzinoms eine primäre neoadjuvante Chemotherapie mit drei Zyklen durchgeführt werden, um dann im Intervall zu operieren und gegebenenfalls hierdurch eine komplette Tumorreduktion zu erhalten. Die Wahrscheinlichkeit, während der Intervall-Operation keinen Tumorrest zu belassen, wird dadurch erhöht (Burgess und Schmalfeldt 2011).

4.6.1 Primärtherapie

4.6.1.1 Operative Therapie

Die operative Therapie des high-grade serösen Ovarialkarzinoms richtet sich nach der intra- und retroperitonealen Ausbreitung. Beim frühen invasiven epithelialen Ovarialkarzinom (FIGO-Stadien I-II) wird sowohl der Tumor entfernt als auch ein ausführliches intraperitoneales und retroperitoneales Staging durchgeführt. Dies ist wichtig, da bei einem mutmaßlichen Frühstadium in ca. 70-75 % der Fälle der Tumor außerhalb des kleinen Beckens gefunden wird und sich damit das Tumorstadium ändert und die weitere systemische Therapie angepasst werden muss. Zum optimalen Staging gehört laut den Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) folgendes:

- Mediane Längsschnittlaparotomie
- Inspektion und Palpation des gesamten Abdominalraumes
- Entnahme einer Peritonealzytologie aus dem Douglas-Raum
- Biopsien von auffälligen Stellen (z.B. Peritonealbiopsien)
- Biopsien von unauffälligen Stellen des Peritoneums aus dem Douglasraum, Blasenperitoneum, Beckenwänden beidseits, parakolischen Rinne beidseits, Zwerchfellkuppel beidseits

- Hysterektomie
- Omentektomie (mindestens infrakolisch)
- Appendektomie (bei unklaren/ muzinösen histologischen Typen)
- Adenexextirpation beidseits
- Beidseitige pelvine und paraaortale Lymphknotenentfernung

In der ACTION-Studie (Trimbos et al. 2003a) konnte gezeigt werden, dass Patientinnen im frühen Stadium und mit einer kompletten operativen Staging-Operation ein signifikant besseres Gesamtüberleben aufwiesen als Patientinnen mit inkomplettem operativem Staging. Das 5-Jahresgesamtüberleben lag bei Patientinnen mit einem kompletten Staging bei 89 %, im Vergleich dazu bei Patientinnen mit einem inkomplettem Staging bei 71 % (Trimbos et al. 2003a). Zudem wurde in weiteren Studien dargestellt, dass durch eine adäquate Staging-Operation weitere Tumorreste entdeckt werden konnten und somit eine Up-Staging-Rate von 9-60 % vorlag (Stier et al. 1996; Grabowski et al. 2012a).

Das Ziel der Operation eines fortgeschrittenen Ovarialkarzinoms FIGO III-IV ist die Komplettresektion. Die Operation wird über eine mediane Längslaparotomie von der Symphyse bis zum Xyphoid durchgeführt. Intraoperativ werden alle tumorbefallenen Strukturen entfernt, das tumorbefallene Blasen- als auch Douglasperitoneum, bei Befall des Rektums/Sigmas wird zusätzlich das Colon sigmoideum entnommen. Hierbei ist die Entfernung des Uterus, der Adnexe beidseits und der Tuba uterina beidseits notwendig. Da bei mehr als 50 % der Patientinnen auch der Darm von dem Ovarialkarzinom befallen ist, wird meist eine Darmoperation zusätzlich durchgeführt. Der in-fragastrische Teil des Omentum majus mit Ligamentum gastrocolicum wird reseziert. Teilweise wird in diesem Zuge auch das Omentum minus entfernt. Um keinen Tumorrest zu belassen, wird häufig das parietale, teilweise auch das viszerale Peritoneum - vor allem das des Mesenteriums - sowie das Zwerchfellperitoneum reseziert. Bei Befallen wird ebenfalls auch die Resektion der Milz oder von Leberkapselmetastasen durchgeführt. In etwa 66 % der Fälle wird die Tumorfreiheit durch den Ort des Tumorbefalls eingeschränkt. Dies ist der Fall bei einem Tumorbefall der Mesenterialwurzel sowie der Dünndarmserosa. Sollte es jedoch möglich sein, eine Tumorfreiheit durch eine Darmresektion zu erlangen, sollte diese Operation durchgeführt werden (Wagner und Reuß 2019). Eine Appendektomie ist nicht zwingend notwendig, jedoch sollte insbesondere bei muzinösen oder unklaren Tumoren diese mit durchgeführt werden

(Wagner und Reuß 2019). In einer Arbeit von Heitz et al. (2016) wurden die Operationsschritte, welche in einem spezialisiertem gynäkologisch-onkologischen Zentrum (Horst-Schmidt Klinik und Klinik Essen Mitte) bei Patientinnen mit einem fortgeschrittenen Ovarialkarzinom durchgeführt wurden, dokumentiert (Tabelle 5). Bei Patientinnen mit einem fortgeschrittenem Ovarialkarzinom wird eine systematische Lymphonodektomie nicht mehr empfohlen. Zwar konnte in retrospektiven Studien gezeigt werden, dass das mediane Überleben von Patientinnen mit Komplettresektion und mit systematischer Lymphonodektomie bei 103 Monaten und bei Patientinnen mit Komplettresektion und ohne systematische Lymphonodektomie bei 84 Monaten lag ($p=0,0166$) (du Bois et al. 2010). Allerdings konnte in der prospektiven, internationalen, randomisierten LION-Studie (Harter et al. 2019) bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom, die makroskopisch tumorfrei waren, kein Vorteil der systematischen pelvinen und paraaortalen Lymphonodektomie im progressionsfreien Gesamtüberleben nachgewiesen werden. Vielmehr zeigte sich eine erhöhte postoperative Komplikationsrate bei Patientinnen mit einer systematischen Lymphonodektomie (Harter et al. 2019).

Prozedur	Gesamt N=573 (100 %)	TR0 N=382 (66,8 %)	TR1-10mm N=144 (25,1 %)	TR>10mm N=47 (8,2 %)
Becken				
Hysterektomie	548 (95,6)	382 (100)	140 (97,2)	26 (55,1)
Einseitige Adnexektomie	17 (3,0)	1 (0,3)	1 (0,7)	11 (23)
Beidseitige Adnexektomie	556(97)	381 (99,7)	143 (99,3)	32 (66)
Deperitonealisierung				
Unteres Abdomen/Becken	542 (94,6)	379 (99,2)	139 (96,5)	24 (51,1)
Mittleres Abdomen/ Para- kolische Rinne	550 (96,0)	380 (99,5)	139 (96,5)	31 (66,0)
Zwerchfell-Deperitoneali- sierung	498 (86,9)	356 (93,2)	118 (81,2)	21 (44,7)
Full Thickness Resektion	60 (10,6)	42 (11)	15 (10,7)	3 (7)
Partielle Resektion der Pa- rietal Pleura	75 (13,1)	53 (13,9)	19 (13,2)	3 (6,4)
Lymphadenektomie				
Becken	381 (66,5)	331 (86,6)	46 (31,9)	4 (8,5)
Para-Aortal	471 (72,8)	341 (89,3)	69 (47,9)	7 (14,9)
Darmchirurgie				
Dünn- und Dickdarm	72 (12,6)	52 (13,6)	20 (13,9)	0
Nur Dickdarm	353 (61,6)	247 (64,7)	93 (64,6)	13 (27,7)
Nur Dünndarm	9 (1,6)	3 (0,8)	5 (3,5)	1 (2,1)
Teilweise- oder Komplettresek- tion anderer Organe				
Omentum majus	567 (98,5)	381 (99,7)	144 (100)	42 (89,4)
Milz	201 (35)	147 (38,5)	50 (34,7)	4 (8,5)
Blase/ Harnleiter	20 (3,5)	16(4,2)	3 (2,1)	1 (2,1)
Pankreasteilresektion	13 (2,3)	8 (2,1)	5 (3,5)	0
Omentum minus	163 (28,4)	105 (27,5)	56 (38,9)	2 (4,3)
Magen	24 (4,2)	16 (4,2)	8 (5,6)	0
Leber	140 (24,4)	121 (31,7)	15 (10,4)	4 (8,5)

Tabelle 5: Operationsschritte bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom, welche tumorfrei oder mit verbleibendem Tumor operiert wurden, in Bezug auf den Tumorrest in der Horst-Schmidt-Klinik und den Kliniken Essen Mitte (Heitz et al. 2016).

4.6.1.2 Systemische Therapie

Der Umfang der primären Systemtherapie des Ovarialkarzinoms ist abhängig vom Tumorstadium. Patientinnen mit einem Ovarialkarzinom, die nach einer kompletten operativen Staging-Operation in ein FIGO-Stadium IA G1 eingruppiert werden, benötigen keine Systemtherapie. Bei Patientinnen mit den FIGO-Stadien IC oder IA/B und G3 sollte die platinhaltige Chemotherapie über sechs Zyklen durchgeführt werden. Die systemische Standardtherapie bei diesem frühen Ovarialkarzinomen bis FIGO-Stadium IIA ist die Gabe von Carboplatin AUC5; q21 (du Bois et al. 1999).

In einer Studie von Trimbos et al. (2003a) konnte bei Patientinnen, die ein Ovarialkarzinom in den FIGO-Stadien I-IIA hatten und mit einer platinhaltigen Chemotherapie behandelt wurden, im Vergleich zu den Patientinnen ohne platinhaltige Chemotherapie sowohl eine bessere Jahresüberlebensrate (75 % vs. 82 %) als auch ein längeres 5-Jahres progressionsfreies Überleben (65 % vs. 76 %) festgestellt werden (Trimbos et al. 2003b).

Patientinnen, bei denen ein fortgeschrittenes Ovarialkarzinom in den FIGO-Stadien IIB-IV diagnostiziert wurde, sollten laut der evidenzbasierten Empfehlung der S3-Leitlinie eine Primärtherapie mit sechs Zyklen Carboplatin AUC5 und Paclitaxel 175 mg/m² KOF alle drei Wochen erhalten (du Bois et al. 2003; Wagner und Reuß 2019).

In der GOG0218-Studie (Burger et al. 2011) konnte gezeigt werden, dass durch die Hinzugabe von Bevacizumab (15 mg/kg Körpergewicht), einem Angiogenesehemmer, welcher die Neubildung von Gefäßen hemmt- das progressionsfreie Überleben signifikant verlängert wurde. Bei Applikation während (ab dem 2. Zyklus) beziehungsweise nach der Chemotherapie als Erhaltungstherapie (für insgesamt 15 Monate) konnte das mediane progressionsfreie Überleben der Patientinnen von zwölf auf fünfzehn Monate verlängert werden (Burger et al. 2011). In der ICON7-Studie (Perren et al. 2011) erhielten Patientinnen sechs Zyklen Chemotherapie und 7,5 mg Bevacizumab alle drei Wochen für 12 Monate. In der Analyse wurde das mediane progressionsfreie Überleben von 22,4 Monaten auf 24,1 Monate gesteigert (Perren et al. 2011). Dabei ist zu beachten, dass es durch die Einnahme von Bevacizumab zu vermehrten hypertensiven Entgleisungen, thromboembolischen Ereignissen, Wundheilungsstörungen und spontanen Darmperforationen kommen kann (Tewari et al. 2017; Kato et al. 2018; Hambleton et al. 2004).

Daneben wurde unlängst in der SOLO-1 Studie (Moore et al. 2018) gezeigt, dass Patientinnen mit einer *BRCA*-Mutation einen Vorteil durch die Einnahme des PARP-Inhibitors Olaparib (zweimal täglich 300mg) nach Beendigung der Erstlinientherapie einer platinhaltigen Chemotherapie (angesetzt mit sechs bis neun Zyklen, jedoch mindestens vier Zyklen bei Abbruch der Therapie bei Nebenwirkungen) im Vergleich zu einer Placeboeinnahme hatten. Ausgeschlossen wurden Patientinnen, die bereits PARP-Inhibitoren eingenommen hatten oder Patientinnen, die zusätzlich zur platinhaltigen Erstlinienchemotherapie Bevacizumab erhielten. Hierbei zeigte sich, dass durch die Einnahme von Olaparib das progressionsfreie Überleben in den ersten drei Jahren bei 60 % (Olaparib) gegenüber 27 % (Placebo) lag (HR:0.30; 95 % KI:0.23 bis 0.41; $p < 0,001$) (Moore et al. 2018).

4.6.1.3 Nachsorge

In der Nachsorge der Patientin mit Ovarialkarzinom wird eine klinische Untersuchung und Beratung zur Symptomminimierung durchgeführt. So wird in den ersten drei Jahren eine vierteljährliche, in den darauffolgenden drei Jahren eine halbjährliche allgemeine gynäkologische Untersuchung mit Vaginalultraschall empfohlen. In der Nachsorge des Ovarialkarzinoms spielt der Tumormarker CA125 oft eine besondere Rolle, da ein Verlauf der Erkrankung und ein Rezidiv durch den Anstieg des Tumormarkers vorausgesehen sind. In einer Studie von Rustin et al. (2010) konnte festgestellt werden, dass Patientinnen nach einer CA125-Bestimmung und einer Therapie mittels Komplettremission keine Verbesserung der Lebensqualität und keine Verlängerung der Überlebenszeit hatten. Auch zeigte sich kein Nutzen für einen frühzeitigen Therapiebeginn bei hoch-normalen Werten. Durch den frühen Therapieeinsatz konnte das Überleben der Patientinnen nicht verlängert werden (25,7 Monate vs. 27,1 Monate HR:0,98; 95 % KI:0,80- 1,20, $p=0.85$), sondern es wurde nur die Therapiezeit verlängert. Dennoch ist die Bestimmung des Tumormarkers für viele Patientinnen nach Primär- und Rezidivtherapie ein wichtiger Faktor, um ihnen Sicherheit zu geben (Rustin et al. 2010). Aus diesem Grund empfiehlt die S3-Leitlinie die Aufklärung der Patientin hinsichtlich des Tumormarkers sowie das Fehlen von Überlebenszeitvorteilen. Diese Bestimmung sollte nur auf Wunsch der Patientinnen durchgeführt werden (Wagner und Reuß 2019). Jedoch dient die CA125-Untersuchung zur Beurteilung des Ansprechens einer Therapie. Daher wird die CA125-Bestimmung sowohl zu jedem Zyklus der

primären Chemotherapie, als auch bei further-line-Therapien, die zu einem frühzeitigen Umstellen oder einem Abbruch der Therapie führen können, durchgeführt (Wagner und Reuß 2019).

4.6.2 Rezidivtherapie

Das Wort „Rezidiv“ bedeutet das Wiederauftreten einer Erkrankung. Im Bereich der Onkologie bedeutet dies, dass es einen Nachweis eines erneuten Auftretens des selbigen Tumors gibt. Besteht nach der Erstdiagnose des Ovarialkarzinoms die begründete Chance auf eine Heilung, ist bei Auftreten eines Rezidivs das Ovarialkarzinom nicht mehr heilbar. Bis zum Jahre 2017 wurde die Rezidivsituation beim Ovarialkarzinom in zwei Stadien unterteilt. Das eine war das Frührezidiv, welches bereits während der Therapie oder innerhalb der ersten sechs Monate nach Beendigung der platinhaltigen Therapie aufgetreten ist. Hierbei handelte es sich um platinrefraktäre oder -resistente Rezidive. Die andere Gruppe waren die Spätrezidive, welche als platinsensibel klassifiziert wurden. Diese entstehen erst nach erfolgreicher Therapie durch platinhaltige Chemotherapeutika und einem frühesten Auftreten von sechs Monaten, nachdem die Chemotherapie beendet wurde (Friedlander et al. 2011). Derzeit wird darüber diskutiert, dass diese Einteilung nach platinsensibel und -resistent aufgegeben wird (Wilson et al. 2017).

4.6.2.1 Operative Therapie im Rezidiv

Damit bei einer Rezidivoperation eine prognostische Verbesserung erzielt werden kann, muss eine makroskopische Tumorfreiheit herbeigeführt werden (Harter et al. 2011b; Harter et al. 2006). Eine rezidivfreie Zeit von mehr als sechs Monaten nach dem Ende der primären Therapie sollte vor einer erneuten Operation vergangen sein. Durch den AGO-Score kann die Operabilität eingeschätzt werden. Der positive AGO-Score setzt sich zusammen aus dem ECOG-Stadium 0 der Patientin, der Tumorfreiheit in der Primäroperation und dadurch, dass sich kein Aszites (<500 ml) im Abdomen zum Zeitpunkt des Rezidivs befindet (Harter et al. 2011b). Bei der AGO DESKTOP III/ENGOT ov20 Studie handelt es sich um eine prospektive randomisierte Studie, in der Patientinnen mit einem Rezidiv nach mehr als sechs Monaten und einem positiven AGO-Score eingeschlossen wurden. Die eine Gruppe der Patientinnen erhielt ausschließlich eine Zweitlinienchemotherapie, die andere Gruppe eine Rezidivoperation gefolgt von einer platinhaltigen kombinierten Chemotherapie. Es konnte gezeigt werden, dass bei Patientinnen, die operiert wurden, in 74,2 % der Fälle makroskopische

Tumorfreiheit erzielt werden konnte. Das mediane progressionsfreie Überleben der Patientinnen, die operiert wurden, lag bei 19,6 Monaten, das mediane progressionsfreie Überleben bei den Patientinnen, die nicht operiert wurden, bei 14,0 Monaten (HR:0,66, 95 % KI:0,52-0,83, $p < 0,001$). Darüber hinaus zeigte sich ein signifikant verlängertes Gesamtüberleben von 53,7 Monaten bei Patientinnen, die operiert wurden, im Vergleich zu 46,0 Monaten, bei Patientinnen, die nicht operiert wurden (HR:0,75, 95 % KI:0,58-0,96, $p = 0,03$) (du Bois et al. 2020). Aufgrund dieser Daten sollten alle Patientinnen mit einem ersten Ovarialkarzinomrezidiv danach untersucht werden, ob eine Rezidivoperation möglich und sinnvoll ist. Auf eine Rezidivoperation muss eine systemische Therapie folgen.

4.6.2.2 Systemische Therapie

Als aktuelle Standardtherapie bei Rezidiven, bei denen eine platinhaltige Therapie keine Option ist (ehemalige platinresistente Rezidive), ist ein Monotherapeutikum einzusetzen. Zu diesen gehören folgende Chemotherapeutika: Pegyliertes liposomales Doxorubicin, Topotecan, Gemcitabin und Paclitaxel.

Bei Patientinnen mit Rezidiven, bei denen eine platinhaltige Therapie eine Option ist (ehemalige platin-sensitive Rezidive), wird mit platinhaltigen Kombinationschemotherapien therapiert. Dazu gehören folgende Zytostatika:

- Carboplatin/ Gemcitabin/ Bevacizumab
- Carboplatin/ Paclitaxel/ Bevacizumab
- Carboplatin/ Pegyliertes liposomales Doxorubicin
- Carboplatin/ Gemcitabin

Die Kombinationstherapien mit Carboplatin/ Paclitaxel (Parmar et al. 2003) beziehungsweise Carboplatin/ Gemcitabin (Pfisterer et al. 2006) zeigten ein besseres Ergebnis im Vergleich zu der Monotherapie mit platinhaltigen Zytostatika.

In den letzten Jahren werden zusätzlich immer mehr PARP-Inhibitoren zur Erhaltungstherapie nach Ansprechen des Karzinoms auf die platinhaltigen Rezidivtherapien eingesetzt.

In der Study 19 wurde das progressionsfreie Gesamtüberleben bei Patientinnen mit einer *BRCA*-Mutation und bereits zwei oder mehr vorangegangenen platinhaltigen Chemotherapien unter Einnahme von Olaparib (800mg täglich) im Vergleich zur Placeboeinnahme untersucht. Das Gesamtüberleben unter Einnahme von Olaparib lag bei 8,4 Monaten im Vergleich zu 4,8 Monaten mit der Placeboeinnahme (HR 0,35, 95 % KI: 0,25-0,49, $p < 0,001$) (Ledermann et al. 2012).

In der SOLO2-Studie (Pujade-Lauraine et al. 2017), welche Patientinnen mit *BRCA1/2*-Mutation und high-grade serösen und endometrioiden Ovarialkarzinom eingeschlossen hatte, wurde gezeigt, dass die Einnahme von Olaparib 600mg (aufgeteilt in zwei Gaben à 300 mg täglich) das progressionsfreie Überleben im Vergleich zu der Einnahme von Placebos von 5,5 Monaten auf 19,1 Monate verlängert. Weiterhin wurde in der Studie dokumentiert, dass die Einnahme von Olaparib meist nur zu niedriggradigen Nebenwirkungen führte wie Anämie (19 % vs. 2 %), Fatigue (4 % vs. 2 %) oder einer Neutropenie (5 % vs. 4 %). In der PAOLA-Studie von Ray-Coquard et al. (2019) konnte nachgewiesen werden, dass Patientinnen mit einem fortgeschrittenen Ovarialkarzinom (high-grade seröses oder endometrioides Ovarialkarzinom mit einem FIGO-Stadium III und IV) unter Erstlinientherapie mittels Bevacizumab und anschließender Erhaltungstherapie mittels Olaparib ein erhöhtes progressionsfreies Überleben hatten, als Patientinnen, die Bevacizumab und ein Placebo erhielten. Die Studiendauer verlief über 24 Monate und die Patientinnen erhielten 600 mg Olaparib (aufgeteilt in zwei Gaben à 300 mg täglich). Auch bei Patientinnen ohne eine *BRCA*-Keimbahnmutation war das progressionsfreie Überleben erhöht (medianes progressionsfreies Überleben unter Einnahme von Bevacizumab plus Olaparib vs. Bevacizumab plus Placebo: mit *BRCA*: 37,2 vs. 17,7 Monate; ohne *BRCA*: 28,1 vs. 16,6 Monate).

Auch Niraparib ist ein PARP-Inhibitor, der nach platinhaltigen Rezidivtherapien bei einem high-grade serösen Ovarialkarzinom gegeben wird. In der ENGOT-OV16/NOVA von Mirza et al. (2016) konnte eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens zwischen Patientinnen mit Niraparibeinnahme (einmal täglich 300 mg) versus Placeboeinnahme nachgewiesen werden. In der Studie wurden sowohl Patientinnen mit einem high-grade serösen Ovarialkarzinom, die eine *BRCA*-Keimbahnmutation als auch keine Keimbahnmutation hatten, eingeschlossen. Dabei wurde nachgewiesen, dass es zu einem signifikant besseren progressionsfreien Überleben mit Einnahme von Niraparib im Vergleich zu den Patientinnen mit Placeboeinnahme von 21,0 gegen 5,5 Monate in der Gruppe von Patientinnen mit *BRCA*-Mutation und 12,9 vs. 3,8 Monate in der Kohorte ohne Keimbahnmutation kam. Die Nebenwirkung während der Einnahme von Niraparib waren Thrombozytopenie (33,8 %), Anämie (25,3 %) und eine Neutropenie (19,6 %). Auch in der Studie von González-Martín et al. (2019) konnte bei Patientinnen mit einem neu aufgetretenen high-grade serösen oder endometrioiden Ovarialkarzinom mit einem FIGO-Stadium III und IV und einer Erstlinientherapie mittels Carboplatin gezeigt werden, dass es zu einem signifikant längeren progressionsfreien Überleben bei Patientinnen unter einer Erhaltungstherapie mittels Niraparib (à 300 mg

täglich, bei Patientinnen mit einem Körpergewicht von 77 kg à 200 mg täglich) kam. Sowohl bei Patientinnen mit einer *BRCA*-Mutation als auch ohne diese Mutation kam es zu einem längeren progressionsfreien Überleben (medianes progressionsfreies Überleben unter Einnahme von Niraparib vs. Placebo: mit *BRCA*: 21,9 vs. 10,4 Monate; ohne *BRCA*: 13,8 vs. 8,2 Monate).

Der postoperative Tumorrest nach der Primäroperation ist neben dem Tumorstadium der wichtigste Prognosefaktor. Die Gynecological Cancer InterGroup (GCIG) kam zu dem Konsens, dass bei der Operation die höchste Priorität auf der vollständigen Entfernung des Tumors liegt (du Bois et al. 2005).

In der S3-Leitlinie wird empfohlen, die definitive operative Therapie des Ovarialkarzinoms von einem gynäkologischen Onkologen durchführen zu lassen. Hierzu führten Rochon und du Bois (2011) eine Qualitätsstudie durch. In dieser wurden die Tumorreste der Patientinnen nach Debulking-Operationen in Studienzentren und in Nicht-Studienzentren miteinander verglichen. Ein Tumorrest größer 1 cm war in Nicht-Studienzentren bei 46 % der behandelten Patientinnen nachweisbar. Im Vergleich dazu war in den Studienzentren in 34 % der Fälle ein Tumorrest größer als 1 cm vorhanden. Darüber hinaus wurde belegt, dass die Durchführung der optimalen Operation (TR=0 oder TR<1cm) häufiger in zertifizierten Studienzentren durchgeführt wurde (OR=1,63, 95 % KI: 1.05- 2.53; p=0,032) (Rochon und du Bois 2011). In Zentren mit einer Spezialisierung auf die operative Behandlung von Ovarialkarzinomen kann eine Komplettresektionsraten von bis zu 70 % nachgewiesen werden (Heitz et al. 2016; Bristow et al. 2002). Allerdings wurde in einer Umfrage unter gynäkologischen Onkologen in Australien und Neuseeland bei 24 % der Befragten ein mangelndes Wissen über die Durchführung einer radikalen Debulking-Operation nachgewiesen (Brand 2011). Auch in den Vereinigten Staaten berichteten 1,4 % der Spezialisten, dass ihnen die Operationsschritte nicht ausreichend bekannt sind (Eisenkop und Spirtos 2001). Rodriguez et al. (2013) beschrieben in einem Artikel, dass das Erreichen der optimalen Tumorreduktion zumeist an der mangelnden Entfernung des Tumorgewebes am Zwerchfell scheitert. Durch die Weiterentwicklung der operativen Schritte kann es zu einer Verbesserung der Qualität der Operation und damit einhergehend zu einem Anstieg der Überlebensrate kommen (Harter et al. 2011a).

Zur Zertifizierung als „Gynäkologisches Krebszentrum“ durch die DKG (Deutsche Krebsgesellschaft) müssen zwar die Anzahl von Patientinnen mit verschiedenen Karzinomen angegeben und zusätzlich eine Datenbank zur Auswertung des Überlebens der Patientinnen nachgehalten werden, allerdings werden der prozentuale Tumorrest und das Überleben als Qualitätsparameter für das Ergebnis nicht als obligater und

entscheidender Zertifizierungsmarker benötigt. Im Gegensatz dazu hat die ESGO (European Society of Gynaecological Oncology) eine „Certification for Advanced Ovarian Cancer Surgery“ etabliert, bei dem nur Zentren dieses Zertifikat erhalten, die eine Mindestanzahl von fortgeschrittenen Ovarialkarzinomen behandeln und bei denen die Komplettresektionsrate bei >50 % liegt.

Hierbei sei betont, dass die Bestimmung des postoperativen Tumorrestes am Ende der Operation durch den Operateur festgelegt wird und eine extern validierbare Methode zur Überprüfung des tatsächlich verbliebenen Tumorrestes nicht gegeben ist.

In der vorliegenden Arbeit soll deshalb die Fragestellung nach einer möglichen Validierung der Tumorreste bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom untersucht werden.

Dafür werden folgende Analysen durchgeführt:

- 5.1 Retrospektive Evaluation der Höhe des CA125-Wertes vor Beginn der Chemotherapie nach Primär-Operation zur Diskriminierung zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest in zwei hoch spezialisierten gynäko-onkologischen Zentren in Deutschland
- 5.2 Validierung des diskriminierenden CA125-Cut-off zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom in zwei spezialisierten gynäko-onkologischen Zentren
- 5.3 Prospektive Evaluation der postoperativen Serum CA125- und HE4-Werte zur individuellen Beurteilung des Tumorrestes nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom
- 5.4 Prospektive Evaluation der postoperativen Aszites CA125- und HE4-Werte zur individuellen Beurteilung des Tumorrestes nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom
- 5.5 Prospektive Evaluation einer cfDNA Mutationsanalyse vor und nach Primär-Operation bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom und Komplettresektion vs. inkompletter Resektion

6.1 KEM/HSK/Charité, Einschlusskriterien, statistische Methoden zu Fragestellungen 3.1 und 3.2

In dem retrospektiven Teil der vorliegenden Promotionsarbeit wurde der postoperative beziehungsweise prächemotherapeutisch bestimmte Tumormarker CA125 als Parameter zur objektiv unabhängigen Evaluation des Tumorrests nach einer Debulking-Operation beim Ovarialkarzinom untersucht.

Für die retrospektive Untersuchung wurden Daten von 466 Patientinnen, die sich an der Klinik für Gynäkologie und gynäkologische Onkologie in den Evangelischen Kliniken Essen-Mitte gGmbH (KEM), der Klinik für Gynäkologie und gynäkologische Onkologie der Dr. Horst-Schmidt-Kliniken in Wiesbaden (HSK) sowie an der Klinik für Gynäkologie mit Zentrum für onkologische Chirurgie und Klinik für Gynäkologie an der Berliner Charité Benjamin Franklin (Charité) der Primäroperation unterzogen haben, erhoben. Eingeschlossen wurden Patientinnen, die zwischen 2000 und 2018 in einer der Kliniken behandelt wurden.

Folgende Einschlusskriterien wurden definiert: Primäre Debulking-Operation mit nachfolgender first-line Chemotherapie in einem der oben genannten Zentren. Zu den weiteren Kriterien gehörten: ein epitheliales Ovarial-, Tuben- oder Peritonealkarzinom, FIGO-III und -IV, ein bekannter und erhöhter CA125-Wert (>35 U/ml) vor der Operation sowie 14 Tage vor oder nach Beginn der first-line Chemotherapie. Folgende Parameter wurde des Weiteren erhoben: pT-Stadium, pN-Stadium, die Anzahl entfernter Lymphknoten, Tumorbefall des Peritoneums und des Zwerchfells, Tumorrest, ECOG-Status, die intraoperative Menge des Aszites (≤ 500 ml/ >500 ml) und Pleuraerguss vor der Operation. Die Operationsdauer, der Blutverlust und eine Revisionsoperation (ja/nein) wurden ebenso in die Datenbank aufgenommen. Folgende Ausschlussparameter wurden definiert: Nicht-epitheliale Karzinome, nicht-invasive Tumore, Intervall-Operationen, Notfall-Operationen und Fälle, in denen kein präoperativer und prächemotherapeutischer CA125-Wert vorlagen.

6.2 Evaluation und Validierung des diskriminierenden CA125-Cut-off zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest nach Primäroperation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom in zwei spezialisierten gynäko-onkologischen Zentren

6.2.1 Statistik

Um eine adäquate Beurteilung und Vergleichbarkeit der nicht normal verteilten CA125-Werte, die vor der Operation und vor der ersten Chemotherapie abgenommen wurden, zu erlangen, wurden die CA125-Werte dekadisch logarithmiert. Der Tumormarker CA125 ist nicht nur von der Tumorlast abhängig, sondern wird auch von anderen Faktoren beeinflusst (Jacobs; van Gorp et al. 2011; Moore et al. 2009). Deswegen wurde zur Evaluation der Assoziation von klinisch-pathologischen Faktoren mit dem präoperativen und prächemotherapeutischen CA125 primär ein univarianter Fisher's-exact-Test durchgeführt, im Anschluss ein multivariates Regressionsmodell erstellt. Mit Hilfe dieses logistischen Regressionsmodells konnte ein CA125-Cut-off Wert (CA125 vor Beginn der Chemotherapie) bestimmt werden, der zwischen Patientinnen unterscheidet, bei welchen eine Komplettresektion (TR=0) und bei welchen keine Komplettresektion (TR>0) erreicht wurde.

Der Datensatz aus den KEM und der HSK (n=330) wurde als Trainings- und der Datensatz der Charité (n=136) als Validierungskohorte verwendet.

Die abhängige Variable „Tumorrest (TR)“ wurde in der Regressionsgleichung wie folgt definiert:

$$TR = \text{Regressionskonstante} + \text{Regressionskoeffizient } C1 * \text{Einflussfaktor } 1 \\ + \text{Regressionskoeffizient } B2 * \text{Einflussfaktor } 2 \dots$$

Mittels der Regressionsgleichung aus der Trainingskohorte der KEM und der HSK konnte eine vorhergesagte Wahrscheinlichkeit ermittelt werden. Die vorhergesagten Werte wurden mit den tatsächlichen Werten aus der zweiten Stichprobe (Charité) verglichen und mit Hilfe einer einfachen Regression wurde das Bestimmtheitsmaß R^2 berechnet. Im zweiten Schritt wurden die Daten der beiden Stichproben umgekehrt. Es wurde erneut eine Kreuzvalidierung mittels multipler Regression durchgeführt. Die Berechnung erfolgte mit der oben genannten Regressionsgleichung.

6.3 Durchführung der prospektiven Analyse zu den Fragestellungen 3.3 bis 3.5

6.3.1 Studienprotokoll, Einschlusskriterien

Die Tumormarker CA125 und HE4 sind etablierte Tumormarker im Bereich der Nachsorge und Differentialdiagnose des Ovarialkarzinoms. Die Wertigkeit des CA125 zur objektiven Bestimmung des Tumorrestes nach einer Debulking-Operation wurde im ersten retrospektiven Teil der vorliegenden Arbeit untersucht. Aufgrund der eingeschränkten Sensitivität und Spezifität des CA125 aus dem Serum als objektives Maß für die Bestimmung des Tumorrestes wurden in dem hier beschriebenen prospektiven Teil der Studie neben dem CA125 auch das HE4 untersucht, beides sowohl im Serum als auch im Aszites der eingeschlossenen Patientinnen. Außerdem wurde untersucht, ob es genauere Quantifizierungen hinsichtlich der Zuverlässigkeit zur Bestimmung des Tumorrestes gibt. Hierzu wurde die *liquid biopsy*-Methode hinzugenommen. Ziel der vorliegenden proof-of-concept Studie war, 20 Patientinnen mit fortgeschrittenen high-grade serösen Karzinomen, die in den KEM operiert wurden, aufzunehmen. 10 Patientinnen sollten keinen Tumorrest aufweisen und bei 10 Patientinnen sollte Tumorrest verblieben sein. Schlussendlich erfolgte sowohl eine longitudinale Evaluation der Tumormarker als auch der *liquid biopsy* im perioperativen Verlauf. Dadurch sollte determiniert werden, ob es einen Unterschied in den Tumormarkerverläufen als auch in der *liquid biopsy* zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest gab.

Folgende Einschlusskriterien mussten erfüllt sein: Patientinnen, die bei V.a. ein primär fortgeschrittenes high-grade seröses oder bereits gesichertes Ovarialkarzinom operiert wurden, unterschriebene Patienteneinwilligung und Patientin ≥ 18 . Lebensjahr.

Folgende Ausschlusskriterien galten: Patientinnen nicht einwilligungsfähig, Incompliance der Patientin. Im Zeitraum zwischen Februar bis Oktober 2016 wurden 31 Patientinnen nach schriftlicher Einverständniserklärung in die Studie aufgenommen. Sekundär wurden aufgrund der erst postoperativ determinierten histologischen Diagnose, elf Patientinnen ausgeschlossen- acht Patientinnen aufgrund der nicht high-grade serösen Histologie des Tumors beziehungsweise deren Entitäten und zwei Patientinnen aufgrund eines Frühstadiums der Erkrankung. Eine weitere Patientin widerrief am Tag 4 die Einwilligung zu der Untersuchung. In **Abbildung 4** wird verdeutlicht, dass am Tag 10 bereits fünf der 31 Patientinnen entlassen worden waren, wobei drei dieser Patientinnen ein high-grade seröses Ovarialkarzinom hatten. Außerdem konnte bei zwölf der Patientinnen die *liquid biopsy* vor der Chemotherapie analysiert werden. Nach der Chemotherapie wurden zwei *liquid biopsies* untersucht. Ein weiterer Fall

wurde nicht weiter analysiert, da die FFPE-Genotypisierung Mutationen in *ARID1A* und *RAD50* ergab. Diese Gene waren nicht in dem Gen-Panel für die *liquid biopsy* enthalten, weshalb diese Mutationen in der cfDNA nicht weiter untersucht werden konnten.

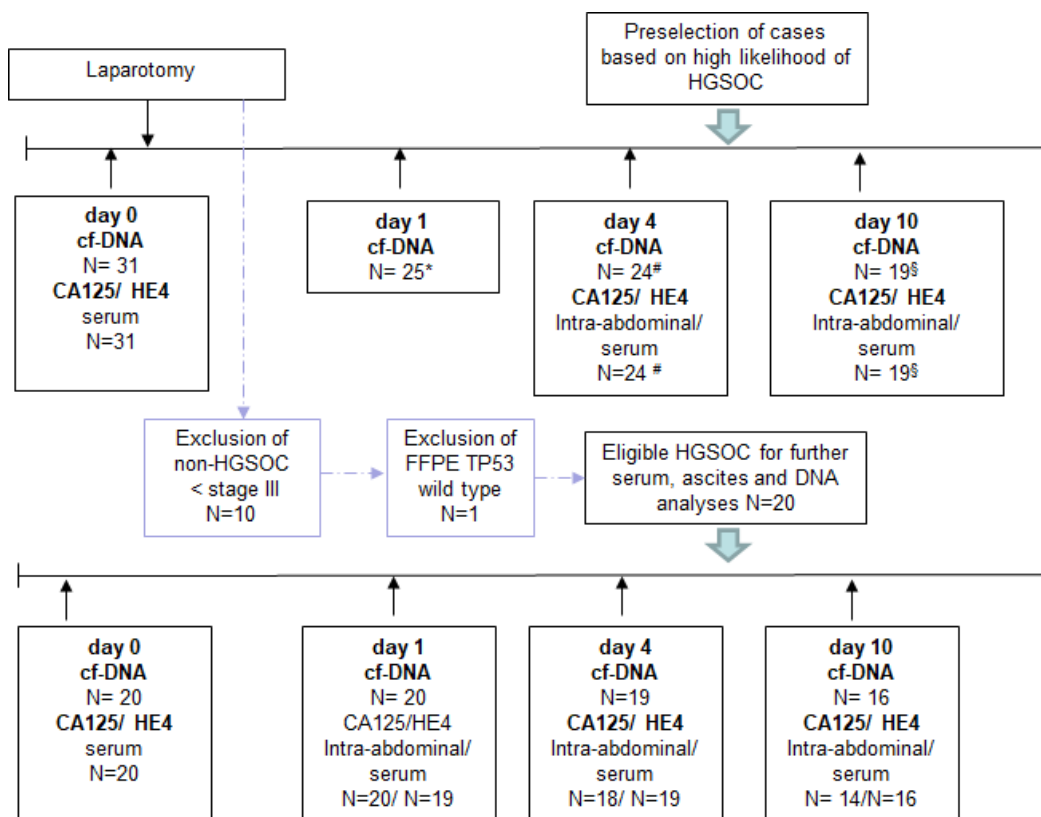


Abbildung 4: Zeitplan, Arbeitsablauf und Anzahl der zu jedem Zeitpunkt verfügbaren Proben. Schlussendlich waren 10 Patientinnen mit vollständiger Resektion und 10 Patientinnen mit Resterkrankung eingeschlossen. CTX= Chemotherapie (6 Patientinnen mussten zu folgenden Zeitpunkten aus folgenden Gründen ausgeschlossen werden: 1 Endometrioides Ovarialkarzinom, 5 gutartige Erkrankungen, 1 Patientin zog die Studienteilnahme zurück).

6.3.2 Ethikvotum

Zur Durchführung dieser prospektiven Studie wurde ein Ethikvotum der Ethikkommission der Landesärztekammer Nordrhein eingeholt. Die Studie wurde nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki aus dem Jahre 1964 ausgeführt und durch das positive Votum der Ethikkommission der Landesärztekammer Nordrhein, Deutschland, unterstützt (Nr.:2015377).

6.3.3 Untersuchungszeitpunkte/ Untersuchungsmaterialien

Bei den in der Studie eingeschlossenen Patientinnen wurden am Tag der Operation oder einen Tag vorher sowie an den postoperativen Tagen 4 und 10 sowohl Blut als auch Aszites untersucht. An den Tagen 1 und 7 wurde nur Aszites entnommen. Es

wurden Blutentnahmen sowohl am ersten als auch am letzten Tag der Chemotherapie durchgeführt, um dieses Blut nach den Tumormarkern (CA125 und HE4) und auch nach der frei zirkulierenden Tumor-DNA zu untersuchen (Abbildung 5).

Die Untersuchung der Tumormarker wurde über die Abnahme der herkömmlichen Standard-Serumröhrchen (Sarstedt, S-Monovette®, Bestell-Nr.: 01.1602) durchgeführt. Für die weitere Diagnostik des Tumormarkes HE4 wurden die Proben an das Labor Eberhard & Partner in Dortmund versandt, welche die Tumormarker durch das Verfahren nach Roche verifizierten.

Für die *liquid biopsy* wurde den Patientinnen jeweils eine 18-20 ml Spritze mit Blut entnommen. Das Blut wurde in zwei der eigens dafür vorgefertigten Vakuümröhrchen (je 9-10 ml) befüllt (Streck Cell-Free DNA BCT CE 10ml, Katalog-Nr.:218997). Diese wurden am selben Tag spätestens jedoch am Folgetag an das Labor NEW Oncology GmbH in Köln, welches die Diagnostik übernommen hat, versandt. Die Röhrchen wurden bei Raumtemperatur gelagert und verschickt. Bis zur histo-pathologischen Diagnosestellung eines high-grade serösen Karzinoms wurde die DNA asserviert. Darüber hinaus wurde Tumorgewebe bei der Debulking-Operation gesammelt, in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. **Abbildung 4** zeigt die Zeitleiste der Probesammlung. Aufgrund der signifikanten Anzahl von Patientinnen, die in der Nachuntersuchung verloren gingen, und des Fehlens von Messungen für Serummarker am ersten und letzten Tag der Chemotherapie, wurden diese Proben von den Analysen ausgeschlossen.

Projekt: Ca125 als prädiktiver Marker für post-operativen Tumorrest

Namensaufkleber

Patientinnennummer: _ _ _

Datum der Primär-Op: _____

Post OP-Tag	Drainagemenge (ml)/24h	Ca-125 Serum	Ca-125 Aszites	HE4 Serum	HE4 Aszites	Liquid biopsy Tumor	Liquid biopsy Plasma
OP-Tag (.)							
1 (.)	_____ ml Blutig: <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein						
4 (.)	_____ ml Blutig: <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein						
7 (.)	_____ ml Blutig: <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein						
10 (.)	_____ ml Blutig: <input type="checkbox"/> Ja <input type="checkbox"/> Nein						
Tag der Entlassung (.)							
Chemotherapie bei uns <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein, wenn nein:							
Wo?: _____				Telefonnummer: _____			
1.Chemotag (.)							

Studienprobe: _____

Intubationszeit: _____
 Schnitt: _____
 Entnahmezeit: _____
 Frozenzeit: _____

Abbildung 5: Zeitablauf; hellblau: Abnahmetage der einzelnen Parameter.

6.3.4 Tumormarkeranalyse

6.3.4.1 Zentrale CA125-Analyse

Die CA125-Analyse wurde in der Routinediagnostik des klinikinternen Labors mit Hilfe des von Roche hergestellten Elecsys CA125-Tests durchgeführt. Dies ist ein Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA). Die Ergebnisse werden je nach Labor in U/ml, U/l oder kU/l angezeigt. Für diese Untersuchungen wurde die Einheit U/ml genutzt. Der Messbereich dieses Nachweisverfahrens liegt bei 0,6-5.000 U/ml. Der Referenzwert für den Tumormarker CA125 befindet sich bei 35 U/ml (Roche 2016a).

6.3.4.2 Zentrale HE4-Analyse

Die HE4-Analyse wurde in der Routinediagnostik des klinikinternen Labors mit Hilfe des von Roche hergestellten Elecsys HE4-Tests durchgeführt, der ebenfalls ein ECLIA ist. Der Tumormarker HE4 ist ein Protein mit dem Namen Humanes Epididymis Protein 4, das zu Familie der whey-acidic-four-disulfide-core (WFDC)-Proteine gehört. Dieses Protein hat Ähnlichkeiten zu Trypsininhibitoren und eine Gesamtgröße in glykosylierter Form von 20-25 kDa, welches aus Peptidketten mit jeweils zwei der WFDC-Bereiche

besteht. Die Ergebnisse der Tumormarkerproben wurde in pmol/L angegeben (Roche 2016b).

6.4 Prospektive Evaluation einer cfDNA Mutationsanalyse vor und nach Primär-Operation bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom und Komplettresektion oder inkompletter Resektion

Sicherung der Diagnose des high-grade serösen Ovarialkarzinoms

Die histo-pathologische Diagnose eines high-grade serösen Ovarialkarzinoms wurde durch die Untersuchung im Rahmen der konventionellen histopathologischen Aufarbeitung gestellt. Die Expression von p53 wurde immunhistochemisch determiniert. Die Antikörperreaktion wurde mit dem UltraView DAB-Kit (Ventana) durchgeführt. Die Immunreaktionen der Antikörper p53 (DO-7), WT-1 (6F-H2), p-16 (E6H4), CK7 (SP52) und PAX-8 (MRQ-50) (alle von Roche Diagnostics bezogen) wurden semi-quantitativ analysiert.

6.4.1 Probenvorbereitung der cfDNA Mutationsanalyse

Die cfDNA wurde aus den Proben (100µl Plasma) mittels eines DNA-Extractor SP-Kit (Wako cat #296-60501) isoliert. Für diese Isolation der cfDNA wurden mehrere Enzymreaktionslösungen, Proteinverdauungslösungen, Wasser, Alkohol- und Waschlösungen benötigt. Durch mehrmalige Inkubation, Zentrifugation und Entfernung von Überständen konnte die cfDNA aus dem Plasma gelöst werden. Die cfDNA wurde mit ultrareinem Wasser verdünnt und mit dem NanoDrop 2000C (Thermo Scientific) und dem Promega Quantifluor ONE dsDNA Fluoreszenz Assay (Promega) quantifiziert.

Um die Qualität der Aussagekraft der cf-DNA zu beurteilen, wurde korrespondierende Tumor-DNA isoliert und untersucht. Der Anspruch an das gefrorene Tumorgewebe war eine Schichtdicke von 20 µm, ein durchschnittliches Gewicht von 75 µg sowie eine Oberfläche von 1,15 cm². Um die DNA aus dem Tumorgewebe zu isolieren, wurde das USB-PrepEase Geomic DNA-Isolation Kit (Affymetrix) gemäß dem Herstellerprotokoll verwendet. Dies erfolgte mittels mehrerer Puffer- und unterschiedlicher Alkohollösungen. Unter Zentrifugation und Inkubation konnte die DNA aus dem Tumorgewebe gewaschen werden.

Diese Tumor-DNA wurde ebenfalls mit ultrareinem Wasser verdünnt und mit NanoDrop 2000c (Thermo Scientific) und Promega Quantifluor ONE dsDNA Fluorescence Assay (Promega) quantifiziert.

6.4.2 *Liquid biopsy*

Die Blutabnahme zur *liquid biopsy* wurde an den KEM durchgeführt und bei der NEO Oncology GmbH Köln weiter analysiert. Die genomische DNA wurde aus dem FFPE-Material extrahiert, geschert (Covaris) und einer Hybrid-Capture-basierten Sequenzierung der nächsten Generation unterzogen. Ziel war es, Punktmutationen, kleine Insertionen und Deletionen, Änderungen der Kopiezahl und genomische Translokationen in einem Assay (NEOplus-Assay) nachzuweisen (Tabelle 6).

Das Vollblut (je 18 ml) wurde in Streck-Röhrchen (Cell-Free DNA BCT, Streck, Ref. 218997) gesammelt. Auch die cfDNA wurde einer Hybrid-Capture-basierten Sequenzierung der nächsten Generation unterzogen, um auch hier Punktmutationen, kleine Insertionen und Deletionen, Änderungen der Kopiezahl und genomische Translokationen in einem Assay (NEOliquid Assay V2) (beide NEO New Oncology GmbH, Köln, Deutschland) nachzuweisen (Tabelle 7). Nach der cfDNA-Extraktion wurden die Adapter ligiert und einzelne interessierende Genomregionen unter Verwendung komplementärer Sequenzen (Hybrid-Capture) angereichert. Die ausgewählten Sequenzen gewährleisteten eine optimale Abdeckung aller relevanten Genomregionen. Nach der Anreicherung wurden Zielfragmente amplifiziert (klonale Amplifikation) und bei hoher Sequenzierungstiefe parallel sequenziert. Die weitere Aufschlüsselung wurde mit einem von NEO New Oncology entwickelten Programm für die Analyse der Computerbiologie durchgeführt, um relevante genomische Veränderungen quantitativ zu erfassen. Da die Hauptaufgabe der Studie in der Untersuchung des Vorhandenseins und der Dynamik von Krebsgenotypen im Blut bestand, wurden nur genomische Veränderungen bewertet, die sowohl in dem NEOliquid-Panel als auch zum Teil in den NEOplus-Gen-Panels aufgeführt waren. Somatische Mutationen, einschließlich kleiner Indels (Zusammenführungen von Insertion und Deletionen), wurden schrittweise identifiziert. Es wurden die Varianten als exonische Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) ausgeschlossen, wenn sie in den Genomdatenbanken dbSNP, ESP6500 und 1K vorhanden waren. Zusätzliche Varianten der Keimbahn wurden herausgefiltert, indem die MAF (geringe Allelfrequenz) in den FFPE und in den entsprechenden *liquid biopsy* Proben verglichen wurden. Die Varianten mit MAF im Bereich von 50 % oder 100 % in den *liquid biopsy* Proben hatten höchstwahrscheinlich keinen somatischen Ursprung und wurden daher ausgeschlossen. In allen Fällen unterschieden sich die MAF solcher Varianten deutlich von krebsbedingten Mutationen.

ABL1	BRCA2	CTNNB1	GNAI2	MAP2K2	PDGFRB	ROS1
AKT1	BRD4	DDR2	GNAQ	MDM2	PIK3CA	RPTOR
ALK	BRIP1	EGFR	GNAS	MET	PIK3R1	SMO
APC	CCND1	EML4	GNAT2	MTOR	POLD1	STK11
AR	CCNE1	ERBB2	HRAS	MYC	POLE	TERT
ARAF	CD274	ERBB3	IDH1	MYCL1	PRKDC	TP53
ARID1A	CD74	ESR1	IDH2	MYCN	PTCH1	TP53BP1
ARID1B	CDH1	FBXW7	JAK2	NF1	PTEN	TSC1
ATM	CDK4	FGFR1	KDR	NFE2L2	RAD50	TSC2
ATR	CDK6	FGFR2	KEAP1	NRAS	RAD51	VHL
B2M	CDKN2A	FGFR3	KIF5B	NRG1	RAF1	
BCL6	CDKN2B	FGFR4	KIT	NTRK1	RB1	
BRAF	CHEK1	GNA11	KRAS	PALB2	RET	
BRCA1	CHEK2	GNA13	MAP2K1	PDGFRA	RICTOR	

Tabelle 6: Gene, die in dem NEOplus Panel für Gewebe DNA-Analyse (FFPE) inkludiert sind.

ALK	CDKN2A	FGFR3	MDM2	RB1
ARAF	CDKN2B	HRAS	MET	RET
ATM	CTNNB1	IDH1	MTOR	ROS1
ATR	DDR2	IDH2	NFE2L2	STK11
BRAF	EGFR	KEAP1	NRAS	TP53
BRCA1	ERBB2	KIT	PDGFRA	TSC1
BRCA2	FGFR1	KRAS	PIK3CA	TSC2
CDK4	FGFR2	MAP2K1	PTEN	

Tabelle 7: Gene, die in dem NEOliquid Panel für cfDNA-Analyse inkludiert sind.

6.4.3 Statistik

Die statistische Analyse erfolgte mit dem Programm R (Version 3.4). Die Messung der wiederholten Varianzanalyse wurde mittels ANOVA durchgeführt. Zur Berechnung der chirurgisch-dynamischen Reaktion wurden Veränderungen der Biomarker (*TP53* MAF und Serum/Aszites von CA125 und HE4) über den Untersuchungszeitraum bewertet. In dieser Untersuchung wurde jeweils *eine liquid biopsy* Probe pro Patientin (zu Studienbeginn und an den postoperativen Tagen 1, 4 und 10) auf die MAF analysiert und jede Messung einmal wiederholt. Die Operation wurde als Interventionsverfahren definiert und als eine chirurgisch-dynamische Reaktion (SDR = surgery dynamic response) analog zu einer pharmako-dynamischen Reaktion (PD = pharmacodynamic response) auf der Patientenebene durchgeführt, wie von Murgo, Rubinstein und Kollegen vorgeschlagen (DeSantis et al. 2014; Chi et al. 2007). Aufgrund von Einzelproben-Tests zu Studienbeginn wurde die natürliche Variation für den Test anhand der Inter-Patienten Varianz der Baselinewerte angenommen. Nach der natürlichen Logarithmustransformation (\ln) der Daten wurde die Inter-Patienten Grundlinienvarianz zwischen den Patientinnen berechnet. Die Baseline-Standardabweichung (SD) war die Quadratwurzel dieser Varianz. Der gemessene longitudinale Biomarkerspiegel nach der Operation (an den postoperativen Tagen 1, 4 und 10) wurde von den Werten der Inter-Patienten Grundlinienvarianz abgezogen. Eine statistisch signifikante Verringerung der Biomarkeraktivität wurde bei einem einseitigen Signifikanzniveau von 0,1 und 0,05 angenommen, wenn die Änderung gegenüber dem Ausgangswert für jede Patientin das 1,8-fache beziehungsweise das 2,3-fache der Baseline-Standardabweichung überschritt. Bei der Untersuchung wurden keine weiteren Relevanzkriterien verwendet (Murgo et al. 2008; Rubinstein et al. 2010).

7.1 Retrospektive Evaluation von klinischen Einflussfaktoren auf die Höhe des CA125-Wertes vor der Operation und vor Beginn der Chemotherapie

Ziel dieser Analyse war zu klären, inwiefern es möglich ist, mit Hilfe des routinemäßig bestimmten CA125-Wertes vor Beginn der Chemotherapie den während der Operation erzielten Debulking-Status (Tumorrest=0, oder Tumorrest>0) zu objektivieren. Hierzu wurden die Analysen der Daten aus der KEM/HSK und der Charité herangezogen.

In **Tabelle 8** sind die Patientencharakteristika der eingeschlossenen Patientinnen aufgeführt. Aus der Charité konnten 136 Patientinnen in die Analyse eingeschlossen werden. Aus den KEM und HSK waren es 330 Patientinnen, sodass für die Untersuchung insgesamt 466 Patientinnen eingeschlossen wurden. Im Vergleich der Patientencharakteristika zwischen den beiden Kliniken zeigte sich, dass das Alter der Patientinnen in beiden Kliniken gleich hoch war, im Mittelwert bei 58 Jahren und im Median bei 59 Jahren. Die histologischen Subgruppen sowie die Aszitesmenge vor der Operation zeigten in beiden Kohorten keinen Signifikanzunterschied (Histologie: $p=0,680$; Aszitesmenge: $p=0,738$). 81,6 % der eingeschlossenen Patientinnen aus der Charité waren im FIGO-Stadium III und 18,4 % im FIGO-Stadium IV diagnostiziert worden. In den KEM/HSK war die Verteilung der FIGO-Stadien annähernd ausgeglichen (FIGOIII 56,1 %, FIGOIV 43,9 %), sodass diesbezüglich ein bedeutsamer Unterschied zwischen den beiden Zentren vorlag ($p<0,001$). Der CA125-Mittelwert der Patientinnen aus der Charité vor der Operation lag bei 1.416 U/ml, der CA125-Median bei 518 U/ml und der logarithmierte CA125-Wert bei 2,7. In den KEM/HSK lag der CA125-Mittelwert vor der Operation bei 1.426 U/ml, der Median bei 543 U/ml und der logarithmierte Wert bei 2,7. In der Summe ergab sich kein statistisch bedeutsamer Unterschied des präoperativen CA125 zwischen Charité und HSK/KEM ($p=0,356$) (**Abbildung 6**). Postoperativ kam es in der Charité zu einem Abfall des CA125-Mittelwertes auf 635 U/ml (CA125-Median: 153 U/ml; logarithmierter CA125-Wert: 2,1). Im Vergleich fiel der postoperative CA125-Mittelwert in den KEM/HSK auf 420 U/ml (CA125-Median: auf 135 U/ml; logarithmierter CA125: 2,1). Auch fand sich hier in der Summe kein statistisch bedeutsamer Unterschied der postoperativen CA125-Werte zwischen Charité und HSK/KEM ($p=0,372$) (**Abbildung 7**). Die Höhe des Tumormarkers CA125 ist nicht nur von der Tumormasse abhängig, sondern auch von weiteren klinisch-pathologischen Faktoren.

Um die Wertigkeit der Tumormasse auf die Höhe des CA125 von der Wertigkeit weiterer klinisch-pathologischer Parameter zu differenzieren, wurde ein univariater Fishers exact Test, zum einen an dem präoperativen und zum anderen an dem prächemotherapeutischen CA125, durchgeführt. Folgende Parameter waren bedeutsam mit der Höhe des präoperativen CA125 assoziiert: FIGO-Stadium, pT-Stadium, pN-Stadium, Histologie, Aszites (Tabelle 9).

Auch die Höhe des prächemotherapeutischen CA125 war bedeutsam mit folgenden klinisch-pathologischen Parametern assoziiert:

FIGO-Stadien, T-Stadium, pN-Stadium, der Histologie, Aszites und dem Tumorrest.

Alter MW(SD); Median(range)	58 (11); 59 (29-84)	59 (12); 59 (18-86)	58,5 (12); 59 (18-86)	0,296
FIGO				<0,001
III	211 (81,6)	185 (56,1)	296 (63,5)	
IV	25 (18,4)	145 (43,9)	170 (36,5)	
pT				0,183
1-3a	15 (11)	26 (7,9)	41 (8,8)	
3b	14 (10,3)	53 (16,1)	67 (14,4)	
3c	107 (78,7)	251 (76,1)	358 (76,8)	
pN				0,674
0	33 (24,3)	71 (21,5)	104 (22,3)	
1	76 (55,9)	199 (60,3)	275 (59)	
x	27 (19,9)	60 (18,2)	87 (18,7)	
Histologie				0,680
HGS	111 (81,6)	283 (85,8)	394 (84,5)	
LGS	6 (4,4)	17 (5,2)	23 (4,9)	
HGE	8 (5,9)	12 (3,6)	20 (4,3)	
Mischtyp	2 (1,5)	5 (1,5)	7 (1,5)	
Klarzellig	2 (1,5)	4 (1,2)	6 (1,3)	
Sonstige	7 (5,1)	9 (2,7)	16 (3,4)	
Aszites ml				0,738
<500	81 (59,6)	191 (57,9)	272 (58,4)	
≥500	55 (40,4)	139 (42,1)	194 (41,6)	
Peritoneum				<0,001
Nein	40 (29,4)	19 (5,8)	59 (12,7)	
Ja	96 (70,6)	311 (94,2)	407 (87,3)	
Zwerchfell				<0,001
Nein	104 (76,5)	144 (43,6)	248 (53,2)	
Ja	32 (23,5)	186 (56,4)	218 (46,8)	

TR				0,472
0	92 (67,6)	206 (62,4)	298 (63,9)	
1-10 mm	31 (22,8)	81 (24,5)	81 (24,5)	
>10 mm	13 (9,6)	43 (13)	43 (13)	
CA125 vor Operation nativ				0,356
MW(SD)	1416 (2037)	1426 (3058)	1423 (2797)	
Median(range)	518 (8-11098)	543 (2-31626)	537 (2-31626)	
Log10	2,7 (0,6)	2,7 (0,7)	2,7 (0,7)	0,247
CA125 nach Operation nativ				0,372
MW(SD)	635 (4201)	420 (1318)	483 (2522)	
Median(range)	153 (6-49077)	135 (5-16400)	142 (549077)	
Log10	2,1 (0,5)	2,1 (0,5)	2,1 (0,5)	0,571

Tabelle 8: Charakteristika von Patientinnen mit entsprechenden Einschlusskriterien (HGS= High-grade serös, LGS= Low-grade serös, HGE= High-grade endometrioide, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung).

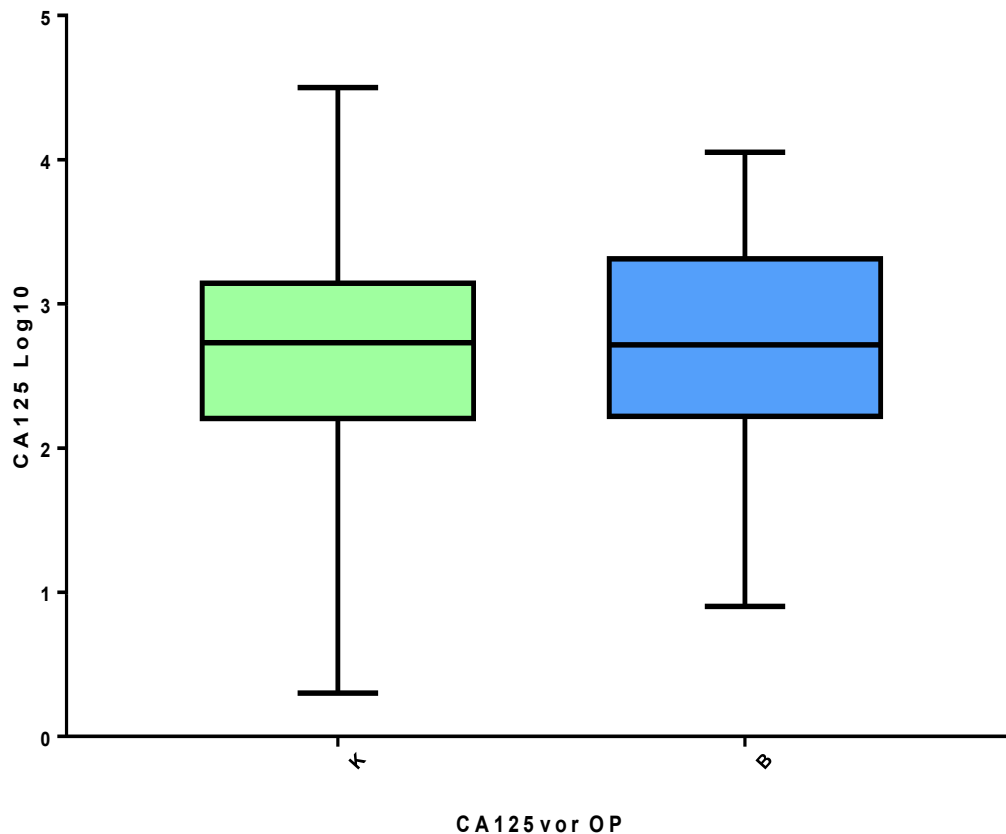


Abbildung 6: Verhältnis des logarithmierten CA125 vor der Operation im Vergleich zwischen den beiden spezialisierten Zentren der HSK/KEM (K) und Charité Universität Berlin (B).

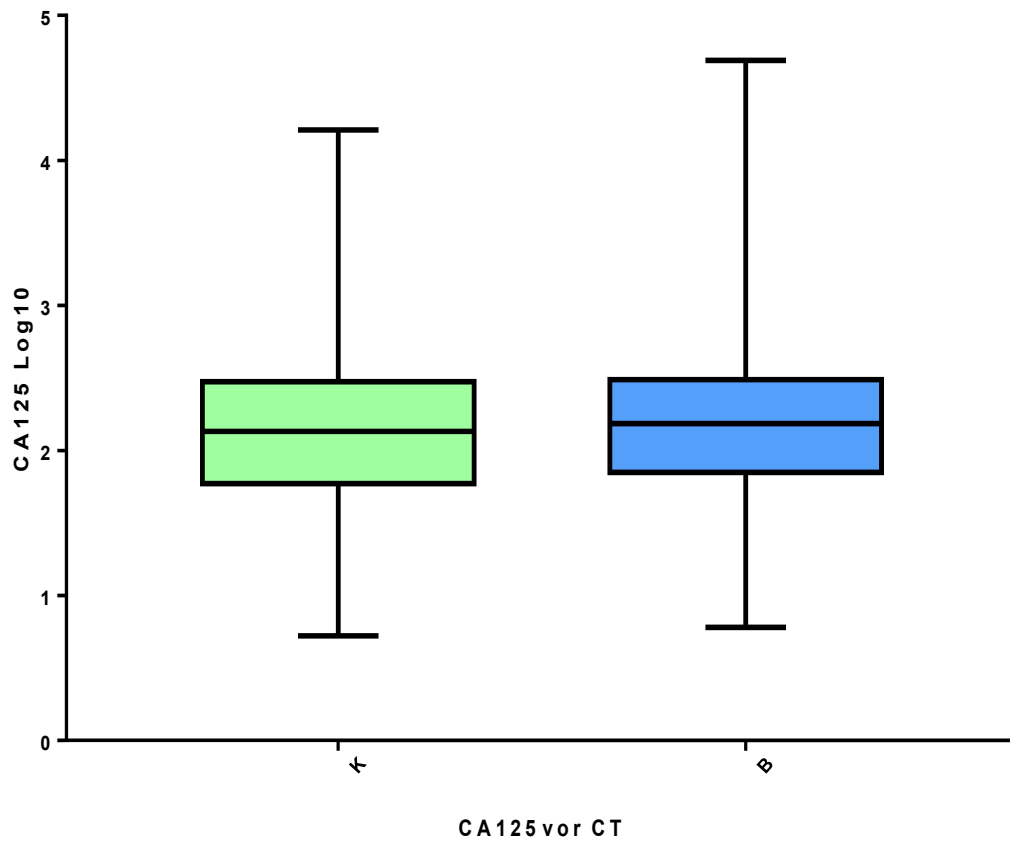


Abbildung 7: Verhältnis des logarithmierten CA125 nach der Operation im Vergleich zwischen den beiden spezialisierten Zentren der HSK/KEM (K) und Charité Universität Berlin (B).

Variable	CA125Log10PräOP N=466	P ↓	CA125Log10PräCT N=466	P ↓
Alter (Jahre)		0,475		0,956
<60	2,65 (0,71)		2,16 (0,57)	
≥60	2,70 (0,66)		2,16 (0,57)	
FIGO		0,008		0,007
III	2,61 (0,73)		2,21 (0,54)	
IV	2,79 (0,59)		2,25 (0,59)	
T-Stadium		<0,001		<0,001
1-3a	2,36 (0,81)		1,93 (0,59)	
3b	2,35 (0,79)		1,99 (0,43)	
3c	2,77 (0,62)		2,21 (0,57)	
N-Status		<0,001		<0,001
0	2,44 (0,65)		1,96 (0,47)	
1	2,71 (0,70)		2,16 (0,56)	
X	2,85 (0,59)		2,35 (0,62)	
Histologie		<0,001		0,028
HGS	2,73 (0,68)		2,18 (0,56)	
sonstige	2,39 (0,67)		2,02 (0,59)	
Aszites		<0,001		<0,001
<500	2,43 (0,56)		2,07 (0,53)	
>500	3,02 (0,66)		2,28 (0,60)	
TR mm		<0,001		<0,001
TR0	2,56 (0,71)		2,03 (0,51)	
TR 1-10	2,88 (0,58)		2,26 (0,56)	
TR>10	2,88 (0,61)		2,59 (0,61)	
Peritoneum		0,776		0,151
Nein	2,65 (0,68)		2,25 (0,60)	
Ja	2,68 (0,69)		2,14 (0,56)	
Zwerchfell-Operation		0,001		0,986
Nein	2,58 (0,72)		2,15 (0,58)	
Ja	2,79 (0,63)		2,15 (0,55)	
Operations-Dauer (Minuten)		0,072		0,234
<325	2,57 (0,70)		2,18 (0,57)	
>325	2,72 (0,71)		2,11 (0,58)	
Revision		0,306		0,215
Nein	2,64 (0,71)		2,16 (0,56)	
Ja	2,77 (0,58)		2,03 (0,67)	

Tabelle 9: Einflussfaktoren auf den präoperativen und prächemotherapeutischen CA125-Wert bestimmt durch den Fisher's exact Test (CA125 logarithmiert) (Prä-OP = Präoperativ, Prä-CT = Vor der Chemotherapie, HGS= High-grade serös)

7.2 Evaluation und Validierung eines diskriminierenden CA125-Cut-offs zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom in zwei spezialisierten gynäko-onkologischen Zentren

In 5.1 wurden klinisch-pathologische Faktoren bestimmt, die neben dem Tumorrest Einfluss auf den prächemotherapeutischen Tumormarker CA125 haben. In der Folge wurde nun die Evaluation eines prächemotherapie-CA125-Cut-Off Werts, welcher zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest unterscheiden soll (unter der Voraussetzung, dass auch weitere klinisch-pathologische Parameter die Höhe des CA125-Wertes beeinflussen), durchgeführt. Dazu wurde ein multiples Regressionsmodell erstellt. Als zusätzlich beeinflussender klinisch-pathologischer Parameter wurden die unter 5.1 bestimmten Faktoren eingefügt. Da sowohl das pT- als auch das pN-Stadium im FIGO Stadium abgebildet sind, wurden diese beiden Parameter nicht in das Modell mit aufgenommen. Darüber hinaus wurde das Modell in einem Trainingsset evaluiert (Kollektiv der HSK/KEM) und in dem Kollektiv der Charité validiert.

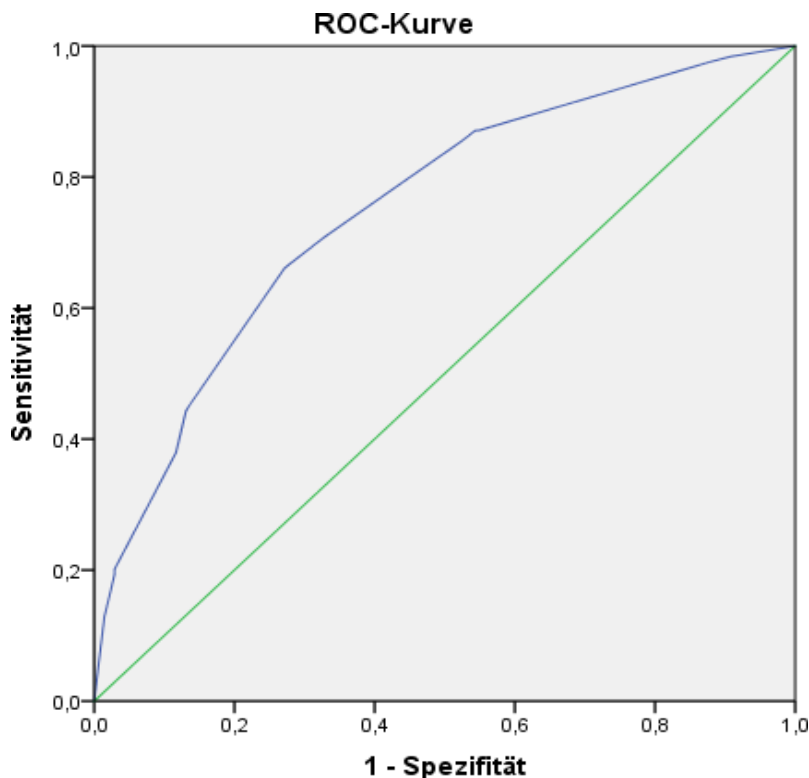
Trainingsset KEM/HSK:

Der prächemotherapie CA125-Cut-Off Wert mit der signifikantesten Trennung zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest lag bei 2,6 (logarithmiert) (nativ CA125 ~400 U/ml) im Trainingsset KEM/HSK. Der CA125-Cut-off Wert vor Beginn der Chemotherapie war auch in dem Regressionsmodell signifikant mit dem Tumorrest ($p < 0,001$), dem histologischen Typ des high-grade serösen Karzinoms ($p = 0,041$, Regressionskoeffizient=0,837), einer Aszitesmenge über 500 ml ($p = 0,001$, Regressionskoeffizient=1,308) sowie dem FIGO Stadium ($p = 0,01$, Regressionskoeffizient=0,649) assoziiert (Tabelle 10).

		Regressionskoeffizient B	Sig.	OR	95 % KI	
					Unterer Wert	Oberer Wert
Schritt 1 ^a	HGS (1)	,837	,041	2,310	1,036	5,150
	Aszites (1)	1,308	,000	3,698	2,253	6,071
	FIGO_Auswert (1)	,649	,010	1,914	1,164	3,147
	CA125 =>2.6(400)	1,287	,000	3,622	1,887	6,953
	Konstante	-2,376	,000	,093		

Tabelle 10: Kreuzvalidierung der Trainingssets der CA125-Cut-off Wertes mittels multipler Regression in Bezug auf die Variable Tumorrest an den Kliniken Essen Mitte (OR= Odds Ratio, KI= Konfidenzintervall, HGS= High-grade serös).

In der ROC-Kurve wurde der CA125-Cut-off Wert mit der Sensitivität und 1-Spezifität aufgetragen. Der CA125-Cut-off Wert von 2,6 vor Beginn der Chemotherapie definierte damit eine Area under the curve (AUC) von 0,75 mit einem Standardfehler von 0,028 (Abbildung 8, Tabelle 11).



Diagonale Segmente ergeben sich aus Bindungen.

Abbildung 8: ROC-Kurve für den CA125-Cut-off Wert 2,6 an den Kliniken Essen Mitte.

Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95 % KI	
			Untergrenze	Obergrenze
,750	,028	,000	,696	,804

Tabelle 11: Berechnung der AUC für den CA125-Cut-off-Wert 2,6 an den Kliniken Essen Mitte.

Validationsset Charité:

Dieselbe Auswertung wurde im Validationsset der Kohorte der Charité Berlin durchgeführt. Der CA125-Cut-off Wert vor Beginn der Chemotherapie konnte in dem multivariaten logistischen Regressionsmodell der Validierungskohorte mit einer weiterhin bestehenden signifikanten Assoziation zum Tumorrest gezeigt werden. Anders als in der Trainingskohorte gab es hierbei jedoch keine Assoziation zum Histotyp ($p=0,066$, Regressionskoeffizient=1,129), der Aszitesmenge über 500ml ($p=0,079$, Regressionskoeffizient=0,711) und dem FIGO Stadium ($p=0,164$, Regressionskoeffizienten=0,689) (Tabelle 12).

		Regressionskoeffizient ^B	Sig.	Exp (B)	95 % KI	
					Unterer Wert	Oberer Wert
Schritt 1 ^a	HGS(1)	1,129	,066	3,091	,929	10,288
	Aszites(1)	,711	,079	2,037	,921	4,505
	FIGO_Auswert(1)	,689	,164	1,992	,754	5,259
	CA125_CUT_OFF2_6(1)	1,397	,004	4,045	1,564	10,462
	Konstante	-2,454	,000	,086		

Tabelle 12: Kreuzvalidierung des Validationssets der CA125-Cut-off Wertes mittels multipler Regression in Bezug auf die Variable Tumorrest an der Charité Berlin.

Kreuzvalidierung 1: KEM und Charité Kohorten als Trainings- und Validationsset

Zur Evaluation der Konsistenz des prächemotherapie CA125-Cut-Off Wertes als objektivem Marker zur Bestimmung des Tumorrestes wurde eine Kreuzvalidierung durchgeführt. Hierzu wurde zunächst ein Vorhersagewert durch das KEM Modell an der Berliner Stichprobe durchgeführt.

Vorhersagewert vom KEM Modell an der Berliner Stichprobe (prognostiziert)

$$= -2,376 + 0,837 * HSG + 0,649 * FIGO + 1,308 * Aszites + 1,287 * CA125$$

$$2.6376 + 0,837 * HSG + 0,649 * FIGO + 1,308 * Aszites + 1,287 * CA125$$

Vorhersagewert Berlin (ist)

$$-2,454 + 0,837 * HSG + 1,129 * FIGO + 0,711 * Aszites + 1,397 * CA125$$

$$2.64 + 0,837 * HSG + 1,129 * FIGO + 0,711 * Aszites + 1,397 * CA125$$

Durch das Bestimmtheitsmaß R^2 kann eine abhängige Variable, deren Varianz und eine unabhängige Variable dazu erklärt werden. In diesem Fall war R^2 linear = 0,904 und $y = -0,33 + 1,08 * x$. Hierdurch konnte gezeigt werden, dass das Gütemaß R^2 bei 90,4 % lag und damit ein linearer Zusammenhang zwischen den beiden Gruppen bestand (Abbildung 9, Tabelle 13).

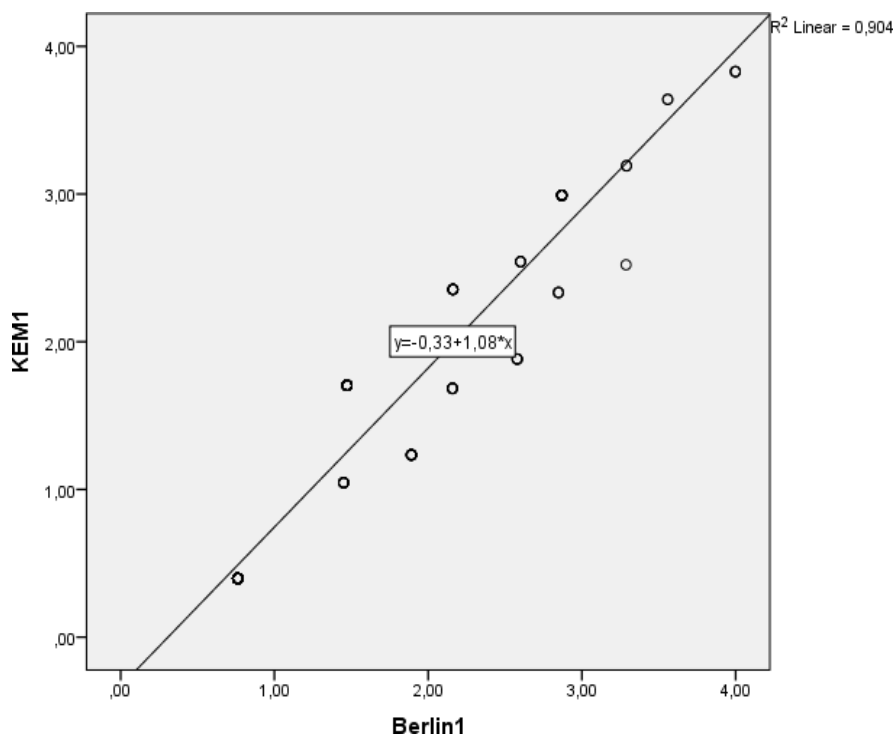


Abbildung 9: Regression R^2 im Vergleich der Stichproben aus den Kliniken Essen Mitte gegenüber der Charité Berlin.

Modellzusammenfassung

Modell	R	R-Quadrat	Korrigiertes R-Quadrat	Standardfehler des Schätzers
1	,951 ^a	,904	,904	,30979

Tabelle 13: Modellzusammenfassung im Vergleich der Stichprobe aus den Kliniken Essen Mitte gegenüber der Charité Berlin.

In dem nächsten Schritt wurde der Vergleich der beiden Zentren umgekehrt. Es wurde der Vergleich zwischen der Charité Berlin gegenüber den KEM durchgeführt. In diesem Fall war R^2 linear = 0,900 und $y = -0,45 + 0,84 * x$. Hierdurch konnte gezeigt werden, dass das Gütemaß R^2 bei 90,0 % lag und damit auch in umgekehrter Richtung ein linearer Zusammenhang zwischen den beiden Gruppen bestand (Abbildung 10, Tabelle 14).

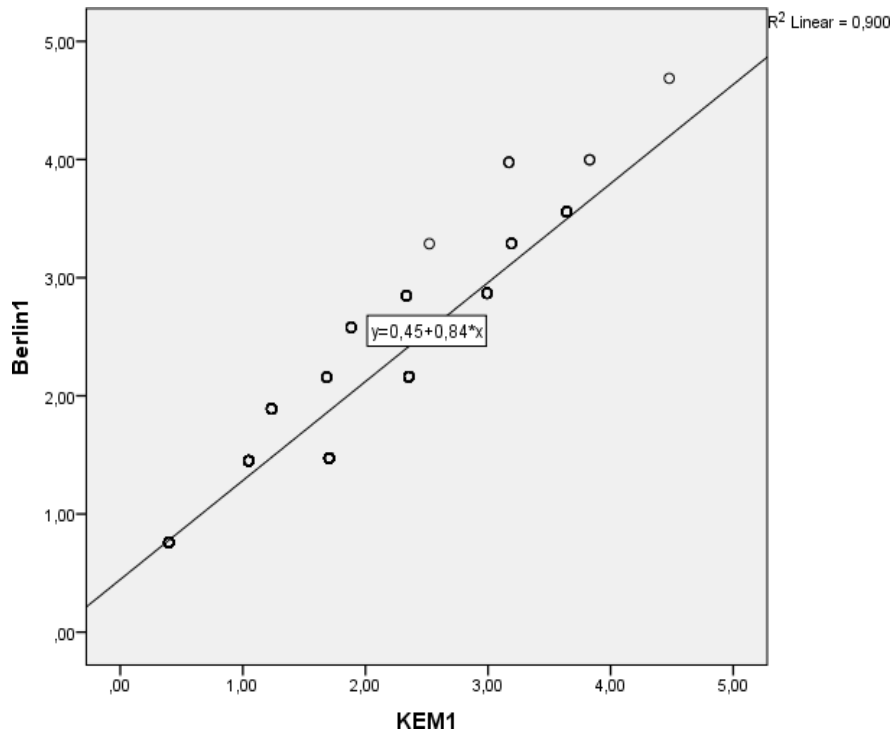


Abbildung 10: Regression R^2 im Vergleich der Stichproben aus der Charité Berlin gegenüber den Kliniken Essen Mitte.

Modellzusammenfassung

Modell	R	R-Quadrat	Korrigiertes R-Quadrat	Standardfehler des Schätzers
1	,948 ^a	,900	,899	,27436

Tabelle 14: Modellzusammenfassung im Vergleich der Stichprobe aus der Charité Berlin gegenüber den Kliniken Essen Mitte.

Kreuzvalidierung 2: Zufällige Zuordnung aller Patientinnen in Trainings- oder Validierungskohorte

Der Trainingskohorte wurden 236 Patientinnen und der Validierungskohorte 230 Patientinnen zugeordnet. Es erfolgte zunächst ein multivariantes logistisches Regressionsmodell der Trainingskohorte. Hierbei zeigte sich ein Zusammenhang zwischen dem CA125-Cut-off Wert und dem high-grade serösen Ovarialkarzinom ($p=0,001$, Regressionskoeffizient=1,637), der FIGO-Klassifikation ($p=0,002$, Regressionskoeffizient=1,003) und dem Aszites ($p=0,001$, Regressionskoeffizient=1,493) (Tabelle 15). Die Quantifizierung erfolgte über eine Regressionsgleichung für die Trainingskohorte und die Validierungskohorte zum besseren Vergleich der beiden Stichproben. Hierzu wurde zunächst ein Vorhersagewert für die beiden Kohorten berechnet.

		RegressionskoeffizientB	Sig.	Exp (B)	95 % für EXP(B)	
					Unterer Wert	Oberer Wert
Schritt 1 ^a	HGS(1)	1,637	,001	5,141	1,900	13,907
	FIGO_Auswert(1)	1,003	,002	2,727	1,462	5,084
	Aszites(1)	1,493	,000	4,450	2,420	8,182
	CA125_CUT_OFF2_6(1)	1,086	,005	2,961	1,383	6,339
	Konstante	-3,191	,000	,041		

Tabelle 15: Kreuzvalidierung des Validationssets der CA125-Cut-off Wertes der Trainingskohorte von zwei zufälligen Stichproben (50:50) der Kliniken Essen Mitte und der Charité Berlin.

Vorhersagewert der Trainingskohorte mit der Validierungskohorte (prognostiziert)

$$= - 3.191 + 1.637 * HSG + 1.003 * FIGO + 1.493 * Aszites + 1.086 * CA125$$

$$2.6191 + 1.637 * HSG + 1.003 * FIGO + 1.493 * Aszites + 1.086 * CA125$$

Vorhersagewert Validierungskohorte (ist)

$$= -1,824 + 0,352 * HSG + 0,457 * FIGO + 0,834 * Aszites + 1,541 * CA125$$

$$2.6824 + 0,352 * HSG + 0,457 * FIGO + 0,834 * Aszites + 1,541 * CA125$$

Daraufhin wurde ein multivariantes logistisches Regressionsmodell der Validierungskohorte durchgeführt. Hierbei zeigte sich nur noch ein Zusammenhang zwischen dem CA125-Cut-off Wert und einer Aszitesmenge über 500 ml ($p=0,008$, Regressionskoeffizient=0,834). Die weiteren Parameter stellten keinen Zusammenhang mit dem

CA125-Cut-off Wert dar. Dies waren die Parameter des high-grade serösen Ovarialkarzinoms ($p=0,461$, Regressionskoeffizient= $0,352$) und FIGO-Stadiums ($p=0,142$, Regressionskoeffizient= $0,457$) (Tabelle 16).

		RegressionskoeffizientB	Sig.	Exp (B)	95 % für EXP(B)	
					Unterer Wert	Oberer Wert
Schritt 1 ^a	HGS(1)	,352	,461	1,422	,558	3,619
	FIGO_Auswert(1)	,457	,142	1,579	,859	2,903
	Aszites(1)	,834	,008	2,303	1,246	4,254
	CA125_CUT_OFF2_6(1)	1,541	,000	4,669	2,161	10,087
	Konstante	-1,824	,000	,161		

Tabelle 16: Kreuzvalidierung des Validationssets der CA125-Cut-off Wertes der Validierungskohorte von zwei zufälligen Stichproben (50:50) der Kliniken Essen Mitte und der Charité Berlin.

Es erfolgte die Berechnung des Bestimmtheitsmaßes R^2 durch den Vergleich der Trainingskohorte gegen die Validierungskohorte. In diesem Fall war R^2 linear= $0,797$ und $y=0,27+1,22*x$. Hierdurch konnte gezeigt werden, dass das Gütemaß R^2 bei $79,7\%$ lag und damit ein linearer Zusammenhang zwischen den beiden zufälligen Stichproben bestand (Abbildung 11, Tabelle 17).

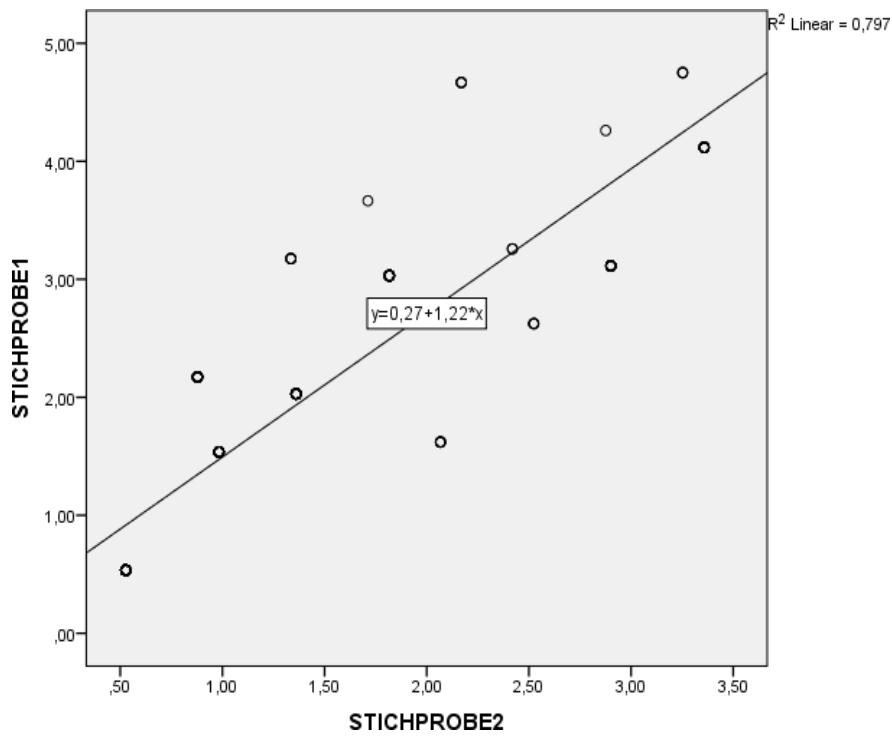


Abbildung 11: Regression R^2 im Vergleich der Trainingskohorte gegenüber der Validierungskohorte von zwei zufälligen Stichproben (50:50).

Modellzusammenfassung

Modell	R	R-Quadrat	Korrigiertes R-Quadrat	Standardfehler des Schätzers
1	,893 ^a	,797	,796	,53237

Tabelle 17: Modellzusammenfassung im Vergleich der zufälligen Stichproben aus der Trainings- und Validierungskohorte.

Im weiteren Verlauf erfolgte die Berechnung der Güteparameter für den prächemotherapie-CA125-Cut-Off Wert. (Tabelle 18)

Testergebnis T	Wirklichkeit W		Summe
	TR>0	TR0	
CA125> 400	54	29	83
CA125< 400	114	269	383
Summe	168	298	466

Tabelle 18: Testergebnisse T und Wirklichkeit W des CA125-Wertes >400 U/l und <400 U/l im Serum, sowie des Tumorrestes.

Sensitivität: $P(T = +/W = +) = 54/168 = 0,32$

Spezifität: $P(T = -/W = -) = 269 /298 = 0,90$

Positiver prädiktiver Wert: $P(W = +/T = +) = 54/83=0,65$

Durch den positiven prädiktiven Wert von 0,65 ließ sich bei 65 % der Patientinnen mit einem positiven Test (CA125 >400 U/ml) auch tatsächlich ein Tumorrest >0 nachweisen.

Negativer prädiktiver Wert: $P(W = -/T = -) = 269/383=0,95$

Falsch positiver Wert: $P(\{W = -\} \cap \{T = +\}) = 29/466 = 0,06$

Falsch negativer Wert: $P(\{W = +\} \cap \{T = -\}) = 114/466 = 0,24$

Diese Berechnung soll nachfolgend durch ein klinisches Beispiel näher erläutert werden:

- Bei einer Patientin wurde angegeben, dass eine Komplettresektion erfolgt ist. Der prächemotherapie CA125-Wert bei der Patientin lag über 400 U/ml. In dem Fall ist anzunehmen, dass bei 35 % der Fälle wirklich eine Komplettresektion und in 65 % der Fälle keine Komplettresektion des Tumors erfolgt ist.
- Bei einer anderen Patientin wurde angegeben, dass eine Komplettresektion erfolgt ist. Der prä-Chemotherapie-CA125-Wert war kleiner als 400 U/ml. In dem Fall ist anzunehmen, dass bei 70 % wirklich eine Komplettresektion durchgeführt wurde und in 30 % keine Komplettresektion.

Es erfolgte die Berechnung der Parameter der diagnostischen Testverfahren für CA125 im Aszites bei pT3c und einem high-grade serösen Karzinom (Tabelle 19).

Testergebnis T	Wirklichkeit W		Summe
	TR>0	TR0	
CA125> 400	34	8	42
CA125< 400	57	58	115
Summe	91	66	157

Tabelle 19: Testergebnisse T und Wirklichkeit W des CA125-Wertes >400 U/l und <400 U/l im Aszites beim pT3c und high-grade serösen Karzinom, sowie des Tumorrestes.

Sensitivität: $P(T = +/W = +) = 34/91 = 0,37$

Spezifität: $P(T = -/W = -) = 58 /66 = 0,88$

Positiver prädiktiver Wert: $P(W = +/T = +) = 34/42 = 0,81$

Durch den positiven prädiktiven Wert von 0,81 ließ sich bei 81 % der Patientinnen mit einem positiven Test (CA125-Wert im Aszites über 400 U/ml) auch tatsächlich ein Tumorrest >0 darstellen.

Negativer prädiktiver Wert: $P(W = -/T = -) = 58/151 = 0,50$

Falsch positiver Wert: $P(\{W = -\} \cap \{T = +\}) = 8/157 = 0,05$

Falsch negativer Wert: $P(\{W = +\} \cap \{T = -\}) = 57/157 = 0,36$

Dies soll nachfolgend an Hand eines Beispiels verdeutlicht werden.

- Bei einer Patientin mit FIGO-Stadium IIIc, high-grade serösem Karzinom und präoperativem Aszites wurde angegeben, dass eine Komplettresektion erfolgt ist. Der prächemotherapie CA125-Wert bei der Patientin lag bei über 400 U/ml. In dem Fall ist anzunehmen, dass bei 19 % der Fälle wirklich eine Komplettresektion und in 81 % der Fälle keine Komplettresektion des Tumors erfolgt ist.
- Bei einer anderen Patientin mit FIGO-IIIc, high-grade serösem Karzinom und präoperativem Aszites wurde angegeben, dass eine Komplettresektion erfolgt ist. Der prächemotherapie CA125-Wert war kleiner als 400 U/ml. In dem Fall ist anzunehmen, dass bei 50 % wirklich eine Komplettresektion und in 50 % keine Komplettresektion durchgeführt wurde.

7.3 Einschlusskriterien der prospektiven Analyse

Von den 20 eingeschlossenen und auswertbaren Patientinnen wurde bei zehn Patientinnen eine komplette Tumorsektion (TR=0) durchgeführt, wohingegen bei zehn Patientinnen eine makroskopische Resterkrankung (TR>1) verblieb. **Tabelle 20** zeigt die klinisch-pathologischen Merkmale der eingeschlossenen Patientinnen. In zwei Fällen wurde zusätzlich zum Ovarialkarzinom ein simultanes Endometriumkarzinom diagnostiziert.

Pat No.	TR	FIGO	pathological details	Ascites (ml)
KEM-002	0	IVB	pT3c, pN1 (3/74), pL1, pV0, pM1b (CPLN)	500
KEM-008	0	IVB	pT3c, pN1(17/68), pL1, pV0, pM1b (CPLN)	1.800
KEM-013	0	IVB	pT3c, pN0 (0/23), pL1, pV0, pM1b (LSK)	600
KEM-015	0	IIIC	pT3c, pN0 (0/83), pL0, pV0	100
KEM-016*	0	IVB	pT3c, pN1b (13/92) pL1, pV0, pM1b (LSK, CPLN) Uterine carcinoma pT1a, G1	600
KEM-021	0	IIIC	pT3c, pN1 (4/78), pL1, pV0	6.000
KEM-023	0	IVB	pT3c, pN1 (4/99), pL1, pV0, pM1b (CPLN)	1.000
KEM-025	0	IVB	pT3c, pN1 (1/31), pL1, pV0, pM1b (CPLN)	2.000
KEM-026*	0	IVB	pT3c, pN1 (7/51), pL1, pV0, pM1b (CPLN) Uterine carcinoma pT1a, G3, pL0, pV0	4.000
KEM-031	0	IVB	pT3c, pN1 (4/77), pL1, pV1, pM1b (LSK)	20
KEM-001	1	IVB	pT3c, pNX, pL1, pV0, pM1 (Sister Mary Joseph)	4.000
KEM-006	1	IVB	pT3b, pNx, pL0, pV0, pM1 (LSK)	no
KEM-014	1	IVB	pT3c, pN1b (1/1), pL1, pV0, pM1b (spleen)	3000
KEM-018	1	IVB	pT3c, pNx, pM1 (CPLN)	50
KEM-019	1	IVB	pT3c, pN1b (4/8), pL1, pV0, pPn0, pM1b (HEP; Spleen)	no
KEM-020	1	IVB	pT3c, pN0 (0/3), pL1 pV0, pM1b (LSK/Pleura)	1.000
KEM-022	1	IVA	pT3c, pN0 (0/2), pL1, pV0, pM1a (Pleura)	6.000
KEM-027	1	IVB	pT3c, pN1b (5/5), pL1, pV0, pM1b (breast)	3.500
KEM-028	1	IIIC	pT3c, pN1 (35/40), pL1, pV0	2.500
KEM-029	1	IVB	pT3c, pNx, pL1, pV0, pM1 (LSK)	no

Tabelle 20: Patientencharakteristika; RT= residual disease; * simultanes endometrioides Karzinom; alle Proben waren positiv auf eine WT-1 Immunhistochemie; FIGO: Fédération Internationale de Gynécologie et d' Obstétrique; TR=Tumorrest nach der Operation; CPLN: Kardiophrenische Lymphknoten; LSK: Abdominale Metastasen nach einer vorangegangenen Laparoskopie.

7.4 Prospektive Evaluation der postoperativen Serum CA125- und HE4-Werte zur individuellen Beurteilung des Tumorrestes nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom

In allen untersuchten Baselinewerten der Patientinnen konnte ein erhöhter CA125- und HE4-Spiegel nachgewiesen werden. Zum Vergleich der nicht-normalverteilten CA125- und HE4-Werte wurden diese logarithmiert. Die Unterschiede der logarithmierten CA125-Spiegel im Serum waren sowohl zwischen dem Baselinewert als auch dem

postoperativen Tag 4 bei Patientinnen ohne Tumorrest signifikant unterschiedlich ($p=0,036$), jedoch zeigte sich bei Patientinnen mit Tumorrest kein signifikanter Unterschied. In der Untersuchung zwischen der Baseline und dem postoperativen Tag 10 bei Patientinnen mit Tumorrest konnte eine Signifikanz von $p=0,0088$ nachgewiesen werden. In der **Abbildung 12A** sind die Differenzen (Δ) der logarithmischen Werte zwischen der Baseline und dem postoperativen Wert der Tage 4 und 10 der Serum-CA125-Spiegel in einem Boxplot-Diagramm dargestellt. Das Δ der logarithmierten Werte für die Serum-HE4-Spiegel unterschied sich nicht zwischen der Baseline und dem postoperativen Tag 4 ($p=0,0001$) und dem postoperativen Tag 10 ($p=0,004$) zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest (**Abbildung 12B**). Bei der individuellen absoluten Veränderung des Serum-CA125-Spiegels und des Serum-HE4-Spiegels wurde bei fast allen Patientinnen - selbst bei denen mit Tumorrest - ein Rückgang dieser Werte nach der Operation dokumentiert (**Abbildung 13A/B**). Unter der Verwendung der chirurgisch-dynamischen Resektion (SDR) für den Serum-CA125-Spiegel waren bei drei von sechs Patientinnen (50 %), die eine komplette Tumoresektion, und zwei von neun Patientinnen (22 %), bei welchen Tumorrest verbleiben musste, eine Reaktion bei einem Signifikanzniveau von 0,1 nachweisbar (**Abbildung 14**). Die SDR für den Serum-HE4-Spiegel ergab bei fünf von zehn Patientinnen ohne und bei null von zehn Patientinnen mit Tumorrest eine Reaktion bei einem Signifikanzniveau von 0,05 (**Abbildung 15**). Gezeigt werden konnte dabei, dass bei Patientinnen ohne Tumorrest bei beiden Tumormarker-Spiegeln eine Verminderung des Spiegels erfolgte. Dies war bei Patientinnen mit Tumorrest nicht zu sehen.

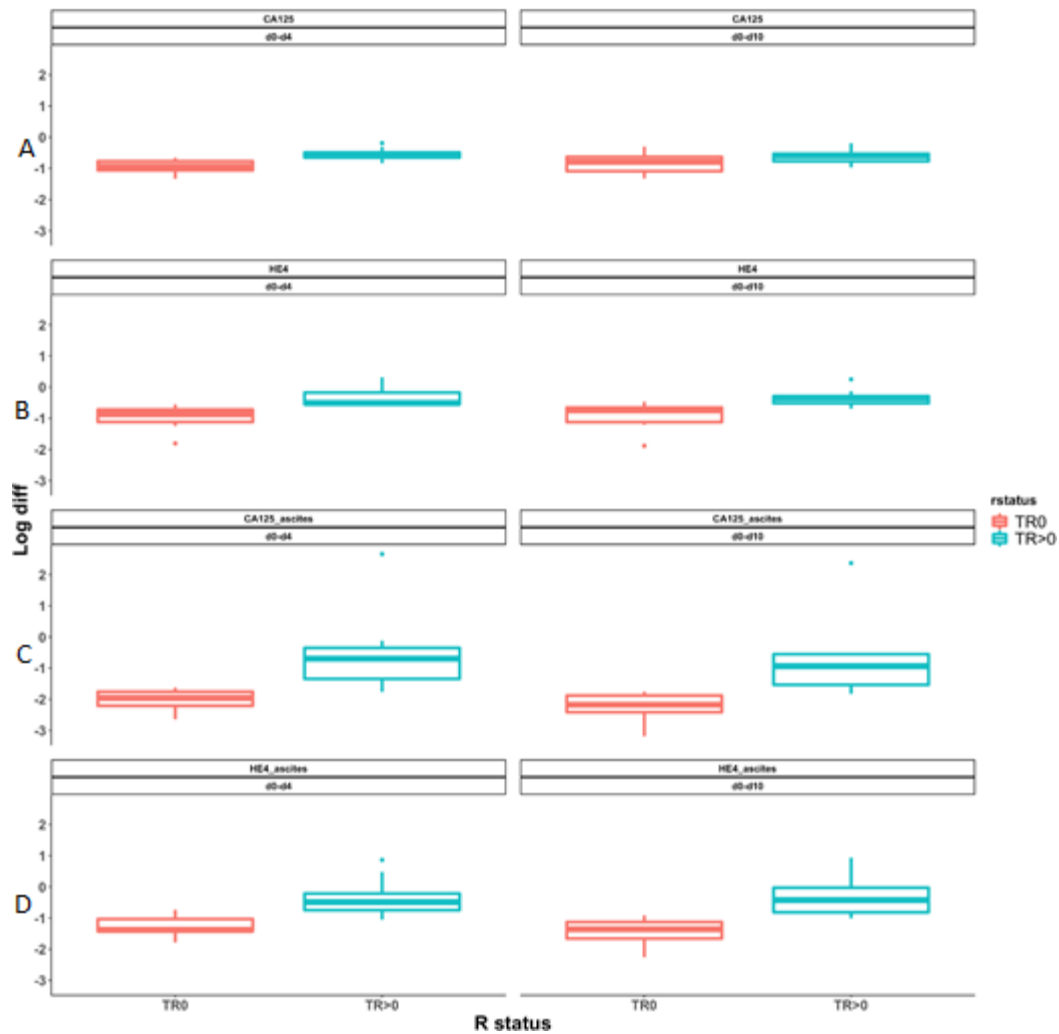


Abbildung 12: A-Boxplotdiagramm von der Differenz der logarithmischen Werte zwischen der Baseline (d0) und den postoperativen Tagen 4 (d4), 10 (d10) des Serum-CA125 Wertes. A-Boxplotdiagramm von der Differenz der logarithmischen Werte zwischen der Baseline (d0) und den postoperativen Tagen 4 (d4), 10 (d10) des Serum-CA125 Wertes. B-Boxplotdiagramm von der Differenz der logarithmischen Werte zwischen der Baseline (d0) und den postoperativen Tagen 4 (d4), 10 (d10) des Serum-HE4 Wertes; C-Boxplotdiagramm von der Differenz der logarithmischen Werte zwischen der Baseline (d0) und den postoperativen Tagen 4 (d4), 10 (d10) des CA125-Spiegels im Aszites; D-Boxplotdiagramm von der Differenz der logarithmischen Werte zwischen der Baseline (d0) und den postoperativen Tagen 4 (d4), 10 (d10) des HE4-Spiegels im Aszites; Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test.

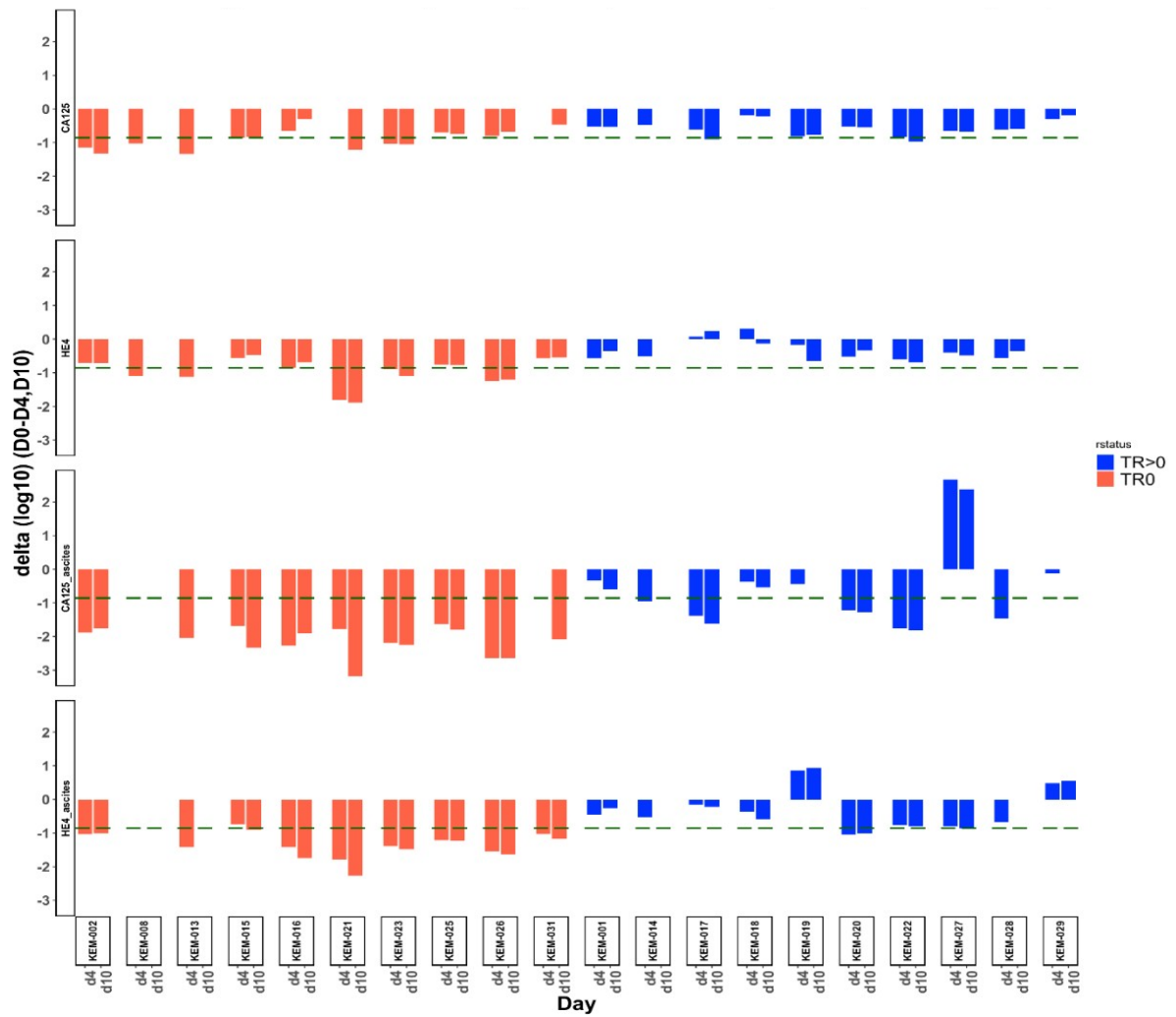


Abbildung 13: Individuelle absolute Veränderung des CA125-Spiegels und HE4-Spiegels im Serum und Aszites zwischen allen Patientinnen mit (TR0) und ohne komplette Resektion (TR>0) zwischen der Baseline (d0) und Tag 4 (d4) und Tag 10 (d10).

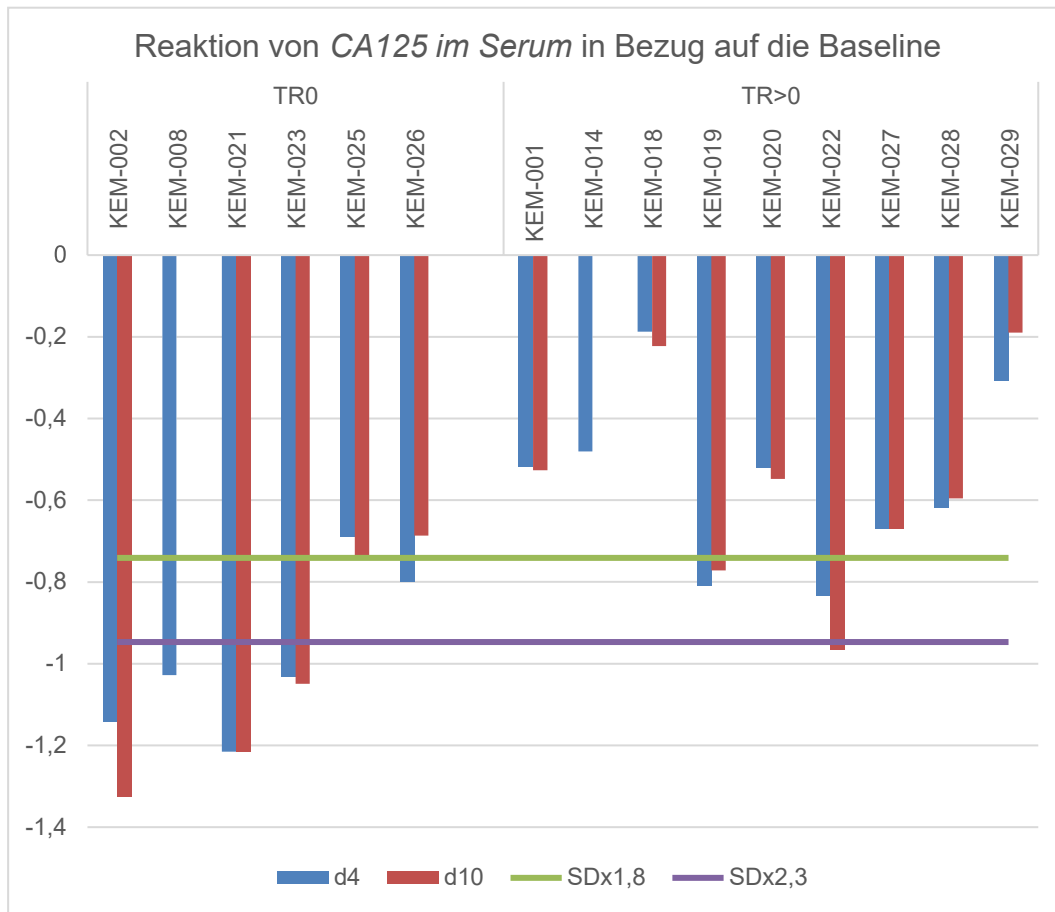


Abbildung 14: Chirurgisch-dynamische Reaktion (SDR) des Serum-CA125-Spiegels bei Patientinnen mit kompletter Resektion (TR=0) und Patientinnen mit Tumorrest (TR>0).

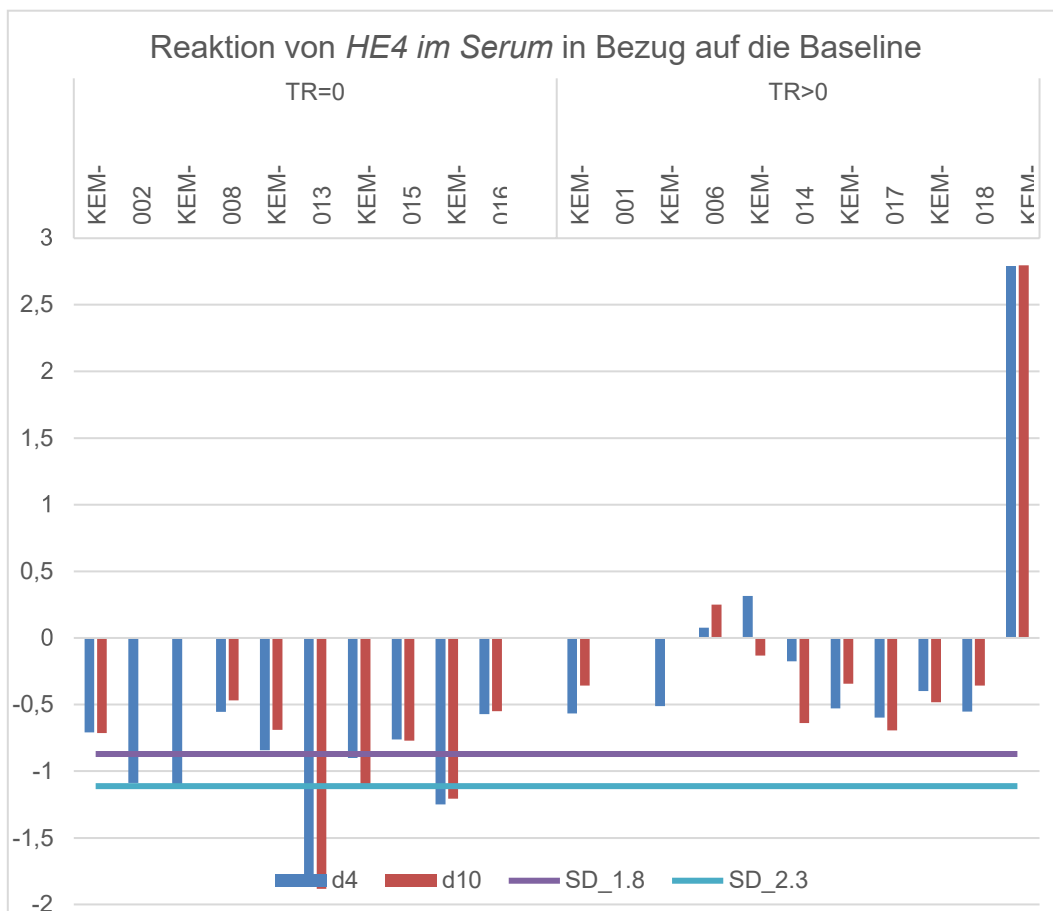


Abbildung 15: Chirurgisch-dynamische Reaktion (SDR) des Serum-HE4-Spiegels bei Patientinnen mit kompletter Resektion (TR=0) und Patientinnen mit Tumorrest (TR>0).

7.5 Prospektive Evaluation der postoperativen Aszites CA125- und HE4-Werte zur individuellen Beurteilung des Tumorrestes nach Primär-Operation beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom

In **Abbildung 12C** ist ein Boxplot Diagramm der Differenzen der logarithmischen Werte der CA125-Spiegel im Aszites sowohl zwischen dem Ausgangswert und dem postoperativen Tag 4 als auch zwischen dem Baselinewert und dem postoperativen Tag 10 dargestellt. Bei den Patientinnen mit vollständiger Tumorresektion waren die logarithmierten CA125-Spiegel zwischen der Baseline am Tag 4 ($p < 0,001$) und Tag 10 ($p < 0,01$) im Vergleich zu den Patientinnen mit Tumorrest signifikant niedriger. Dasselbe galt für die Δ der logarithmierten HE4-Asziteswerte (Baseline zu Tag 4: $p < 0,001$; Baseline zu Tag 10: $p < 0,001$) (**Abbildung 12D**). Die einzelnen absoluten Veränderungen der CA125- und HE4-Spiegel im Aszites wiesen einen homogenen und deutlichen Rückgang bei Patientinnen ohne Tumorrest auf. Dies konnte bei Patientinnen mit makroskopischem Tumorrest nicht dokumentiert werden (**Abbildung 12C/D**, **Abbildung 13**).

Unter Verwendung der SDR für den CA125-Spiegel im Aszites stellte sich bei neun von neun Patientinnen, die eine komplette Resektion hatten, und vier von neun Patientinnen ohne eine komplette Tumorresektion, eine Reaktion bei einem 0,1-Signifikanzniveau dar (Abbildung 16). Unter Verwendung der SDR für den HE4-Spiegel im Aszites zeigte sich bei sieben von neun Patientinnen ohne und bei null von neun Patientinnen mit Resterkrankung eine Reaktion bei einem Signifikanzniveau von 0,05 (Abbildung 17).

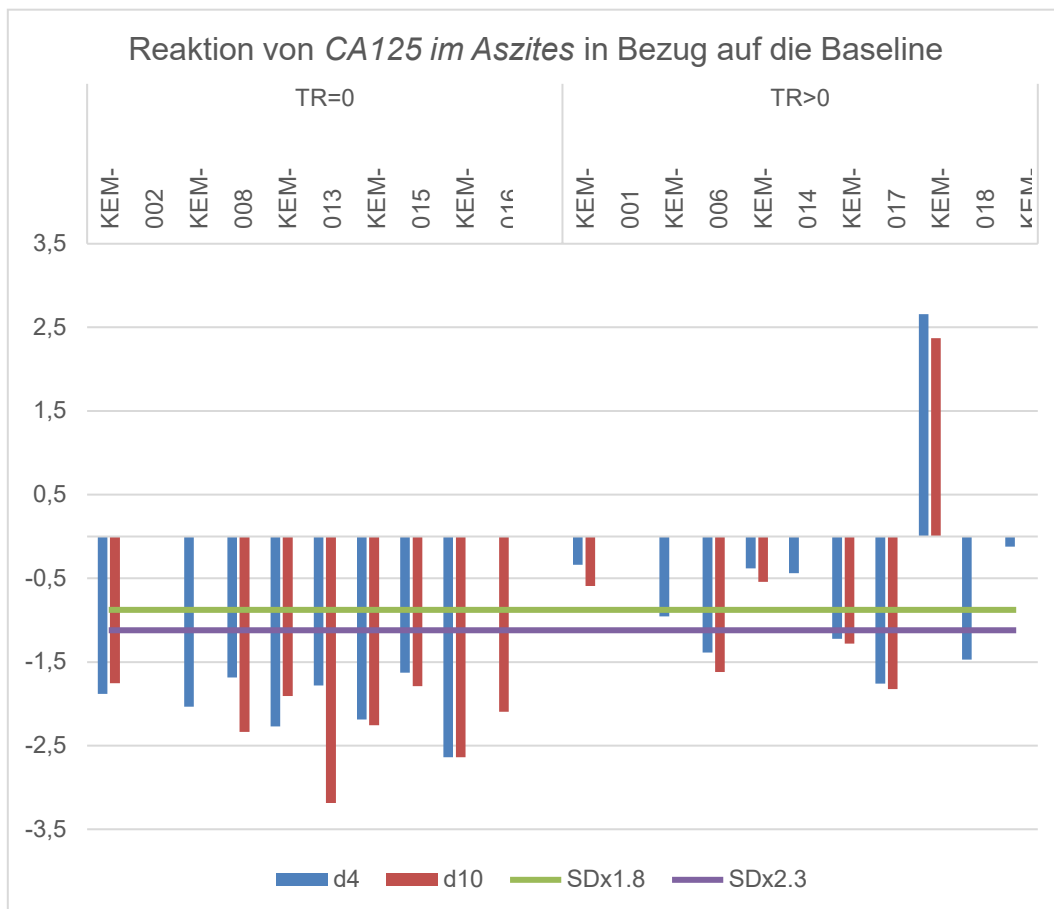


Abbildung 16: Chirurgisch-dynamische Reaktion (SDR) des Aszites-CA125-Spiegels bei Patientinnen mit kompletter Resektion (TR=0) und Patientinnen mit Tumorrest (TR>0).

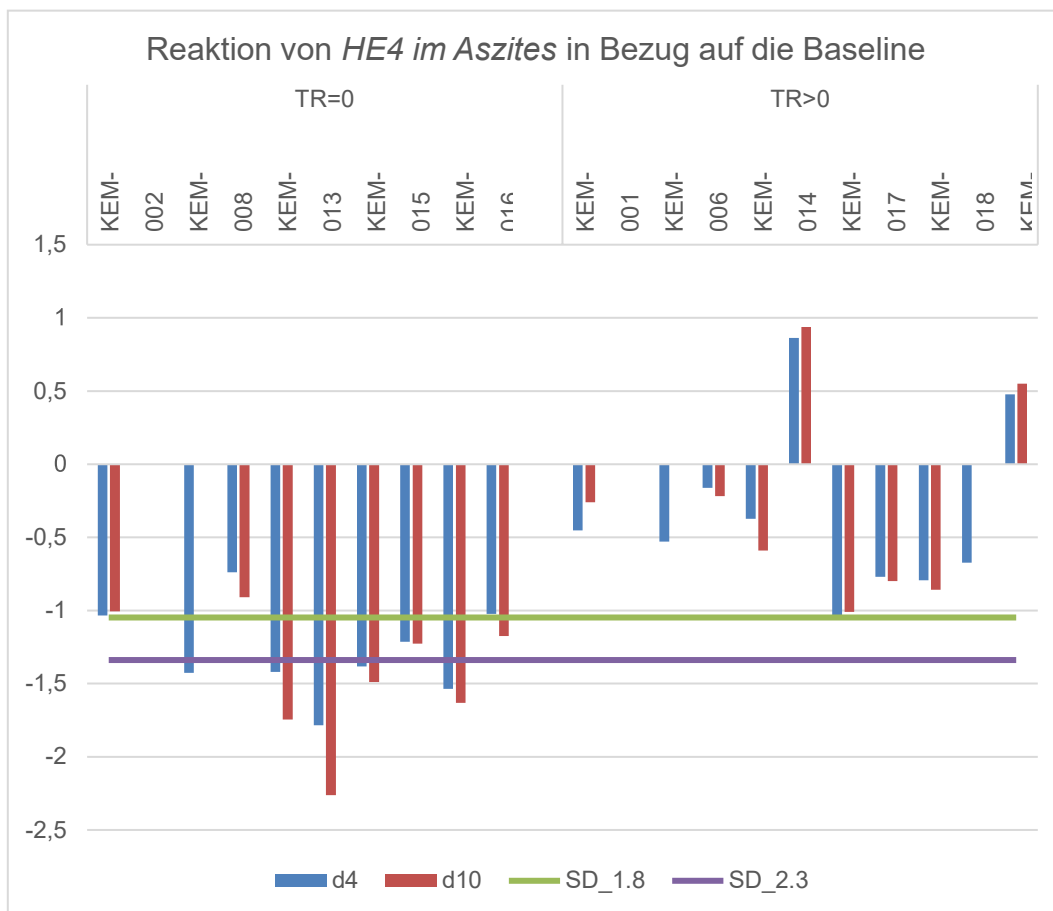


Abbildung 17: Chirurgisch-dynamische Reaktion (SDR) des Aszites-HE4-Spiegels bei Patientinnen mit kompletter Resektion (TR=0) und Patientinnen mit Tumorrest (TR>0).

7.6 Prospektive Evaluation einer cfDNA Mutationsanalyse vor und nach Primär-Operation bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom und Komplettresektion vs. inkompletter Resektion

7.6.1 Vergleich der FFPE und *liquid biopsy* Genotypen und möglicher Marker zur Qualitätssicherung des Tumorrestes

Die Sequenzierung konnte bei allen eingeschlossenen (N=20) Patientinnen erfolgreich mittels NEOPlus Panel für FFPE und mit dem NEOLiquid Panel für die cfDNA-Proben durchgeführt werden. Um die Ergebnisse der Proben aus der cfDNA und dem FFPE besser vergleichen zu können, wurden nur die Gene, die sowohl in den NEOLiquid Panel und in dem NEOPlus Panels enthalten waren, untersucht. Nachdem bioinformatisch SNPs und Keimbahnvarianten ausgeschlossen wurden, waren 41 nicht-synonyme somatische Mutationen in elf Genen nachweisbar. Von diesen waren 30 Mutationen sowohl im Tumorgewebe als auch in der korrespondierenden *liquid biopsy*-Probe

mindestens einmal enthalten, während vier beziehungsweise sieben Mutationen entweder nur für die Gewebe- oder nur für die Plasma-DNA spezifisch waren (Tabelle 21). In der Gruppe der 34 nachgewiesenen Mutationen in dem FFPE-Tumorgewebe wurden nur 23 im Gewebe und 25 im Plasma wiedergefunden. 19 Mutationen wurden noch an Tag 4 unter den 19 Proben identifiziert, zwölf Mutationen waren in den 16 verfügbaren Proben von Tag 10 noch nachweisbar. Der Verlauf der perioperativen MAFs aller bis Tag 10 identifizierten Mutationen wurde für jede Patientin aufgezeichnet, um zu verdeutlichen, inwiefern somatische Mutationen als Marker zur Detektion des Tumorrestes dienen können (Abbildung 18). Diese Grafik zeigte, dass die MAFs von Mutationen, die zwischen den FFPE und der *liquid biopsy* geteilt wurden, unidirektionale MAF-Änderungen in der cfDNA aufwiesen. Basierend auf dieser Beobachtung wurde die MAF der *TP53*-Mutation als Marker für den Tumorrest gewählt. Alle 20 Patientinnen und deren Proben (einschließlich der Patientin mit unterschiedlichen *TP53*-Mutationen in zwei Eierstock- und Endometriumkarzinomen) enthielten je eine *TP53*-Mutation, was 19 Sequenzierungsvarianten entspricht. Zwei zusätzliche Mutationen waren nur in der *liquid biopsy*, nicht jedoch in den FFPEs, zu detektieren. Sechs *TP53*-Mutationen von fünf Fällen (N=4 TR0 und N=1 TR>1) blieben an Tag 0 im Plasma unentdeckt. Mit einer Ausnahme traten die *TP53*-Mutationen an Tag 1 auf. Weitere Informationen zu den *TP53*-Mutationen, einschließlich dem Genotyp, den Proben von der Baseline sowie den darauffolgenden Tagen ergeben sich aus Abbildung 19.

KEM ID	tissue gene	tissue DNA	protein change	type of alteration	ressource	cf DNA gene	cf DNA	protein change
KEM-001	TP53	c.815delT	p.V272fs	CN change	ovarian only	TP53	c.815delT	p.V272fs
KEM-001	FGFR3			CN change	ovarian only			
KEM-001	FGFR4			somatic mut	ovarian only			
KEM-002	TP53	c.329G>C	p.R110P	somatic mut	ovarian only	TP53	c.329G>C	p.R110P
KEM-002	RB1	c.893_894ins	p.P298fs	somatic mut	ovarian only	RB1	c.893_894insT	p.P298fs
KEM-002	EML4	c.2927A>G	p.D976G	somatic mut	ovarian only			
KEM-002	KDR	c.2743A>G	p.I915V	somatic mut	ovarian only			
KEM-002	POLE	c.2030C>T	p.P677L	somatic mut	ovarian only			
KEM-006	TP53	c.658T>C	p.Y220H	somatic mut	ovarian only	TP53	c.658T>C	p.Y220H
KEM-006	BCL6	c.549C>G	p.S183R	somatic mut	ovarian only			
KEM-008	TP53	c.824G>T	p.C275F	somatic mut	ovarian only	TP53	c.824G>T	p.C275F
KEM-008	TSC2	c.4524_4526c	p.P1508_F1509delinsP	SNP	ovarian only	TSC2	c.4524_4526delCT	p.P1508_F1509delins
KEM-008	ERBB2	c.3496A>G	p.T1166A	SNP	ovarian only	ERBB2	c.3496A>G	p.T1166A
KEM-008	KRAS			CN change	ovarian only			
KEM-008	MYCN	c.1015G>A	p.V339M	somatic mut	ovarian only			
KEM-013	TP53	c.797G>A	p.G266E	somatic mut	ovarian only	TP53	c.797G>A	p.G266E
KEM-013	PDGFRA	c.199T>A	p.S67T	somatic mut	ovarian only	PDGFRA	c.199T>A	p.S67T
KEM-013	STK11	c.97G>A	p.E33K	somatic mut	ovarian only	STK11	c.97G>A	p.E33K
KEM-013	TSC2			CN change	ovarian only			
KEM-013	PRKDC			CN change	ovarian only			
KEM-013	RAF1 - ANKRD28			translocation	ovarian only			
KEM-013	EXOSC10 - MTOR			translocation	ovarian only			
KEM-013	FBXW7			CN change	ovarian only			
KEM-013	MDM2			CN change	ovarian only			
KEM-013	MYCL1			CN change	ovarian only			
KEM-013	NF1			CN change	ovarian only			
KEM-013	NRG1			CN change	ovarian only			
KEM-014	TP53	c.586C>T	p.R196*	somatic mut	ovarian only	TP53	c.586C>T	p.R196*
KEM-014	ATR	c.4093G>C	p.D1365H	somatic mut	ovarian only	ATR	c.4093G>C	p.D1365H
KEM-014	DDR2	c.1936A>G	p.T646A	somatic mut	ovarian only	DDR2	c.1936A>G	p.T646A
KEM-014	BRCA2	c.4553delA	p.E1518fs	SNP	ovarian only	BRCA2	c.4553delA	p.E1518fs
KEM-014	TSC2	c.4237G>A	p.E1413K	somatic mut	ovarian only	TSC2	c.4237G>A	p.E1413K
KEM-014	TSC1 - TSC1			translocation	ovarian only	TSC1 - TSC1		
KEM-014	AR			CN change	ovarian only			
KEM-014	NF1	c.1642_splice	splice	somatic mut	ovarian only			
KEM-014	RB1			CN change	ovarian only			
KEM-014	VHL	c.3G>A	p.M1I	somatic mut	ovarian only			
KEM-015	TP53	c.988delC	p.L330fs	somatic mut	ovarian only	TP53	c.988delC	p.L330fs
KEM-015	FGFR4			CN change	ovarian only			
KEM-015	RB1			CN change	ovarian only			
KEM-016	TP53	c.683_686del	p.D228fs	somatic mut	endometrial only	TP53	c.683_686delCTG	p.D228fs
KEM-016	BRCA1	c.5329_5330i	p.Q1777fs	SNP	ovarian and endometrial	BRCA1	c.5329_5330insC	p.Q1777fs
KEM-016	ERBB2	c.929C>T	p.S310F	somatic mut	endometrial only	ERBB2	c.929C>T	p.S310F
KEM-016	PIK3CA	c.1625A>C	p.E542A	somatic mut	endometrial only	PIK3CA	c.1625A>C	p.E542A
KEM-016	TP53	c.1029delG	p.E343fs	somatic mut	ovarian only	TP53	c.1029delG	p.E343fs
KEM-016	FGFR3			CN change	ovarian only			
KEM-016	FGFR4			CN change	ovarian only			
KEM-018	TP53	c.817C>T	p.R273C	somatic mut	ovarian only	TP53	c.817C>T	p.R273C
KEM-018	TSC2	c.1641_1659dp	p.E547fs	somatic mut	ovarian only	TSC2	c.1641_1659delAA	p.E547fs
KEM-018	RB1			CN change	ovarian only			
KEM-019	TP53	c.730G>T	p.G244C	somatic mut	ovarian only	TP53	c.730G>T	p.G244C
KEM-019	BRCA2	c.3464_3466c	p.T1155_S1156delinsT	SNP	ovarian only	BRCA2	c.3464_3466delCT	p.T1155_S1156delins
KEM-019	PALB2	c.83A>G	p.Y28C	somatic mut	ovarian only			
KEM-020	TP53	c.817C>T	p.R273C	somatic mut	ovarian only	TP53	c.817C>T	p.R273C
KEM-020	BRCA2	c.7757G>A	p.W2586*	somatic mut	ovarian only	BRCA2	c.7757G>A	p.W2586*
KEM-020	TSC1	c.2332C>T	p.Q778*	somatic mut	ovarian only	TSC1	c.2332C>T	p.Q778*
KEM-020	ABL1	c.3358C>G	p.P1120A	somatic mut	ovarian only			
KEM-021	TP53	c.743G>A	p.R248Q	somatic mut	ovarian only	TP53	c.743G>A	p.R248Q
KEM-021	ERBB2	c.3683C>T	p.P1228L	somatic mut	ovarian only	ERBB2	c.3683C>T	p.P1228L
KEM-021	DDR2	c.1848G>C	p.K616N	SNP	ovarian only	DDR2	c.1848G>C	p.K616N
KEM-021	NF1 - intragenic			translocation	ovarian only			
KEM-021	PRKDC	c.11554T>G	p.L3852V	somatic mut	ovarian only			
KEM-021	SMO	c.1921C>G	p.P641A	somatic mut	ovarian only			
KEM-022	TP53	c.586C>T	p.R196*	somatic mut	ovarian only	TP53	c.586C>T	p.R196*
KEM-022	TP53	c.743G>A	p.R248Q	somatic mut	ovarian only	TP53	c.743G>A	p.R248Q
KEM-023	TP53	c.701A>G	p.Y234C	somatic mut	ovarian only	TP53	c.701A>G	p.Y234C
KEM-023	RB1	c.1359T>G	p.Y453*	somatic mut	ovarian only	RB1	c.1359T>G	p.Y453*
KEM-023	ATR	c.6460G>A	p.D2154N	SNP	ovarian only	ATR	c.6460G>A	p.D2154N
KEM-023	ERBB3	c.1538G>A	p.G513D	somatic mut	ovarian only			
KEM-023	NF1 - intragenic			translocation	ovarian only			
KEM-025	TP53	c.542G>C	p.R181P	somatic mut	ovarian only	TP53	c.542G>C	p.R181P
KEM-025	KEAP1 - intergenic			translocation	ovarian only	KEAP1 - intergenic		
KEM-025	AR			CN change	ovarian only			
KEM-025	ARAF			CN change	ovarian only			
KEM-026	TP53	c.672_splice	splice	somatic mut	ovarian and endometrial	TP53	c.672_splice	splice
KEM-026	BRCA1	c.5434G>T	p.V1812L	SNP	ovarian and endometrial	BRCA1	c.5434G>T	p.V1812L
KEM-026	JAK2			CN change	ovarian only			
KEM-026	RICTOR	c.3545A>G	p.D1182G	somatic mut	ovarian and endometrial			
KEM-027	TP53	c.734G>A	p.G245D	somatic mut	ovarian only	TP53	c.734G>A	p.G245D
KEM-027	ERBB2	c.2650_splice	splice	somatic mut	ovarian only	ERBB2	c.2650_splice	splice
KEM-027	ABL1	c.2146C>T	p.R716C	somatic mut	ovarian only			
KEM-027	JAK2			CN change	ovarian only			
KEM-028	TP53	c.365_366del	p.V122fs	somatic mut	ovarian only	TP53	c.365_366delTGA	p.V122fs
KEM-028	PIK3CA	c.337_338ins	p.L113_N114insIL	somatic mut	ovarian only	PIK3CA	c.337_338insTGA	p.L113_N114insIL
KEM-028	CCNE1			CN change	ovarian only			
KEM-028	TP53				ovarian only	TP53	c.715A>G	p.N239D
KEM-029	TP53	c.472C>G	p.R158G	somatic mut	ovarian only	TP53	c.472C>G	p.R158G
KEM-029	TSC2	c.2640_splice	splice	somatic mut	ovarian only	TSC2	c.2640_splice	splice
KEM-029	PRKDC	c.5428C>T	p.P1810S	somatic mut	ovarian only			
KEM-031	TP53	c.737_741del	p.M246fs	somatic mut	ovarian only	TP53	c.737_741delTGA	p.M246fs
KEM-031	BRCA1	c.3700_3704c	p.V1234fs	SNP	ovarian only	BRCA1	c.3700_3704delGT	p.V1234fs
KEM-031	TSC1	c.2406_2419c	p.D802fs	somatic mut	ovarian only	TSC1	c.2406_2419delCT	p.D802fs
KEM-031	ERBB2	c.2446C>T	p.R816C	somatic mut	ovarian only	ERBB2	c.2446C>T	p.R816C
KEM-031	ATM			CN change	ovarian only			
KEM-031	RB1			CN change	ovarian only			

Tabelle 21: Mutationen, welche in Tumorgewebe und der korrespondierenden cfDNA gefunden wurden.

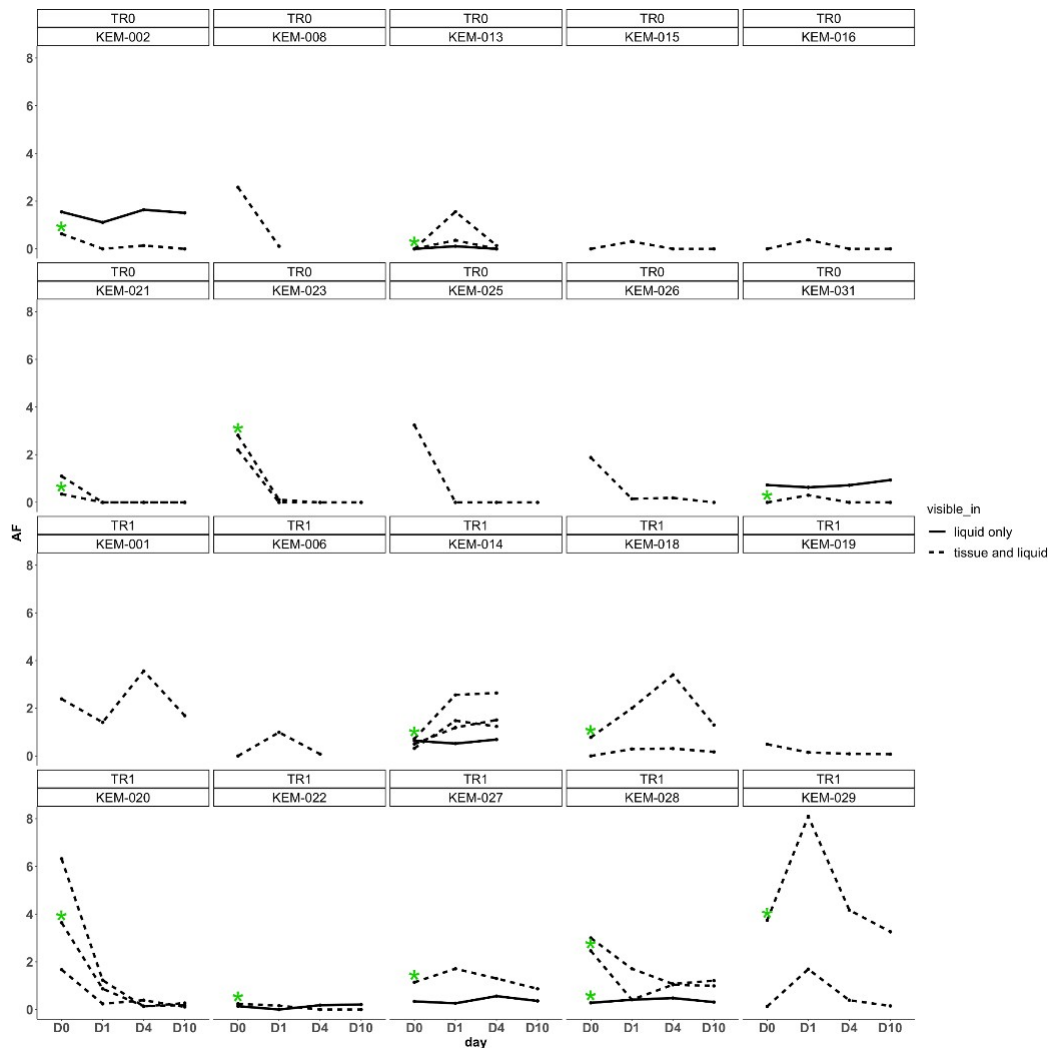


Abbildung 18: MAF-Variationen in aufeinanderfolgenden Blutproben, grüne Sternchen zeigen Mutationen in TP53 an. Waren mehrere Mutationen in einer einzelnen Probe vorhanden, waren die Veränderungen der MAF meistens unidirektional. Interessanterweise zeigten Mutationen, die nur in cfDNA nachgewiesen wurden, häufig entgegengesetzte MAF-Trends im Vergleich zu Mutationen, die zwischen Gewebe- und Blutproben geteilt wurden. Der deutliche Unterschied in den MAFs im Fall KEM-029 (TP53- und TSC2-Splice-Site Mutation) kann die Klonmischung in FFPE widerspiegeln (MAF TP53 vs. TSC2 in FFPE: 43,22 % vs. 2,15 %). Insgesamt nahmen die MAFs mit der Zeit nach der Operation ab, aber einige Mutationen zeigten einen vorübergehenden Anstieg bei Tag 1 und Tag 4. In den Fällen mit vollständiger Resektion und mehr als einer Genmutation in der cfDNA konnte gezeigt werden, dass alle Mutationen entweder signifikant in der MAF, im Vergleich vom Ausgangswert zu den postoperativen Tagen 1, 4 und 10, abnahmen oder einen sehr geringen Anstieg hatten (KEM-031, PIK3CA). Im Vergleich hatten Patientinnen mit Tumorrest in den meisten Mutationen (9 von 19) einen Anstieg des MAF vom Ausgangswertes zu den postoperativen Tagen 1,4,10. Nur wenige Mutationen (7 von 21) hatten einen konsistenten Rückgang des MAF vom Ausgangswert bis zum postoperativen Tag. Zwei Patientinnen, (KEM-001: TP53; KEM-027: ERBB2) bei welchen postoperativ ein Tumorrest verblieb, zeigten eine Schwankung des MAF von der Baseline bis zu den folgenden Tagen. Zunächst nahm sie am postoperativen Tag 1 ab, am postoperativen Tag 4 zu und zum postoperativen Tag 10 wieder ab. Von 13 Patientinnen mit mindestens zwei Mutationen in getrennten Genen zeigte sich bei acht Patientinnen ein Trend, der der Mutation in TP53 sehr ähnlich war, die anderen vier Gene waren vollständig anders: KEM-016 hatte am postoperativen Tag 1 (TP53) nur eine nachweisbare Mutation in der liquid biopsy, die andere Mutation wurde nur im Gewebe nachgewiesen. Für KEM-031 wurden zwei Mutationen nur im Gewebe und eine in der liquid biopsy zu Studienbeginn detektiert. Bei den beiden anderen Patientinnen (KEM-027, KEM-028) waren alle Mutationen zumindest im Ausgangswert in der liquid biopsy vorhanden.

Case	TR status	Mutation (gene protein)		FFPE	day				
					0	1	4	10	
16	0	<i>ERBB2</i>	p.S310F	yes					-
16	0	<i>PIK3CA</i>	p.E542A	yes					-
16	0	<i>TP53</i>	p.D228fs	yes					-
16	0	<i>TP53</i>	p.E343fs	yes					↓
21	0	<i>TP53</i>	p.R248Q	yes					↓
21	0	<i>ERBB2</i>	p.P1228L	yes					↓
23	0	<i>RB1</i>	p.Y453*	yes					↓
23	0	<i>TP53</i>	p.Y234C	yes					↓
15	0	<i>TP53</i>	p.L330fs	yes					↓
25	0	<i>TP53</i>	p.R181P	yes					↓
26	0	<i>TP53</i>	splice	yes					↓
31	0	<i>TSC1</i>	p.D802fs	yes					↓
31	0	<i>TP53</i>	p.M246fs	yes					↓
31	0	<i>ERBB2</i>	p.R816C	no					↑
2	0	<i>TP53</i>	p.R110P	yes					↓
2	0	<i>RB1</i>	p.P298fs	no					↓
22	1	<i>TP53</i>	p.R196*	yes					↓
22	1	<i>TP53</i>	p.R248Q	no					↑
18	1	<i>TSC2</i>	p.E547fs	yes					↑
18	1	<i>TP53</i>	p.R273C	yes					↑
28	1	<i>TP53</i>	p.N239D	yes					↑
28	1	<i>PIK3CA</i>	p.L113_N114insL	yes					↓
28	1	<i>TP53</i>	p.V122fs	yes					↓
1	1	<i>TP53</i>	p.V272fs	yes					↓
19	1	<i>TP53</i>	p.G244C	yes					↓
20	1	<i>TP53</i>	p.R273C	yes					↓
20	1	<i>TSC1</i>	p.Q778*	yes					↓
20	1	<i>BRCA2</i>	p.W2586*	yes					↓
27	1	<i>TP53</i>	p.G245D	yes					↓
27	1	<i>ERBB2</i>	splice	no					↑
29	1	<i>TSC2</i>	splice	yes					↑
29	1	<i>TP53</i>	p.R158G	yes					↓

Abbildung 19: Auswertung der liquid biopsy. Nur Fälle mit vollständig erhobenen Daten wurden angezeigt. Grüne Zellen bezeichnen das Vorhandensein, braune Zellen das Fehlen von Mutationen zu einem bestimmten Zeitpunkt. Pfeile geben die Unterschiede in der MAF im Vergleich zur Baseline oder Tag 1 an, wenn keine Baselinemessung verfügbar war. Die drei Fälle mit entgegengesetzten MAF-Trends am Tag 10 wurden fett markiert. Alle drei Fälle betrafen eine Mutation, die im untersuchten FFPE nicht vorhanden war.

7.6.2 Objektivierung des Tumorrestes anhand der *liquid biopsy* durch tumorgenomische Marker

Die mittlere MAF von *TP53*-Mutationen bei Patientinnen ohne Tumorrest nahm zwischen Tag 0 und Tag 10 signifikant ab, während dies bei Patientinnen mit Tumorrest nicht der Fall war. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wurden zu allen Zeitpunkten mit Ausnahme der Baseline beobachtet. Dies kann auf die postoperative Veränderung des Tumorrestes hinweisen (Abbildung 20). Der Unterschied war an Tag 10 stärker ausgeprägt, an welchem alle Patientinnen mit TR0

keinen Hinweis auf eine *TP53*-Mutation zeigten. In sieben von acht Fällen mit Tumorrest waren die *TP53*-MAFs im Bereich knapp unter dem Nachweisniveau von bis zu 3,26 % detektierbar ($p=0,008$) (Abbildung 20). Um die mögliche Verwendung der *liquid biopsy* als qualitativen diagnostischen Test zur Vorhersage des Tumorrestes bei Patientinnen mit high-grade serösem Ovarialkarzinom zu untersuchen, wurden die Sensitivität, Spezifität, der positive prädiktive Wert und der negative prädiktive Wert für die *TP53*-Daten festgelegt. Diese konnten zu allen verfügbaren perioperativen Zeitpunkten im Gewebe bestätigt werden. Auch das Vorhandensein von *TP53*-Mutationen (MAF mindestens 0,1 %) als Marker für eine unvollständige Zytoreduktion ($TR>0$) konnte gezeigt werden. In Tabelle 22 ist dokumentiert, dass sich die diagnostische Genauigkeit kontinuierlich von der Baseline zum Tag 10 verbesserte. Interessanterweise manifestierte sich bei zwei Patientinnen ohne Tumorrest keine nachweisbare *TP53*-Mutation an Tag 10, jedoch wurden andere Mutationen zu diesem Zeitpunkt nachgewiesen. Es war in der entsprechenden FFPE-Probe keine dieser Mutationen vorhanden (Abbildung 19). Unter Verwendung der chirurgisch-dynamischen Resektion (SDR) waren bei drei von sechs Patientinnen, die sich einer vollständigen Tumoresektion unterzogen haben und einer von zehn Patientinnen, die sich einer unvollständigen Resektion unterzogen haben, eine Reaktion auf dem 0,1-Signifikanzniveau nachweisbar (Abbildung 21).

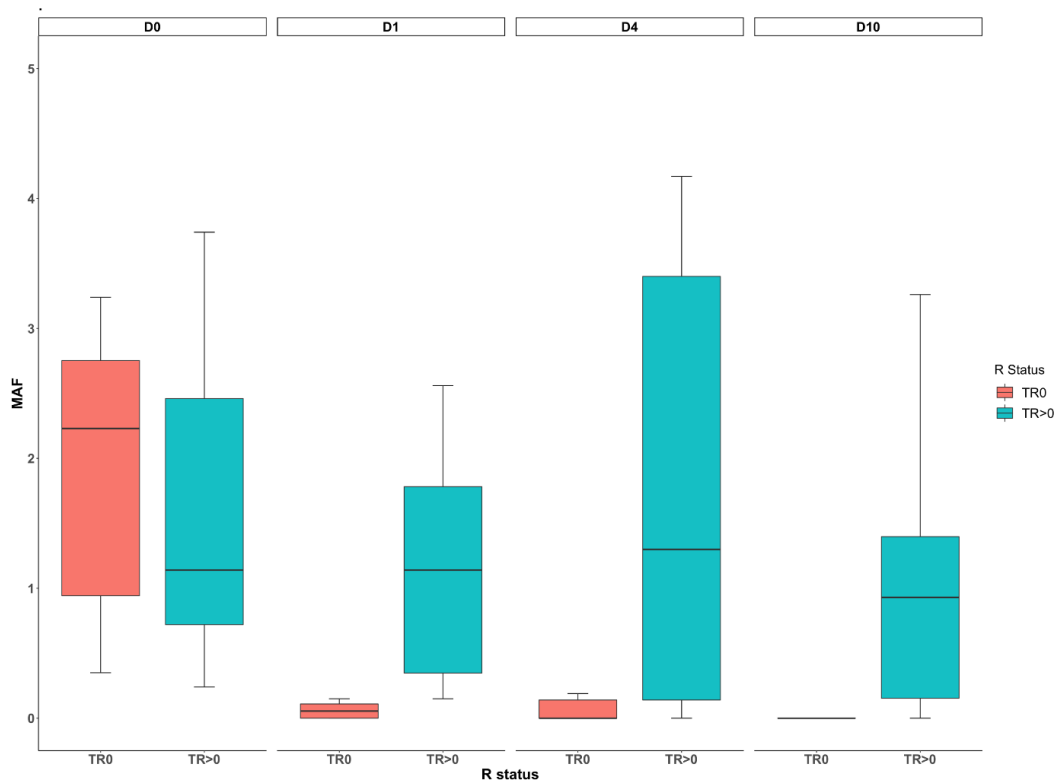


Abbildung 20: Auswertung der MAF in Bezug auf den Tumorrest zu unterschiedlichen Studienzeitpunkten. Blauer Balken = TR>0, Roter Balken= TR0; zu Studienbeginn (d0) unterschied sich *TP53* MAF nicht zwischen den nicht makroskopischen und makroskopischen Tumorrestkrankungen mit einem mittleren MAF= 1,91 gegenüber 1,73 (p=0,86). *TP53*-MAFs waren bei Patientinnen mit vollständiger Resektion des Tumorrestes signifikant niedriger als bei Patientinnen mit Resttumor am postoperativen Tag 1 (Mittlere MAF=0,06 gegenüber 2,06; p=0,002), 4 (mittlere MAF=0,07 gegenüber 1,8; p=0,04) und 10 (mittlere MAF=0 gegenüber 1,04; p=0,008).

	MAF TP53 d10	MAF TP53 d4	MAF TP53 d1	MAF TP53 d0
Sensitivität	0.87	0.9	1	0.9
Spezifität	1	0.67	0.3	0.4
Positiver prädiktiver Wert	1	0.75	0.6	0.6
Negativer prädiktiver Wert	0.9	0.85	1	0.8

Tabelle 22: Sensitivität und Spezifität der *TP53*-Minor-Allelfrequenz (MAF) in der cfDNA zur Unterscheidung zwischen vollständiger Resektion und unvollständiger Resektion an den jeweiligen postoperativen Tagen (d).

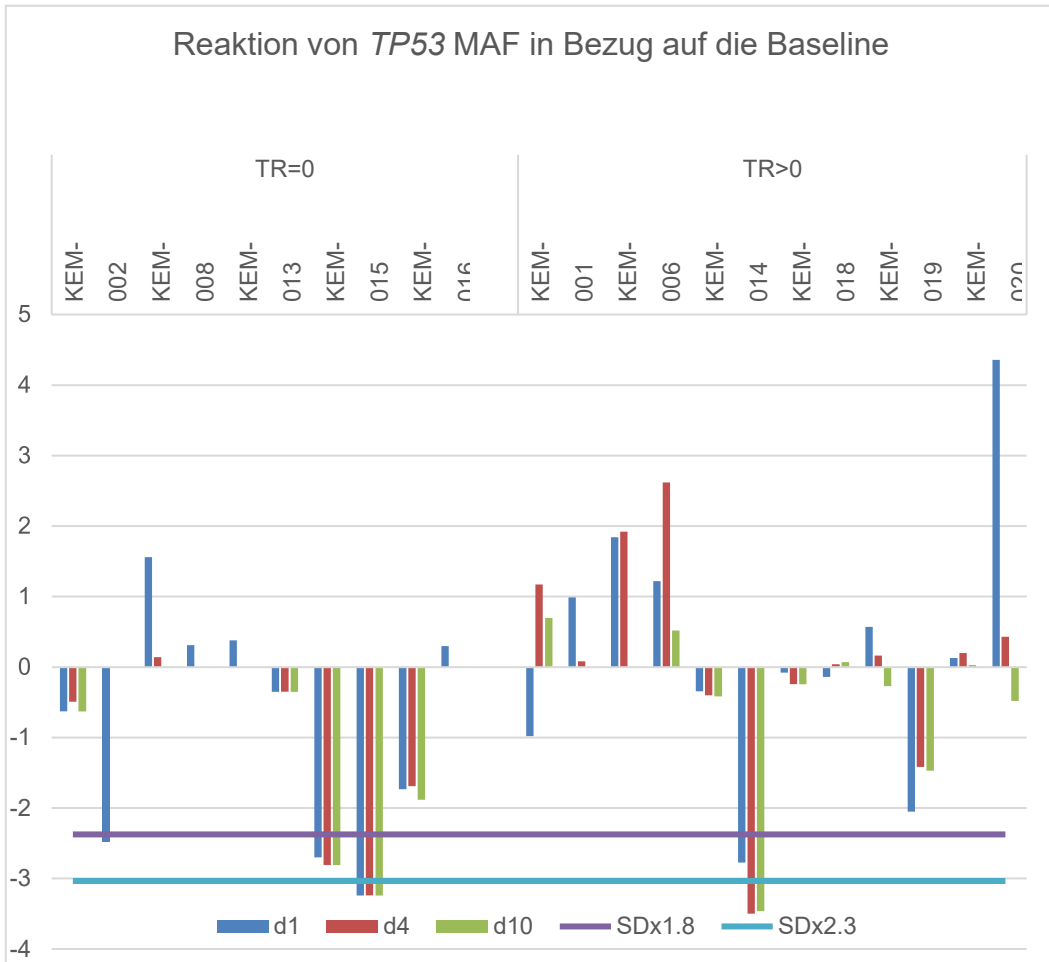


Abbildung 21: Chirurgisch-dynamisches Respons (SDR) der TP53-MAF in der cfDNA bei Patientinnen mit kompletter Resektion (TR=0) und Patientinnen mit Tumorrest (TR>0).

Das Ziel der Debulking-Operation bei Patientinnen mit primär fortgeschrittenem Ovarialkarzinom ist die makroskopische Komplettresektion. Wenn eine Komplettresektion erreicht werden kann, überleben Patientinnen im Median 99 Monate, im Vergleich zu den Patientinnen, bei welchen keine Komplettresektion erreicht werden kann, welche im Median 36,2 Monate (Tumorrest 1- 10 mm) bzw. 29,6 Monate (Tumorrest >10mm) überleben (du Bois et al. 2009). Die makroskopische Komplettresektion ist einer der wenigen Faktoren, welche die Prognose der Erkrankung determinieren, die von Ärztinnen und Ärzten beeinflusst werden kann. Neben tumorbiologischen Gründen (z.B. familiäre Karzinose auf dem Darm, viszerale Metastasen in Lunge oder Leber) spielen der Allgemein- und Ernährungszustand der Patientin und Komorbiditäten eine entscheidende Rolle, warum nicht radikal operiert werden kann. Darüber hinaus ist die operative Expertise von großer Bedeutung. Wird in Deutschland landesweit bei ca. 40 % aller behandelten Patientinnen eine Komplettresektion erreicht, liegt die Rate in Spitzenzentren bei gut 67 % (Bristow et al. 2002; Harter et al. 2011a). Dementsprechend gibt die Europäische Gesellschaft für gynäkologische Onkologie (ESGO) als Qualitätsindikator für die operative Behandlung des fortgeschrittenen Ovarialkarzinoms das optimale Ziel einer Komplettresektionsrate von 65 % an. Als minimale Rate sollten ≥ 50 % erreicht werden (Querleu et al. 2016). Die Größe des postoperativen Tumorrestes wird durch den Operateur am Ende der Operation bestimmt, woraus jedoch eine (subjektive) Verzerrung entstehen kann (Préfontaine et al. 1994).

Um diese mögliche Verzerrung des wichtigsten von behandelnden Ärztinnen und Ärzten zu beeinflussenden Prognoseparameters objektiv bestimmen zu können, wurden in der vorliegenden Arbeit zwei Untersuchungsansätze evaluiert.

In einer retrospektiven Auswertung von routinemäßig prächemotherapeutisch bestimmten CA125 Werten von 466 Patientinnen aus zwei, auf Ovarialkarzinom-Therapie spezialisierten Zentren, wurde ein cut-off Wert bestimmt, welcher zwischen Patientinnen mit und ohne Tumorrest unterscheiden sollte. In einer prospektiven proof-of-principle Studie wurden bei 10 Patientinnen mit und 10 Patientinnen ohne Tumorrest perioperativ die Tumormarker CA125 und HE4 aus Serum und Aszites bestimmt sowie eine „liquid biopsy“ zu verschiedenen Zeitpunkten abgenommen.

Der CA125 cut-off Wert, welcher zur Unterscheidung von Patientinnen mit und ohne Tumorrest zuerst evaluiert und dann mit Hilfe verschiedenen Testverfahren validiert wurde, lag bei 400 U/ml.

Mit Hilfe dieses cut-off Wertes wurde ein positiv prädiktiver Wert von 0,65 erreicht, was bedeutet, dass bei einem positiven Test (CA125 >400 U/ml) bei 65 % der Patientinnen während der Operation ein Tumorrest >0 zurückgeblieben war. Die Spezifität dieses cut-off Wertes lag bei 90 %, die Sensitivität allerdings nur bei 32 %. In dem zweiten prospektiv geplanten und durchgeführten Teil der vorliegenden Arbeit wurde neben der- im unteren Teil weiter diskutierten- Evaluation der *liquid biopsy* als Test zur Objektivierung des Tumorrestes auch nochmals CA125 im Serum, aber auch CA125 im Aszites und HE4 im Serum und Aszites im perioperativen Verlauf bestimmt. In den entsprechenden Analysen konnte gezeigt werden- in der retrospektiven Erhebung des Serum CA125, aber auch des Serum HE4, dass eine Trennung von Patientinnen mit und ohne Tumorrest nicht gut möglich ist. Dies liegt v.a. an der starken Abnahme des CA125 und HE4 auch bei den Patientinnen, bei welchen Tumorrest verbleiben musste. Die niedrige Sensitivität des CA125-cut-off Wertes, aber auch der fehlende selektive Abfall des CA125 und HE4 bei Patientinnen mit Komplettresektion lässt sich durch die verschiedenen Faktoren erklären, welche Einfluss auf den CA125-Wert haben. Neben den klinisch-pathologischen Faktoren (FIGO; T-Stadium, N-Stadium, Aszites, Tumorrest), die die Höhe des CA125-Wertes beeinflussen, können diese Werte auch in wiederholten Analysen im gleichen Labor variabel sein (Variabilität 1,5-2,5 %) (Tso et al. 2006). Verschiedene CA125 Assays können zu unterschiedlichen Ergebnissen führen (Koper et al. 1997). Darüber hinaus haben auch der Body-Mass Index und die ethnische Herkunft einen Einfluss auf die Höhe der CA125 (Babic et al. 2017). Einer der entscheidenden Gründe für das Abfallen der Tumormarker CA125 und HE4 im Serum der Patientinnen, die in die prospektive Untersuchung aufgenommen wurden, könnte in der generellen Verringerung des Aszites durch die operative Intervention liegen (Edula et al. 2018). Darüber hinaus kann durch das im Serum langlebige CA125 (Halbwertszeit ca. 168h) (Bidart et al. 1999) und HE4 (Halbwertszeit ca. 4h) (Thompson et al. 2018) der Tumorrest auch direkt postoperativ nicht reproduzierbar bestimmt werden. Die Untersuchung der logarithmierten CA125-Werte im Aszites zeigte bei Patientinnen mit einer vollständigen Tumoresektion einen signifikanten Unterschied der Baseline-werte im Vergleich zu den postoperativen Tagen. Dieser Unterschied war bei Patientinnen mit Tumorrest nicht gegeben. Ebenso verhielt es sich mit den HE4-Werten. Damit konnte verdeutlicht werden, dass sich die absoluten Veränderungen der Tumormarkerspiegel im Aszites mittels eines deutlichen Rückgangs der Tumorlast auswirkten. Gezeigt werden konnte, dass durch die Verwendung der SDR für den CA125-Spiegel im Aszites bei 100 % der Patientinnen mit Komplettresektion und bei etwa 44

% ohne Komplettresektion eine Reaktion bei einem 0,1-Signifikanzniveau liegt. Bei Verwendung der SDR für den HE4-Spiegel im Aszites konnte gezeigt werden, dass bei etwa 78 % der Patientinnen mit Komplettresektion und bei 0 % ohne Komplettresektion eine Reaktion bei einem Signifikanzniveau von 0,5 liegt. Aufgrund der eingeschränkten Testgüte scheint der prächemotherapeutische CA125-cut-off Wert, aber auch der postoperativ bestimmte Serum CA125- und HE4-Wert keine bedeutsame Wertigkeit in der individuellen Bewertung und Objektivierung des operativen Ergebnisses aufzuweisen. Möglicherweise könnte dieser Wert allerdings als Parameter zur Konsistenzbestimmung der angegebenen Komplettresektionsraten eines Zentrums im Rahmen von Zertifizierungsprozessen genutzt und damit zur Überprüfung der operativen Qualität einer Klinik herangezogen werden. Um eine individuelle, objektive Aussage über das Operationsergebnis zu erlangen, wurde eine weitere -prospektive- Analyse in Zusammenarbeit mit der Firma NewOncology in dieser Arbeit durchgeführt. Es wurden die Tumormarker CA125 und HE4 sowie die *liquid biopsy* in Bezug auf den Tumorrest untersucht. Die wichtigsten Punkte zu der Bestimmung der CA125- und HE4-Werte wurden bereits im oberen Abschnitt besprochen.

Für diese prospektive Untersuchung wurden ausschließlich Patientinnen mit high-grade serösen Ovarialkarzinomen eingeschlossen. In diesen Tumoren liegt fast immer eine pathologische *TP53*-Mutation vor (The Cancer Genome Atlas Research Network 2011), welche prinzipiell auch als cell-free DNA (cfDNA) im Plasma von Patientinnen mit Ovarialkarzinom nachgewiesen werden kann (Ahmed et al. 2010; Parkinson et al. 2016). Eben dies konnte auch bei allen eingeschlossenen Patientinnen sowohl immunhistochemisch als auch in der Panel-Sequenzierung der Tumorproben nachgewiesen werden. Im Vergleich der Patientinnen mit und ohne Tumorrest konnte bei 8 und 9 Patientinnen in der baseline cfDNA Probe eine *TP53*-Mutation nachgewiesen werden. In Bezug zur sequentiellen perioperativen Analyse zeigte sich bei 10 von 10 Patientinnen ohne Tumorrest eine signifikante Reduktion der mittleren *TP53*-Mutationen MAF. Im Vergleich dazu konnte bei Patientinnen mit Tumorrest eine signifikante Reduktion der *TP53*-Mutationen MAF bei 1 von 10 Patientinnen nicht gezeigt werden. Zwischen den beiden Gruppen (mit und ohne Tumorrest) war während beider postoperativen Zeitpunkte der Untersuchung ein signifikanter Unterschied nachweisbar. Auch wenn die Anzahl der Patientinnen, die in die prospektive proof-of principle Studie eingeschlossen wurden, klein ist, scheint die vollständige Reduktion der *TP53* MAF in der cfDNA, bei Patientinnen mit Komplettresektion regelgerecht nachweisbar zu sein. Im Gegensatz dazu war nur bei einer Patientin mit Tumorrest die *TP53* MAF bis unter die

Nachweisgrenze gesunken. Somit könnte die Bestimmung der *TP53*-Mutation in der cfDNA ein mögliches Instrument zur objektivierbaren Bestimmung der Tumoraktivität im perioperativen Verlauf sein. Neben der höheren Sensitivität der MAF der *TP53*-Mutation hat die cfDNA im Plasma eine Halbwertszeit von zwei Stunden (Khier und Lohan 2018) und ist dadurch bessergeeigneter Parameter zur Bestimmung zeitkritisch-dynamischer Prozesse, wie in der hier vorliegenden Studie, welche bis zum 10. postoperativen Tag dauerte.

Der CA125-cut-off Wert - aus dem retrospektiven Teil der vorliegenden Arbeit zur Unterscheidung von Patientinnen mit und ohne Tumorrest war von den Testgütekriterien nicht hinreichend, um individuelle Aussagen in Bezug zu dem Resektionsstatus der Patientinnen machen zu können. Im Gegensatz dazu scheint die Untersuchung der *TP53* MAF in der cfDNA genau dafür geeignet zu sein. Ein gut validierter Test zur objektiven Bestimmung des Tumorrestes von Patientinnen mit fortgeschrittenem Ovarialkarzinom könnte dazu beitragen, als zuverlässiger und unabhängiger Marker für das Ergebnis der chirurgischen Intervention in jedem Zentrum verwendet zu werden. Dazu beitragen könnten zeitnahe Veröffentlichungen, dass die Zentren eine optimierte chirurgische Intervention durchführen (Brand et al. 2017). Neben der infrastrukturellen Verbesserung der Qualität des Zentrums durch die objektive Bestimmung des Tumorrestes könnten auch einzelne Patientinnen von der objektiven Bestimmung profitieren. Patientinnen mit übereinstimmenden Ergebnissen (Chirurg und cfDNA-Test bestätigen vollständige Resektion) hätten die optimale chirurgische Intervention erhalten. Sollte es keine Übereinstimmung der beiden Parameter geben, könnten damit Patientinnen genauer überwacht werden und optimalere Behandlungsentscheidungen getroffen werden (Grabowski et al. 2012b). Außerdem könnte die cfDNA-Bestimmung kurz vor und nach der Chemotherapie dazu beitragen, weitere prognostische und sogar prädiiktive Maßnahmen zu beginnen. In einer retrospektiven Analyse von 51 Patientinnen mit einem Rezidiv des Ovarialkarzinoms wurde gezeigt, dass die *TP53*-Mutationniveaus in der cfDNA vor der Behandlung und eine Abnahme der *TP53*-MFA >60 % zwischen dem Ausgangswert und einer Blutabnahme nach dem ersten Zyklus der Chemotherapie mit einer längeren Zeit bis zum Progress assoziiert waren (Parkinson et al. 2016). Sollte es bei Patientinnen keine ausreichende Reduktion der *TP53*-MAF geben, könnte die Chemotherapie frühzeitig abgebrochen oder spezifische Studien zur weiteren Bewertung neuer Behandlungsstrategien durchgeführt werden.

Diese proof-of-principle Studie hat einige Limitationen. Die Ergebnisse müssen an einem größeren Kollektiv von Patientinnen validiert werden. Darüber hinaus können mit

dem vorliegenden Ansatz, bei welchem die *TP53*-Mutation in der cfDNA verfolgt wird, nur bei Tumoren durchgeführt werden, bei welchen auch eine *TP53*-Mutation im Tumor vorhanden ist. Dies gilt zwar für alle high-grade serösen Tumoren, welche ca. 80 % aller epithelialen Tumoren ausmachen (Ahmed et al. 2010). Die anderen ca. 20 % der epithelialen Ovarialkarzinome enthalten andere Mutationen (z.B. *KRAS*, *ARID1A*), für welche ein ähnliches Muster, wie in der hier vorliegenden Studie nun für die high-grade serösen Karzinome gezeigt, nachgewiesen werden müsste. Darüber hinaus ist die Sensitivität des vorliegenden Assays nicht ganz optimal. Bei 25 % aller Fälle konnte zur Baseline Untersuchung keine *TP53*-Mutation in der cfDNA entdeckt werden. Darüber hinaus war bei allen Patientinnen, bei welchen eine Komplettresektion erfolgt war, an Tag 10 der untere Grenzwert der *TP53* MAF erreicht. Nichtsdestoweniger ist bekannt, dass auch bei diesen Patientinnen eine „minimal-residual disease“ vorliegt und die Patientinnen eine Chemotherapie im Anschluss benötigen. Um die o.g. interventionellen Maßnahmen bei Patientinnen mit „minimal-residual disease“ durchführen zu können, muss die Nachweisgrenze der *TP53* MAF weiter gesenkt werden. Dennoch weist die Studie verschiedene Stärken auf. Dazu gehört, dass es nach derzeitigem Kenntnisstand die erste prospektive Studie ist, die zu einem analytisch gültigen Test zur objektiven Bestimmung des Tumorrestes nach einer Debulking-Operation von Patientinnen mit einem fortgeschrittenem Ovarialkarzinom führt.

In der hier vorliegenden Dissertationsschrift wurden verschiedene Methoden zur objektiven Evaluation des postoperativen Tumorrestes analysiert. Zum einen wurden die bekannten Tumormarker CA125 und HE4, zum anderen aber auch die *liquid biopsy* verwendet. Die bereits etablierten Tumormarker CA125 und HE4 scheinen sich zur individuellen Bestimmung des postoperativen Tumorrestes aufgrund einer niedrigen Sensitivität und Spezifität nicht zu eignen. Allerdings könnten diese ggf. im Rahmen von Zertifizierungen zur objektiven Evaluation angegebener Komplettresektionsraten hinzugezogen werden. Mit Hilfe der *liquid biopsy* und der damit verbundenen Analyse von tumoreigenen Mutationen, wie in der hier vorliegenden Studie der *TP53*-Mutation, kann auch eine individuelle Aussage über den postoperativen Tumorrest gemacht werden. Um die Validität dieser Untersuchung zu untermauern, müssen größere Kollektive von Patientinnen untersucht werden. Darüber hinaus müssen gerade auch für Patientinnen, deren Tumoren keine *TP53*-Mutation enthalten, andere Mutationen identifiziert werden, die auch in der cfDNA verfolgt werden können.

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen herzlichen Dank aussprechen, die mich während der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben. Insbesondere danke ich allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Klinik für Gynäkologie und gynäkologische Onkologie der Kliniken Essen Mitte für ihre freundliche Unterstützung bei der Entstehung dieser Arbeit. Desweiteren gilt der Dank dem gesamten Team aus der Klinik für Gynäkologie mit Zentrum für onkologische Chirurgie und Klinik für Gynäkologie an der Berliner Charité Benjamin Franklin und aus der Klinik für Frauenheilkunde der Dr.Horst Schmidt Klinik Wiesbaden für die Bereitstellung der Patientinnendaten.

Zu guter Letzt gehört der besondere Dank meiner Familie. Ich danke meinen Eltern für die liebevolle, finanzielle aber auch immer wieder fordernde Unterstützung, die mich die Jahre des Studiums und der Assistenzarztzeit vorangebracht hat. Tiefe Dankbarkeit gilt meinem Vater, der mich schon früh an den Beruf des Arztes herangeführt hat, wodurch er meine Persönlichkeit und meinen Willen, diesen Beruf auszuüben besonders geprägt hat, und der mich in all meinen Entscheidungen immer wieder unterstützt hat.

Literaturverzeichnis

Agenzia internazionale per la ricerca sul cancro (1999): IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon: IARC.

Ahmed, Ahmed Ashour; Etemadmoghadam, Dariush; Temple, Jillian; Lynch, Andy G.; Riad, Mohamed; Sharma, Raghwa et al. (2010): Driver mutations in TP53 are ubiquitous in high grade serous carcinoma of the ovary. In: *The Journal of pathology* 221 (1), S. 49–56. DOI: 10.1002/path.2696.

Allard, J.; Somers, E.; Theil, R.; Moore, R. G. (2008): Use of a novel biomarker HE4 for monitoring patients with epithelial ovarian cancer. In: *JCO* 26 (15_suppl), S. 5535. DOI: 10.1200/jco.2008.26.15_suppl.5535.

Anderson, Garnet L.; Judd, Howard L.; Kaunitz, Andrew M.; Barad, David H.; Beresford, Shirley A. A.; Pettinger, Mary et al. (2003): Effects of estrogen plus progestin on gynecologic cancers and associated diagnostic procedures. The Women's Health Initiative randomized trial. In: *JAMA* 290 (13), S. 1739–1748. DOI: 10.1001/jama.290.13.1739.

Antoniou, A.; Pharoah, P. D. P.; Narod, S.; Risch, H. A.; Eyfjord, J. E.; Hopper, J. L. et al. (2003): Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history. A combined analysis of 22 studies. In: *American journal of human genetics* 72 (5), S. 1117–1130. DOI: 10.1086/375033.

Axtell, Allison E.; Lee, Margaret H.; Bristow, Robert E.; Dowdy, Sean C.; Cliby, William A.; Raman, Steven et al. (2007): Multi-institutional reciprocal validation study of computed tomography predictors of suboptimal primary cytoreduction in patients with advanced ovarian cancer. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 25 (4), S. 384–389. DOI: 10.1200/JCO.2006.07.7800.

Babic, Ana; Cramer, Daniel W.; Kelemen, Linda E.; Köbel, Martin; Steed, Helen; Webb, Penelope M. et al. (2017): Predictors of pretreatment CA125 at ovarian cancer diagnosis: a pooled analysis in the Ovarian Cancer Association Consortium. In: *Cancer causes & control : CCC* 28 (5), S. 459–468. DOI: 10.1007/s10552-016-0841-3.

Bell, Debra A.; Longacre, Teri A.; Prat, Jaime; Kohn, Elise C.; Soslow, Robert A.; Eilenson, Lora H. et al. (2004): Serous borderline (low malignant potential, atypical proliferative) ovarian tumors: workshop perspectives. In: *Human pathology* 35 (8), S. 934–948. DOI: 10.1016/j.humpath.2004.03.005.

Beral, V.; Doll, R.; Hermon, C.; Peto, R.; Reeves, G. (2008): Ovarian cancer and oral contraceptives. Collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls. In: *Lancet (London, England)* 371 (9609), S. 303–314. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60167-1.

Bonadona, Valérie; Bonaïti, Bernard; Olschwang, Sylviane; Grandjouan, Sophie; Huiart, Laetitia; Longy, Michel et al. (2011): Cancer risks associated with germline mutations in MLH1, MSH2, and MSH6 genes in Lynch syndrome. In: *JAMA* 305 (22), S. 2304–2310. DOI: 10.1001/jama.2011.743.

Brand, A. H.; DiSilvestro, P. A.; Sehouli, J.; Berek, J. S. (2017): Cytoreductive surgery for ovarian cancer. Quality assessment. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 28 (suppl_8), viii25-viii29. DOI: 10.1093/annonc/mdx448.

Brand, Alison H. (2011): Ovarian cancer debulking surgery. A survey of practice in Australia and New Zealand. In: *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 21 (2), S. 230–235. DOI: 10.1097/IGC.0b013e318205fb4f.

Brinton, Louise A.; Moghissi, Kamran S.; Scoccia, Bert; Westhoff, Carolyn L.; Lamb, Emmet J. (2005): Ovulation induction and cancer risk. In: *Fertility and sterility* 83 (2), 261-74; quiz 525-6. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.09.016.

Bristow, Robert E.; Tomacruz, Rafael S.; Armstrong, Deborah K.; Trimble, Edward L.; Montz, F. J. (2002): Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era. A meta-analysis. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 20 (5), S. 1248–1259. DOI: 10.1200/JCO.2002.20.5.1248.

Burger, Robert A.; Brady, Mark F.; Bookman, Michael A.; Fleming, Gini F.; Monk, Bradley J.; Huang, Helen et al. (2011): Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer. In: *The New England journal of medicine* 365 (26), S. 2473–2483. DOI: 10.1056/NEJMoa1104390.

Burges, Alexander; Schmalfeldt, Barbara (2011): Ovarian cancer. Diagnosis and treatment. In: *Deutsches Arzteblatt international* 108 (38), S. 635–641. DOI: 10.3238/arztebl.2011.0635.

Buys, Sandra S.; Partridge, Edward; Black, Amanda; Johnson, Christine C.; Lamerato, Lois; Isaacs, Claudine et al. (2011): Effect of screening on ovarian cancer mortality. The Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. In: *JAMA* 305 (22), S. 2295–2303. DOI: 10.1001/jama.2011.766.

Cetin, I.; Cozzi, V.; Antonazzo, P. (2008): Infertility as a cancer risk factor - a review. In: *Placenta* 29 Suppl B, S. 169–177. DOI: 10.1016/j.placenta.2008.08.007.

Chi, Dennis S.; Ramirez, Pedro T.; Teitcher, Jerrold B.; Mironov, Svetlana; Sarasohn, Debra M.; Iyer, Revathy B. et al. (2007): Prospective study of the correlation between postoperative computed tomography scan and primary surgeon assessment in patients with advanced ovarian, tubal, and peritoneal carcinoma reported to have undergone primary surgical cytoreduction to residual disease 1 cm or less. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 25 (31), S. 4946–4951. DOI: 10.1200/JCO.2007.12.2317.

- Choi, Hyuck Jae; Ju, Woong; Myung, Seung Kwon; Kim, Yeol (2010): Diagnostic performance of computer tomography, magnetic resonance imaging, and positron emission tomography or positron emission tomography/computer tomography for detection of metastatic lymph nodes in patients with cervical cancer. Meta-analysis. In: *Cancer science* 101 (6), S. 1471–1479. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01532.x.
- Cibula, D.; Widschwendter, M.; Májek, O.; Dusek, L. (2011): Tubal ligation and the risk of ovarian cancer. Review and meta-analysis. In: *Human reproduction update* 17 (1), S. 55–67. DOI: 10.1093/humupd/dmq030.
- Couch, Fergus J.; Wang, Xianshu; McGuffog, Lesley; Lee, Andrew; Olswold, Curtis; Kuchenbaecker, Karoline B. et al. (2013): Genome-wide association study in BRCA1 mutation carriers identifies novel loci associated with breast and ovarian cancer risk. In: *PLoS genetics* 9 (3), e1003212. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003212.
- DeSantis, Carol E.; Lin, Chun Chieh; Mariotto, Angela B.; Siegel, Rebecca L.; Stein, Kevin D.; Kramer, Joan L. et al. (2014): Cancer treatment and survivorship statistics, 2014. In: *CA: a cancer journal for clinicians* 64 (4), S. 252–271. DOI: 10.3322/caac.21235.
- du Bois, A.; Neijt, J. P.; Thigpen, J. T. (1999): First line chemotherapy with carboplatin plus paclitaxel in advanced ovarian cancer--a new standard of care? In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 10 Suppl 1, S. 35–41.
- du Bois, A.; Quinn, M.; Thigpen, T.; Vermorken, J.; Avall-Lundqvist, E.; Bookman, M. et al. (2005): 2004 consensus statements on the management of ovarian cancer. Final document of the 3rd International Gynecologic Cancer Intergroup Ovarian Cancer Consensus Conference (GCIIG OCCC 2004). In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 16 Suppl 8, viii7-viii12. DOI: 10.1093/annonc/mdi961.
- du Bois, Andreas; Lück, Hans-Joachim; Meier, Werner; Adams, Hans-Peter; Möbus, Volker; Costa, Serban et al. (2003): A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer. In: *Journal of the National Cancer Institute* 95 (17), S. 1320–1329.
- du Bois, Andreas; Reuss, Alexander; Harter, Philipp; Pujade-Lauraine, Eric; Ray-Coquard, Isabelle; Pfisterer, Jacobus (2010): Potential role of lymphadenectomy in advanced ovarian cancer. A combined exploratory analysis of three prospectively randomized phase III multicenter trials. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 28 (10), S. 1733–1739. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.3617.
- du Bois, Andreas; Reuss, Alexander; Pujade-Lauraine, Eric; Harter, Philipp; Ray-Coquard, Isabelle; Pfisterer, Jacobus (2009): Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer. A combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom (AGO-OVAR) and the

- Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO). In: *Cancer* 115 (6), S. 1234–1244. DOI: 10.1002/cncr.24149.
- du Bois, Andreas; Sehouli, Jalid; Vergote, Ignace; Ferron, Gwenael; Reuss, Alexander; Meier, Werner et al. (2020): Randomized phase III study to evaluate the impact of secondary cytoreductive surgery in recurrent ovarian cancer: Final analysis of AGO DESKTOP III/ENGOT-ov20. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 38 (15_suppl), S. 6000. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.6000.
- Eisenhauer, Eric L.; Abu-Rustum, Nadeem R.; Sonoda, Yukio; Levine, Douglas A.; Poyner, Elizabeth A.; Aghajanian, Carol et al. (2006): The addition of extensive upper abdominal surgery to achieve optimal cytoreduction improves survival in patients with stages IIIc-IV epithelial ovarian cancer. In: *Gynecologic oncology* 103 (3), S. 1083–1090. DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.06.028.
- Eisenkop, S. M.; Spirtos, N. M. (2001): What are the current surgical objectives, strategies, and technical capabilities of gynecologic oncologists treating advanced epithelial ovarian cancer? In: *Gynecologic oncology* 82 (3), S. 489–497. DOI: 10.1006/gyno.2001.6312.
- Finch, Amy; Beiner, Mario; Lubinski, Jan; Lynch, Henry T.; Moller, Pal; Rosen, Barry et al. (2006): Salpingo-oophorectomy and the risk of ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancers in women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. In: *JAMA* 296 (2), S. 185–192. DOI: 10.1001/jama.296.2.185.
- Friedlander, Michael; Trimble, Edward; Tinker, Anna; Alberts, David; Avall-Lundqvist, Elisabeth; Brady, Mark et al. (2011): Clinical trials in recurrent ovarian cancer. In: *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 21 (4), S. 771–775. DOI: 10.1097/IGC.0b013e31821bb8aa.
- González-Martín, Antonio; Pothuri, Bhavana; Vergote, Ignace; DePont Christensen, René; Graybill, Whitney; Mirza, Mansoor R. et al. (2019): Niraparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. In: *The New England journal of medicine* 381 (25), S. 2391–2402. DOI: 10.1056/NEJMoa1910962.
- Grabowski, J. P.; Harter, P.; Buhrmann, C.; Lorenz, D.; Hils, R.; Kommoss, S. et al. (2012a): Re-operation outcome in patients referred to a gynecologic oncology center with presumed ovarian cancer FIGO I-IIIa after sub-standard initial surgery. In: *Surgical oncology* 21 (1), S. 31–35. DOI: 10.1016/j.suronc.2010.08.006.
- Grabowski, Jacek P.; Harter, Philipp; Hils, Rita; Lorenz, Dietmar; Kaub, Christine; Barinoff, Jana et al. (2012b): Outcome of immediate re-operation or interval debulking after chemotherapy at a gynecologic oncology center after initially incomplete cytoreduction of advanced ovarian cancer. In: *Gynecologic oncology* 126 (1), S. 54–57. DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.03.044.
- Hambleton, J.; Novotny, W. F.; Hurwitz, H.; Fehrenbacher, L.; Cartwright, T.; Hainsworth, J. et al. (2004): Bevacizumab does not increase bleeding in patients with metastatic colorectal cancer receiving concurrent anticoagulation. In: *JCO* 22 (14_suppl), S. 3528. DOI: 10.1200/jco.2004.22.90140.3528.

- Harter, Philipp; du Bois, Andreas; Hahmann, Maik; Hasenburg, Annette; Burges, Alexander; Loibl, Sibylle et al. (2006): Surgery in recurrent ovarian cancer: the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie (AGO) DESKTOP OVAR trial. In: *Annals of surgical oncology* 13 (12), S. 1702–1710. DOI: 10.1245/s10434-006-9058-0.
- Harter, Philipp; Hauke, Jan; Heitz, Florian; Reuss, Alexander; Kommoss, Stefan; Marmé, Frederik et al. (2017): Prevalence of deleterious germline variants in risk genes including BRCA1/2 in consecutive ovarian cancer patients (AGO-TR-1). In: *PloS one* 12 (10), e0186043. DOI: 10.1371/journal.pone.0186043.
- Harter, Philipp; Muallem, Zelal M.; Buhrmann, Christine; Lorenz, Dietmar; Kaub, Christine; Hils, Rita et al. (2011a): Impact of a structured quality management program on surgical outcome in primary advanced ovarian cancer. In: *Gynecologic oncology* 121 (3), S. 615–619. DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.02.014.
- Harter, Philipp; Sehouli, Jalid; Lorusso, Domenica; Reuss, Alexander; Vergote, Ignace; Marth, Christian et al. (2019): A Randomized Trial of Lymphadenectomy in Patients with Advanced Ovarian Neoplasms. In: *The New England journal of medicine* 380 (9), S. 822–832. DOI: 10.1056/NEJMoa1808424.
- Harter, Philipp; Sehouli, Jalid; Reuss, Alexander; Hasenburg, Annette; Scambia, Giovanni; Cibula, David et al. (2011b): Prospective validation study of a predictive score for operability of recurrent ovarian cancer. The Multicenter Intergroup Study DESKTOP II. A project of the AGO Kommission OVAR, AGO Study Group, NOGGO, AGO-Austria, and MITO. In: *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 21 (2), S. 289–295. DOI: 10.1097/IGC.0b013e31820aaafd.
- Heintz, A. P. M.; Odicino, F.; Maisonneuve, P.; Quinn, M. A.; Benedet, J. L.; Creasman, W. T. et al. (2006): Carcinoma of the ovary. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. In: *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics* 95 Suppl 1, S161-92. DOI: 10.1016/S0020-7292(06)60033-7.
- Heitz, Florian; Harter, Philipp; Alesina, Piero F.; Walz, Martin K.; Lorenz, Dietmar; Groeben, Harald et al. (2016): Pattern of and reason for postoperative residual disease in patients with advanced ovarian cancer following upfront radical debulking surgery. In: *Gynecologic oncology* 141 (2), S. 264–270. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.03.015.
- Höhn, A. K.; Eienkel, J.; Wittekind, C.; Horn, L-C (2014): Neue FIGO-Klassifikation des Ovarial-, Tuben und primären Peritonealkarzinoms. In: *Der Pathologe* 35 (4), S. 322–326. DOI: 10.1007/s00292-014-1908-0.
- Huy, Nguyen Vu Quoc; van Khoa, Vo; Le Tam, Minh; Vinh, Truong Quang; Tung, Nguyen Sanh; Thanh, Cao Ngoc; Chuang, Linus (2018): Standard and optimal cut-off values of serum ca-125, HE4 and ROMA in preoperative prediction of ovarian cancer in Vietnam. In: *Gynecologic oncology reports* 25, S. 110–114. DOI: 10.1016/j.gore.2018.07.002.

- Jacobs, I.; Bast, R. C. (1989): The CA 125 tumour-associated antigen: a review of the literature. In: *Human reproduction (Oxford, England)* 4 (1), S. 1–12. DOI: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136832.
- Jacobs, Ian J.; Menon, Usha; Ryan, Andy; Gentry-Maharaj, Aleksandra; Burnell, Matthew; Kalsi, Jatinderpal K. et al. (2016): Ovarian cancer screening and mortality in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS). A randomised controlled trial. In: *Lancet (London, England)* 387 (10022), S. 945–956. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01224-6.
- Jacobs, Ian Jeffery: CA 125 in the physiology and pathology of the female reproductive tract ; with particular reference to the diagnosis of ovarian cancer.
- Kaatsch, Peter; Spix, Claudia; Katalinic, Alexander; Hentschel, Stefan; Luttmann, Sabine; Stegmaier, Christa et al. (2015): Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Krebs in Deutschland 2011/2012. 10., Ausgabe. Berlin: Robert Koch-Institut (Gesundheitsberichterstattung für Deutschland).
- Kast, K.; Arnold, N. (2012): Gendiagnostik bei familiären Tumoren. In: *Gynäkologe* 45 (1), S. 28–34. DOI: 10.1007/s00129-011-2857-9.
- Kato, Terufumi; Seto, Takashi; Nishio, Makoto; Goto, Koichi; Yamamoto, Noboru; Okamoto, Isamu et al. (2018): Erlotinib Plus Bevacizumab Phase II Study in Patients with Advanced Non-small-Cell Lung Cancer (JO25567): Updated Safety Results. In: *Drug safety* 41 (2), S. 229–237. DOI: 10.1007/s40264-017-0596-0.
- Kauff, Noah D.; Satagopan, Jaya M.; Robson, Mark E.; Scheuer, Lauren; Hensley, Martee; Hudis, Clifford A. et al. (2002): Risk-reducing salpingo-oophorectomy in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation. In: *The New England journal of medicine* 346 (21), S. 1609–1615. DOI: 10.1056/NEJMoa020119.
- Khier, Sonia; Lohan, Laura (2018): Kinetics of circulating cell-free DNA for biomedical applications. Critical appraisal of the literature. In: *Future science OA* 4 (4), FSO295. DOI: 10.4155/fsoa-2017-0140.
- Koper, N. P.; Thomas, C. M.; Massuger, L. F.; Segers, M. F.; Kiemeny, L. A.; Verbeek, A. L. (1997): Comparison of four 'second generation' immunoassay systems to determine CA 125 in serum by using a graphical approach to method comparison analysis. In: *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry : journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies* 35 (8), S. 617–623.
- Kuhn, Elisabetta; Kurman, Robert J.; Vang, Russell; Sehdev, Ann Smith; Han, Guangming; Soslow, Robert et al. (2012): TP53 mutations in serous tubal intraepithelial carcinoma and concurrent pelvic high-grade serous carcinoma--evidence supporting the clonal relationship of the two lesions. In: *The Journal of pathology* 226 (3), S. 421–426. DOI: 10.1002/path.3023.
- Ledermann, Jonathan; Harter, Philipp; Gourley, Charlie; Friedlander, Michael; Vergote, Ignace; Rustin, Gordon et al. (2012): Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. In: *The New England journal of medicine* 366 (15), S. 1382–1392. DOI: 10.1056/NEJMoa1105535.

- Leitzmann, Michael F.; Koebnick, Corinna; Danforth, Kim N.; Brinton, Louise A.; Moore, Steven C.; Hollenbeck, Albert R. et al. (2009): Body mass index and risk of ovarian cancer. In: *Cancer* 115 (4), S. 812–822. DOI: 10.1002/cncr.24086.
- Loukola, A.; Eklin, K.; Laiho, P.; Salovaara, R.; Kristo, P.; Järvinen, H. et al. (2001): Microsatellite marker analysis in screening for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC). In: *Cancer research* 61 (11), S. 4545–4549.
- Medeiros, Fabiola; Muto, Michael G.; Lee, Yonghee; Elvin, Julia A.; Callahan, Michael J.; Feltmate, Colleen et al. (2006): The tubal fimbria is a preferred site for early adenocarcinoma in women with familial ovarian cancer syndrome. In: *The American journal of surgical pathology* 30 (2), S. 230–236. DOI: 10.1097/01.pas.0000180854.28831.77.
- Meindl, Alfons; Ditsch, Nina; Kast, Karin; Rhiem, Kerstin; Schmutzler, Rita K. (2011): Hereditary breast and ovarian cancer. New genes, new treatments, new concepts. In: *Deutsches Arzteblatt international* 108 (19), S. 323–330. DOI: 10.3238/arztebl.2011.0323.
- Meindl, Alfons; Hellebrand, Heide; Wiek, Constanze; Erven, Verena; Wappenschmidt, Barbara; Niederacher, Dieter et al. (2010): Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. In: *Nature genetics* 42 (5), S. 410–414. DOI: 10.1038/ng.569.
- Meyer, J. I.; Kennedy, A. W.; Friedman, R.; Ayoub, A.; Zepp, R. C. (1995): Ovarian carcinoma. Value of CT in predicting success of debulking surgery. In: *AJR. American journal of roentgenology* 165 (4), S. 875–878. DOI: 10.2214/ajr.165.4.7676985.
- Mirza, Mansoor R.; Monk, Bradley J.; Herrstedt, Jørn; Oza, Amit M.; Mahner, Sven; Redondo, Andrés et al. (2016): Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. In: *The New England journal of medicine* 375 (22), S. 2154–2164. DOI: 10.1056/NEJMoa1611310.
- Moore, Kathleen; Colombo, Nicoletta; Scambia, Giovanni; Kim, Byoung-Gie; Oaknin, Ana; Friedlander, Michael et al. (2018): Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. In: *The New England journal of medicine* 379 (26), S. 2495–2505. DOI: 10.1056/NEJMoa1810858.
- Moore, Richard G.; Brown, Amy K.; Miller, M. Craig; Skates, Steven; Allard, W. Jeffrey; Verch, Thorsten et al. (2008): The use of multiple novel tumor biomarkers for the detection of ovarian carcinoma in patients with a pelvic mass. In: *Gynecologic oncology* 108 (2), S. 402–408. DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.10.017.
- Moore, Richard G.; McMeekin, D. Scott; Brown, Amy K.; DiSilvestro, Paul; Miller, M. Craig; Allard, W. Jeffrey et al. (2009): A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. In: *Gynecologic oncology* 112 (1), S. 40–46. DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.08.031.
- Mørch, Lina Steinrud; Løkkegaard, Ellen; Andreasen, Anne Helms; Krüger-Kjaer, Susanne; Lidegaard, Ojvind (2009): Hormone therapy and ovarian cancer. In: *JAMA* 302 (3), S. 298–305. DOI: 10.1001/jama.2009.1052.

- Murgo, Anthony J.; Kummar, Shivaani; Rubinstein, Larry; Gutierrez, Martin; Collins, Jerry; Kinders, Robert et al. (2008): Designing phase 0 cancer clinical trials. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 14 (12), S. 3675–3682. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4560.
- Nagy, Béla; Krasznai, Zoárd T.; Balla, Heidi; Csobán, Mária; Antal-Szalmás, Péter; Hernádi, Zoltán; Kappelmayer, János (2012): Elevated human epididymis protein 4 concentrations in chronic kidney disease. In: *Annals of clinical biochemistry* 49 (Pt 4), S. 377–380. DOI: 10.1258/acb.2011.011258.
- Olsen, Catherine M.; Green, Adèle C.; Whiteman, David C.; Sadeghi, Shahram; Kohlhooz, Fariba; Webb, Penelope M. (2007): Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer. A systematic review and meta-analysis. In: *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 43 (4), S. 690–709. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.11.010.
- Parkinson, Christine A.; Gale, Davina; Piskorz, Anna M.; Biggs, Heather; Hodgkin, Charlotte; Addley, Helen et al. (2016): Exploratory Analysis of TP53 Mutations in Circulating Tumour DNA as Biomarkers of Treatment Response for Patients with Relapsed High-Grade Serous Ovarian Carcinoma. A Retrospective Study. In: *PLoS medicine* 13 (12), e1002198. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002198.
- Parmar, M. K. B.; Ledermann, J. A.; Colombo, N.; du Bois, A.; Delaloye, J-F; Kristensen, G. B. et al. (2003): Paclitaxel plus platinum-based chemotherapy versus conventional platinum-based chemotherapy in women with relapsed ovarian cancer. The ICON4/AGO-OVAR-2.2 trial. In: *Lancet (London, England)* 361 (9375), S. 2099–2106.
- Peres, Lauren C.; Cushing-Haugen, Kara L.; Köbel, Martin; Harris, Holly R.; Berchuck, Andrew; Rossing, Mary Anne et al. (2019): Invasive Epithelial Ovarian Cancer Survival by Histotype and Disease Stage. In: *Journal of the National Cancer Institute* 111 (1), S. 60–68. DOI: 10.1093/jnci/djy071.
- Perren, Timothy J.; Swart, Ann Marie; Pfisterer, Jacobus; Ledermann, Jonathan A.; Pujade-Lauraine, Eric; Kristensen, Gunnar et al. (2011): A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian cancer. In: *The New England journal of medicine* 365 (26), S. 2484–2496. DOI: 10.1056/NEJMoa1103799.
- Petru, Edgar; Jonat, Walter; Fink, Daniel; Köchli, Ossi R. (2014): Praxisbuch Gynäkologische Onkologie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Pfisterer, Jacobus; Plante, Marie; Vergote, Ignace; du Bois, Andreas; Hirte, Hal; Lacave, Angel J. et al. (2006): Gemcitabine plus carboplatin compared with carboplatin in patients with platinum-sensitive recurrent ovarian cancer. An intergroup trial of the AGO-OVAR, the NCIC CTG, and the EORTC GCG. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 24 (29), S. 4699–4707. DOI: 10.1200/JCO.2006.06.0913.
- Piek, J. M.; van Diest, P. J.; Zweemer, R. P.; Jansen, J. W.; Poort-Keesom, R. J.; Menko, F. H. et al. (2001): Dysplastic changes in prophylactically removed Fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer. In: *The Journal of pathology* 195 (4), S. 451–456. DOI: 10.1002/path.1000.

- Prat, Jaime (2015): FIGO's staging classification for cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: abridged republication. In: *Journal of Gynecologic Oncology* 26 (2), S. 87–89. DOI: 10.3802/jgo.2015.26.2.87.
- Prat, Jaime (2017): Pathology of borderline and invasive cancers. In: *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology* 41, S. 15–30. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2016.08.007.
- Préfontaine, M.; Gelfand, A. T.; Donovan, J. T.; Powell, J. L. (1994): Reproducibility of tumor measurements in ovarian cancer. A study of interobserver variability. In: *Gynecologic oncology* 55 (1), S. 87–90. DOI: 10.1006/gyno.1994.1253.
- Pujade-Lauraine, Eric; Ledermann, Jonathan A.; Selle, Frédéric; GebSKI, Val; Penson, Richard T.; Oza, Amit M. et al. (2017): Olaparib tablets as maintenance therapy in patients with platinum-sensitive, relapsed ovarian cancer and a BRCA1/2 mutation (SOLO2/ENGOT-Ov21). A double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. In: *The Lancet Oncology* 18 (9), S. 1274–1284. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30469-2.
- Qayyum, Aliya; Coakley, Fergus V.; Westphalen, Antonio C.; Hricak, Hedvig; Okuno, William T.; Powell, Bethan (2005): Role of CT and MR imaging in predicting optimal cytoreduction of newly diagnosed primary epithelial ovarian cancer. In: *Gynecologic oncology* 96 (2), S. 301–306. DOI: 10.1016/j.ygyno.2004.06.054.
- Querleu, Denis; Planchamp, François; Chiva, Luis; Fotopoulou, Christina; Barton, Desmond; Cibula, David et al. (2016): European Society of Gynaecologic Oncology Quality Indicators for Advanced Ovarian Cancer Surgery. In: *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society* 26 (7), S. 1354–1363. DOI: 10.1097/IGC.0000000000000767.
- Ray-Coquard, Isabelle; Pautier, Patricia; Pignata, Sandro; Pérol, David; González-Martín, Antonio; Berger, Regina et al. (2019): Olaparib plus Bevacizumab as First-Line Maintenance in Ovarian Cancer. In: *The New England journal of medicine* 381 (25), S. 2416–2428. DOI: 10.1056/NEJMoa1911361.
- Reid, Brett M.; Permuth, Jennifer B.; Sellers, Thomas A. (2017): Epidemiology of ovarian cancer: a review. In: *Cancer biology & medicine* 14 (1), S. 9–32. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0084.
- Risum, S.; Høgdall, C.; Loft, A.; Berthelsen, A. K.; Høgdall, E.; Nedergaard, L. et al. (2008): Prediction of suboptimal primary cytoreduction in primary ovarian cancer with combined positron emission tomography/computed tomography--a prospective study. In: *Gynecologic oncology* 108 (2), S. 265–270. DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.11.002.
- Robert-Koch-Institut und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2019): Krebs in Deutschland 2015/2016. DOI: 10.25646/5977.
- Roche (2016a): ElecsysT CA 125 II. Hg. v. Roche Diagnostics Deutschland GmbH.
- Roche (2016b): Elecsys HE4. Hg. v. Roche Diagnostics Deutschland GmbH.

- Rochon, J.; du Bois, A. (2011): Clinical research in epithelial ovarian cancer and patients' outcome. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 22 Suppl 7, vii16-vii19. DOI: 10.1093/annonc/mdr421.
- Rodriguez, Noah; Miller, Austin; Richard, Scott D.; Rungruang, Bunja; Hamilton, Chad A.; Bookman, Michael A. et al. (2013): Upper abdominal procedures in advanced stage ovarian or primary peritoneal carcinoma patients with minimal or no gross residual disease. An analysis of Gynecologic Oncology Group (GOG) 182. In: *Gynecologic oncology* 130 (3), S. 487–492. DOI: 10.1016/j.ygyno.2013.06.017.
- Rubinstein, Larry V.; Steinberg, Seth M.; Kummar, Shivaani; Kinders, Robert; Parchment, Ralph E.; Murgo, Anthony J. et al. (2010): The statistics of phase 0 trials. In: *Statistics in medicine* 29 (10), S. 1072–1076. DOI: 10.1002/sim.3840.
- Rustin, Gordon J. S.; van der Burg, Maria E. L.; Griffin, Clare L.; Guthrie, David; Lamont, Alan; Jayson, Gordon C. et al. (2010): Early versus delayed treatment of relapsed ovarian cancer (MRC OV05/EORTC 55955). A randomised trial. In: *The Lancet* 376 (9747), S. 1155–1163. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61268-8.
- Schmutzler, Rita (2017): Konsensusempfehlung des Deutschen Konsortiums Familiärer Brust- und Eierstockkrebs zum Umgang mit Ergebnissen der Multigenanalyse. In: *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 77 (07), S. 733–739. DOI: 10.1055/s-0043-108531.
- Schouten, Leo J.; Rivera, Christine; Hunter, David J.; Spiegelman, Donna; Adami, Hans-Olov; Arslan, Alan et al. (2008): Height, body mass index, and ovarian cancer. A pooled analysis of 12 cohort studies. In: *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 17 (4), S. 902–912. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2524.
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (2013): Management of epithelial ovarian cancer. A national clinical guideline. Edinburgh: Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN, 135).
- Shih, Ie-Ming; Kurman, Robert J. (2004): Ovarian tumorigenesis. A proposed model based on morphological and molecular genetic analysis. In: *The American journal of pathology* 164 (5), S. 1511–1518.
- Sobin, L. H.; Gospodarowicz, M. K.; Wittekind, Ch (2010): TNM classification of malignant tumours. 7th ed. Chichester, West Sussex, UK, Hoboken, N.J.: Wiley-Blackwell.
- Stier, E. A.; Barakat, R. R.; Curtin, J. P.; Brown, C. L.; Jones, W. B.; Hoskins, W. J. (1996): Laparotomy to complete staging of presumed early ovarian cancer. In: *Obstetrics and gynecology* 87 (5 Pt 1), S. 737–740.
- Streppel, Mirte M.; Vincent, Audrey; Mukherjee, Radha; Campbell, Nathaniel R.; Chen, Shih-Hsun; Konstantopoulos, Konstantinos et al. (2012): Mucin 16 (cancer an-

tigen 125) expression in human tissues and cell lines and correlation with clinical outcome in adenocarcinomas of the pancreas, esophagus, stomach, and colon. In: *Human pathology* 43 (10), S. 1755–1763. DOI: 10.1016/j.humpath.2012.01.005.

Tewari, Krishnansu S.; Sill, Michael W.; Penson, Richard T.; Huang, Helen; Ramondetta, Lois M.; Landrum, Lisa M. et al. (2017): Bevacizumab for advanced cervical cancer: final overall survival and adverse event analysis of a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial (Gynecologic Oncology Group 240). In: *The Lancet* 390 (10103), S. 1654–1663. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31607-0.

The Cancer Genome Atlas Research Network (2011): Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. In: *Nature* 474 (7353), S. 609–615. DOI: 10.1038/nature10166.

Timmerman, D.; Valentin, L.; Bourne, T. H.; Collins, W. P.; Verrelst, H.; Vergote, I. (2000): Terms, definitions and measurements to describe the sonographic features of adnexal tumors: a consensus opinion from the International Ovarian Tumor Analysis (IOTA) Group. In: *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 16 (5), S. 500–505. DOI: 10.1046/j.1469-0705.2000.00287.x.

Trimbos, J. B.; Vergote, I.; Bolis, G.; Vermorken, J. B.; Mangioni, C.; Madronal, C. et al. (2003a): Impact of Adjuvant Chemotherapy and Surgical Staging in Early-Stage Ovarian Carcinoma. European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Adjuvant ChemoTherapy in Ovarian Neoplasm Trial. In: *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 95 (2), S. 113–125. DOI: 10.1093/jnci/95.2.113.

Trimbos, J. Baptist; Parmar, Mahesh; Vergote, Ignace; Guthrie, David; Bolis, Giorgio; Colombo, Nicoletta et al. (2003b): International Collaborative Ovarian Neoplasm trial 1 and Adjuvant ChemoTherapy In Ovarian Neoplasm trial. Two parallel randomized phase III trials of adjuvant chemotherapy in patients with early-stage ovarian carcinoma. In: *JNCI Journal of the National Cancer Institute* 95 (2), S. 105–112.

Tso, Elisa; Elson, Paul; Vanlente, Fred; Markman, Maurie (2006): The "real-life" variability of CA-125 in ovarian cancer patients. In: *Gynecologic oncology* 103 (1), S. 141–144. DOI: 10.1016/j.ygyno.2006.02.010.

Ulrich, Uwe (Hg.) (2013): Gynäkologische Onkologie. Ein Kompendium für die Klinik. Berlin, Boston: De Gruyter.

van Gorp, T.; Cadron, I.; Despierre, E.; Daemen, A.; Leunen, K.; Amant, F. et al. (2011): HE4 and CA125 as a diagnostic test in ovarian cancer. Prospective validation of the Risk of Ovarian Malignancy Algorithm. In: *British journal of cancer* 104 (5), S. 863–870. DOI: 10.1038/sj.bjc.6606092.

Wagner, U.; Harter, P.; Hilpert, F.; Mahner, S.; Reuß, A.; du Bois, A. et al. (2013): S3-Guideline on Diagnostics, Therapy and Follow-up of Malignant Ovarian Tumours. Short version 1.0 - AWMF registration number: 032/035OL, June 2013. In: *Geburts- hilfe und Frauenheilkunde* 73 (9), S. 874–889. DOI: 10.1055/s-0033-1350713.

- Wagner, Uwe; Reuß, Alexander (2019): S3-Leitlinie „Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren“. In: *Forum* 34 (5), S. 413–415. DOI: 10.1007/s12312-019-00671-4.
- Wei, S. U.; Li, Hui; Zhang, Bei (2016): The diagnostic value of serum HE4 and CA-125 and ROMA index in ovarian cancer. In: *Biomedical reports* 5 (1), S. 41–44. DOI: 10.3892/br.2016.682.
- Wiegand, Kimberly C.; Shah, Sohrab P.; Al-Agha, Osama M.; Zhao, Yongjun; Tse, Kane; Zeng, Thomas et al. (2010): ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas. In: *The New England journal of medicine*, S. 1532–1543. DOI: 10.1056/NEJMoa1008433.
- Wilson, M. K.; Pujade-Lauraine, E.; Aoki, D.; Mirza, M. R.; Lorusso, D.; Oza, A. M. et al. (2017): Fifth Ovarian Cancer Consensus Conference of the Gynecologic Cancer InterGroup. Recurrent disease. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 28 (4), S. 727–732. DOI: 10.1093/annonc/mdw663.
- Wittekind, C.; Oberschmid, B. (2010): TNM-Klassifikation maligner Tumoren 2010. Allgemeine Aspekte und Änderungen im allgemeinen Teil. In: *Der Pathologe* 31 (5), 333-4, 336-8. DOI: 10.1007/s00292-010-1301-6.
- Zivanovic, Oliver; Eisenhauer, Eric L.; Zhou, Qin; Iasonos, Alexia; Sabbatini, Paul; Sonoda, Yukio et al. (2008): The impact of bulky upper abdominal disease cephalad to the greater omentum on surgical outcome for stage IIIc epithelial ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancer. In: *Gynecologic oncology* 108 (2), S. 287–292. DOI: 10.1016/j.ygyno.2007.10.001.