Aus der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. A. Werner
In Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

Cyfra 21-1 als Follow-up-Tumormarker bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom des Oropharynx

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten **Humanmedizin**

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Khaled Alkotyfan

aus Syrien

Marburg 2009

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 10.08.2009.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. Rothmund M
.....

Referent: Prof. Dr. Werner JA
.....

Korreferent: Prof. Dr. Moll R

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis 1

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis 3

1 Einleitung 5

1.1 Epidemiologie der Karzinome der oberen Luft- und Speisewege 5

1.2 Ätiologie 6

1.3 Oropharynxkarzinome 7

1.4 Anatomische Aspekte des Oropharynx 7

1.5 Klinik und Diagnostik 7

1.6 Prätherapeutische Diagnostik 8

1.7 Bildgebende Diagnostik 8

1.8 Therapie der Oropharynxkarzinome 9

1.9 Serologischer Tumormarker für Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches 9

1.10 CYFRA 21-1 als Tumormarker 10

2 Fragestellung 12

3 Material und Methoden 13

3.1 Beschreibung des Patientengutes 13

3.2 Bestimmung von Cyfra 21-1 im Serum 13

3.3 Statistische Auswertung 15

4 Ergebnisse 18

4.1 Patienten 18

4.2 Altersverteilung 19

4.3 Tumorlokalisation 20

4.4 TNM-Stadium 20

4.5 Therapie 22

4.6 Verteilung der Cyfra 21-Werte 23

4.7 Zusammenhang zwischen Cyfra 21-1 und Tumorgröße 25

4.8 Cyfra 21-1 Konzentration bei lymphogener Metastasierung 27

4.9 Cyfra 21-1 in Abhängigkeit vom histologischen Tumorgrading 28

4.10 Cyfra 21-1 als Follow-up-Tumormarker 29

4.10.1 Receiver Operating Characteristic (ROC) bei Verwendung von Cyfra 21-1 als diagnostischer Marker 31

5 Diskussion 36

6 Zusammenfassung 48

7 Englische Zusammenfassung 51

8 Literaturverzeichnis 52

9 Lebenslauf 58

10 Ehrenwörtliche Erklärung 59

11 Akademische Lehrer 60

12 Danksagung 61

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abb. 3-1: Box-Plots 16

Abb. 4-1: Altersverteilung 19

Abb. 4-2: Relative Häufigkeit der primären Therapie bei den Patiente (%) 22

Abb. 4-3: Wertverteilung von Cyfra 21-1 zum Diagnosezeitpunkt 24

Abb. 4-4: Cyfra 21-1 Wertverteilung nach Abschluß der primären Therapie 24

Abb. 4-5: Wertverteilung von Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose des Oropharynxkarzinoms 24

Abb. 4-6: Konzentrationen von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Primärdiagnose in Abhängigkeit von der Größe des Primärtumors (UICC) 26

Abb. 4-7: Konzentrationen von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Primärdiagnose in Abhängigkeit vom Tumorstadium 26

Abb. 4-8: Konzentrationen von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der primären Diagnose in Abhängigkeit vom Ausmaß der lymphogenen Metastasierung 27

Abb. 4-9: Konzentrationen von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der primären Diagnose in Abhängigkeit vom histologischen Tumorgrading 28

Abb. 4-10: Häufigkeit der Patienten in Bezug auf klinisches Ereignis 29

Abb. 4-11: ROC-Kurve bei der Verwendung von Cyfra 21-1 als diagnostischer Marker zum Diagnosezeitpunkt 31

Abb. 4-12: ROC-Kurve bei der Verwendung von Cyfra 21-1 als diagnostischem Marker nach der primären Therapie 32

Abb. 4-13: ROC-Kurve bei Verwendung von Cyfra 21-1 als diagnostischem Marker ein Jahr nach der Diagnose 33

Abb. 4-14: Vergleich der Werte des Cyfra 21-1 (ng/ml) zum Diagnosezeitpunkt und dem letzten gemessenen Wert bei Patienten ohne klinischem Ereignis 35

Abb. 4-15: Vergleich der Konzentration von Cyfra 21-1 (ng/ml) zum Diagnosezeitpunkt und dem letzten gemessenen Wert bei Patienten mit klinischem Ereignis.....35

Diagramm 4-1: Häufigkeitsverteilung der Lokalisation bei Oropharynxkarzinom.....20

Tabelle 4-1: Einteilung der Oropharynxkarzinome nach der TNM-Klassifikation und den UICC- Stadien 21

Tabelle 4-2: Die 5., 50. und 95 Perzentile (ng/ml) von Cyfra 21-1 bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom des Oropharynx 25

Tabelle 4-3: Spezifität und Sensitivität der Konzentration von Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose 30

Tabelle 4-4: Fläche unter der Kurve für Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Diagnose.31

Tabelle 4-5: Fläche unter der Kurve für Cyfra 21-1 nach der primären Therapie 32

Tabelle 4-6: AUC der Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose.....33

Tabelle 4-7: Cyfra 21-1-Konzentration ein Jahr nach der Diagnose in Abhängigkeit vom Auftreten eines Tumorrezidives, einer Fernmetastasierung und eines Tumorprogesses.....34

1 Einleitung

Zu Beginn des 21. Jahrhunderts sind in Deutschland die Erkrankungen des Herzkreislaufsystems vor den bösartigen Neubildungen als häufigste Todesursache für beide Geschlechter anzusehen. Demnach stirbt hierzulande altersunabhängig derzeit ungefähr jeder Dritte an einer Krankheit des Herz-Kreislaufsystems und jeder Vierte an einem malignen Tumor. Bedingt durch die steigende Lebenserwartung der deutschen Bevölkerung nimmt die absolute Zahl der Krebstodesfälle weiterhin zu. Die Trendgraphiken zu den fünf häufigsten Todesursachengruppen in Deutschland lassen erkennen, dass in etwa 15-20 Jahren Krebs zur häufigsten Todesursache in Deutschland wird (21).

1.1 Epidemiologie der Karzinome der oberen Luft- und Speisewege

Im Jahr 2000 erkrankten weltweit mehr als 10 Millionen Menschen neu an malignen Erkrankungen. Nach wie vor stellen die Malignome der Lunge die häufigste Krebstodesursache dar, wobei Männer deutlich häufiger erkranken als Frauen. Die Erkrankungsrate bei Frauen steigt jedoch kontinuierlich. Hinter den Neoplasien der Lunge, des Dickdarms, der Prostata, der Harnblase und des Magens stehen die Karzinome der oberen Luft- und Speisewege weltweit sowie in der Europäischen Union an sechster Stelle der Häufigkeit aller Krebserkrankungen (4, 21).

Die Inzidenz aller Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes liegt bundesweit derzeit bei ca. 50 Neuerkrankungen /100.000 Einwohner / Jahr. Der Altersgipfel der Erkrankungen liegt zwischen dem 50. und 80. Lebensjahr. Allein in Deutschland versterben jährlich mehr als 6000 Menschen an diesen Tumoren. Männer sind im Vergleich zu Frauen mit einem Verhältnis 7:1 deutlich häufiger betroffen (45). Nach Angaben des deutschen Krebsforschungszentrums in Heidelberg aus dem Jahre 2003 stellt in Deutschland das Larynxkarzinom das häufigste Malignom der oberen Luft- und Speisewege dar, wobei es bei Männern im Jahr 2003 lediglich an 15. Stelle der Krebstodesursachen mit 1,9/100.000 Einwohnern lag. Bezüglich der Mortalität liegen bei Männern die Karzinome der Mundhöhle und des Pharynx an 6. Stelle (5,7/100.000 Einw.). Bei den Frauen belegen diese Karzinome lediglich den 17. Platz (1,2/100.000 Einw.) (21).

1.2 Ätiologie

Die Karzinome der oberen Luft- und Speisewege sind multifaktoriell bedingt. Differenziert werden exogene von endogenen Noxen und genetische Prädispositionen. Insbesondere die Tumoren der Mundhöhle, des Pharynx und des Larynx sind überwiegend exotoxisch bedingt. Den exogenen Noxen sind insbesondere die Faktoren Takak- und Alkoholkonsum sowie virale Infektionen mit Humanen Papillom Viren (HPV) oder dem Ebstein-Barr-Virus (EBV) zuzurechnen (10, 12, 43, 61). Die bei weitem bedeutendsten Risikofaktoren sind das Tabakrauchen und -kauen sowie der Alkoholkonsum (8). Sie allein tragen einen Anteil von 75% zur Inzidenz dieser Tumorarten bei (27). Alkohol potenziert die toxische Wirkung des Rauchens vermutlich über eine Schwächung der plattenepithelialen Barrieren der Schleimhaut. Weiterhin spielen Mangelernährung, ein geschwächtes Immunsystem, radioaktive Strahlung und schlechte Mundhygiene ebenso wie kanzerogene Chemikalien eine wichtige Rolle. In den westlichen Industrienationen wird die Quote der beruflich verursachten Kopf-Hals-Malignome auf 4-10% geschätzt. Eine kombinierte Exposition gegenüber außerberuflichen und beruflichen Risikofaktoren sowie das Zusammenwirken verschiedener beruflicher Schadstoffexpositionen wirken zum Teil synergistisch und können eine überadditive Risikoerhöhung verursachen (18). Weiterhin wurden in jüngster Vergangenheit verschiedene Genmutationen diskutiert, die mit der Entstehung von ektodermalen Neoplasien des Kopf-Hals-Bereiches und deren Rezidiven (1, 55) in Verbindung gebracht wurden. Hervorzuheben sind hier insbesondere Mutationen im Bereich des Tumorsuppressorgens p53 (32).

Die Tumore des oberen Aerodigestivtraktes entstehen im Bereich der Schleimhäute, wobei es sich histologisch zu über 90% um Plattenepithelkarzinome handelt (48). Trotz grundsätzlich ähnlicher Morphologie zeigt das biologische Verhalten dieser Karzinome in Abhängigkeit vom Sitz des Primärtumors deutliche Unterschiede. Unmittelbar hiermit verbunden ist die deutlich höhere Sterblichkeit im Falle oraler oder pharyngealer Karzinome gegenüber den zwar immer noch am häufigsten auftretenden, aber deutlich seltener zum Tode führenden Kehlkopfkarzinomen.

1.3 Oropharynxkarzinome

Etwa die Hälfte aller Malignome des Kopf-Hals-Bereiches ist in der oberen Schluckstraße lokalisiert. Die Häufigkeit der Karzinome des Pharynx und der Mundhöhle liegt bei etwa 6% aller malignen Tumoren. Zwei Drittel dieser Tumoren sind im Oro- und Hypopharynx lokalisiert. Histologisch herrschen auch hier die Plattenepithelkarzinome vor, wobei insbesondere im Oropharynx auch maligne Lymphome, adenoidzystische Karzinome und Adenokarzinome sowie Mukoepidermoidkarzinome vorkommen (48, 67). Von den im Jahre 1998 in Deutschland an einem Malignom des Kopf-Hals-Bereiches laut Todesscheinen insgesamt verstorbenen 6806 Patienten (beide Geschlechter), erlagen 2254 (≈ 33,1%) einem Tumor des Oro- und/oder Hypopharynx. Im Jahr 1999 wird die Mortalitätsrate bei Männern in Deutschland für das Oropharynxkarzinom mit 2,1/100.000 angegeben. Damit rangiert diese Tumorentität zusammen mit dem Mundhöhlenkarzinom (2,1/100.000) bezüglich der Mortalität direkt hinter dem Larynxkarzinom (3,3/100.000) (7).

1.4 Anatomische Aspekte des Oropharynx

Der Oropharynx wird nach der ICD-O (International Classification of Diseases for Oncology, WHO 1998) in die nachfolgend aufgeführten Bezirke unterteilt:

1. Vorderwand (glosso-epiglottisches Areal), bestehend aus Zungengrund und Vallecula
2. Seitenwand mit den Tonsillen, den Gaumenbögen und der Glossotonsillarfurche
3. Hinterwand
4. Obere Wand, welche aus der ventralen Fläche des weichen Gaumens und der Uvula besteht

1.5 Klinik und Diagnostik

Oropharynxkarzinome können lange klinisch asymptomatisch bleiben. Häufig verursachen diese Neoplasien erst im fortgeschrittenen Stadium richtungsweisende Symptome, welche sich in Form von lokalen Schmerzen, Dys- oder Odynophagie

sowie einer ausstrahlenden Otalgie äußern können. Nicht selten führt erst eine uni- oder sogar bilaterale cervikale Schwellung im Sinne einer loko-regionären Lymphknotenmetastasierung den Patienten zum Arzt. In etwa 50-60% der Fälle sind regionale Lymphknotenmetastasen, welche zumeist entlang der Gefäß-Nervenscheide lokalisiert sind, die Erstmanifestation des Karzinoms (54, 63).

1.6 Prätherapeutische Diagnostik

Die genannten Tumoren können vielfach im Rahmen der einfachen Spiegeluntersuchung identifiziert werden. Zusätzlich ist eine gründliche palpatorische Untersuchung des Oropharynx und der Halsweichteile unumgänglich. In der Regel kommen bei der primären Diagnostik zusätzlich verschiedene Optiken zum Einsatz, mit deren Hilfe die Inspektion der unteren Pharynxabschnitte deutlich vereinfacht ist. Zur histologischen Sicherung der Diagnose, Bestimmung der Tumorausdehnung sowie zum Ausschluss synchroner Zweitkarzinome wird in der Marburger Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde routinemäßig eine Panendoskopie durchgeführt. Die Panendoskopie umfasst eine starre oder flexible Tracheo-Bronchoskopie, eine starre Ösophagoskopie sowie die Inspektion des Kehlkopfes (Mikrolaryngoskopie), des gesamten Rachenraums (Pharyngoskopie) und der Mundhöhle. Auch hierbei kommen verschiedene Optiken sowie das Operationsmikroskop zum Einsatz.

1.7 Bildgebende Diagnostik

Im Rahmen der prätherapeutischen Diagnostik ist die Durchführung subtiler Staginguntersuchungen dringend erforderlich. Zur exakten Darstellung des Primärtumors in allen drei Dimensionen ist die Anfertigung einer Computertomographie und Magnetresonnanztomographie unausweichlich. Die genannten Untersuchungen können insbesondere bei Verdacht auf Befall des retro- und parapharyngealen Raumes, der Fossa pterygopalatina sowie der Infiltration tiefer gelegener Strukturen therapieentscheidend sein. Eine Ultraschalluntersuchung der Halsweichteile zur Diagnostik suspekter Halslymphknoten sollte bereits bei der Erstvorstellung erfolgen. Zur Detektion von Fernmetastasen ist bei klinischem Verdacht zumindest eine Röntgen-Thorax Untersuchung in zwei Ebenen erforderlich. Sensitiver wäre diesbezüglich die Durchführung einer Computertomographie des Thorax.

1.8 Therapie der Oropharynxkarzinome

Die klassischen Behandlungskonzepte zur Therapie von Karzinomen des Oropharynx beinhalten die Chirurgie, Strahlentherapie sowie die Kombination beider Verfahren. In den letzten beiden Jahrzehnten hat die Chemotherapie zunehmend an Bedeutung gewonnen. Zwischenzeitlich konnte gezeigt werden, dass die kombinierte Radiochemotherapie der alleinigen Radiotherapie in der fortgeschrittenen Erkrankungssituation überlegen ist (6, 13, 23, 42, 48, 63). Der dadurch bedingte Überlebensvorteil darf aber nicht darüber hinweg täuschen, dass trotz Ausschöpfung aller Therapieverfahren immer noch ein Großteil der Patienten mit fortgeschrittenen Karzinomen der oberen Luft- und Speisewege an dieser Erkrankung verstirbt. Trotz einer großen Bandbreite an Therapieoptionen und deutlichen Fortschritten gerade auf dem Gebiet der Radio-Chemotherapie konnte im Laufe der letzten Jahrzehnte die Überlebensrate für Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals Region zwar verbessert, aber noch keineswegs zufriedenstellend optimiert werden (6). Diese Tatsache spiegelt sich in der weiterhin hohen Rezidivrate nach kurzen rezidivfreien Intervallen bei den Plattenepithelkarzinomen des Oropharynx wider (47).

In diesem Zusammenhang muss festgestellt werden, dass bis heute geeignete Instrumentarien bzw. serologische Marker zur Kontrolle des klinischen Verlaufes der Erkrankung, aber auch zum frühzeitigen Nachweis bzw. zur Detektion von Rezidiven und Fernmetastasen, abgesehen von bildgebenden Verfahren und der Kontroll-Endoskopie in Vollnarkose, in einer effektiven Form nicht vorhanden sind.

1.9 Serologischer Tumormarker für Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-Bereiches

Tumormarker sind im Blut zirkulierende Makromoleküle, deren Auftreten und Konzentrationsänderungen mit dem Entstehen und dem Wachstum von malignen Tumoren in Beziehung stehen. Sie werden in oder auf Tumorzellen, beziehungsweise durch Induktion gebildet. Bislang sind Tumormarker im eigentlichen Sinne, d.h. Marker mit 100%iger Spezifität (bei Gesunden und benignen Erkrankungen nicht nachweisbar) und 100%iger Sensitivität (bei Tumoren auch im Frühstadium immer nachweisbar) zumindest für Karzinome des Kopf-Halsbereiches nicht existent. Damit sind sie sowohl zum Screening asymptomatischer Patienten als auch zur Erstellung der

Primärdiagnose nicht geeignet. Die Domäne der Tumormarker stellt die Effizienzkontrolle der durchgeführten Therapie sowie die Verlaufskontrolle der Erkrankung dar (65).

Von den serologischen Tumormarkern haben bei den Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Halsbereiches lediglich das SCC (Squamous Cell Carcinoma Antigen), das CEA (CEA; Carcinoembryonales Antigen) und der Zytokeratinmarker CYFRA 21-1 Bedeutung erlangt.

1.10 CYFRA 21-1 als Tumormarker

Ein Mitte der 90er Jahre beschriebener biologischer Tumormarker ist das Cyfra 21-1, das serumlösliche Fragment des Zytokeratin 19 (27). Cytokeratin-19 wurde erstmals im Jahre 1981 durch Wu und Mitarbeiter beschrieben (57). CYFRA 21-1 kann mittels zweier monoklonaler Antikörper (Fänger: Mab Ks19.1; Detektor: BM 19.21) gegen gut charakterisierte Epitope erfasst werden und ist damit ein lösliches Produkt aus Zytoskelettproteinen (zwischen 40 und 68 kDa), von denen Zytokeratin-19 in normalen Epithelzellen und vermehrt in Karzinomen, insbesondere der Lunge, detektiert wird (29-31).

Beim Lungenkarzinom war die Bestimmung von CYFRA 21-1 den herkömmlichen Tumormarkern überlegen (52, 63). Da Zytokeratin-19 häufig in den Karzinomen der oberen Luft- und Speisewege exprimiert wird, wurde die Anwendbarkeit von verschiedenen Gruppen überprüft. Wollenberg und Mitarbeiter konnten zeigen, dass CYFRA 21-1 nur in den fortgeschrittenen Tumorstadien erhöht zu sein scheint und keine zusätzliche Information im Stadium des Rezidivs bietet, somit der herkömmlichen Kombination von SCC und CEA nicht überlegen ist (65). Niemann und Mitarbeiter (33) sowie Kuropkat und Mitarbeiter (24-25) konnten eine signifikante, auch prognostische Relevanz nachweisen und empfehlen die regelmäßige Bestimmung von CYFRA 21-1.

Eigene Untersuchung konnten zeigen, dass es in der serologischen Verlaufskontrolle eines individuellen Patienten im Falle eines Rezidives und einer eingetretenen Fernmetastasierung zu einem signifikanten Anstieg der CYFRA 21-1 Werte im Serum kommt (63). CYFRA 21-1 spielt weiterhin eine potentielle Rolle als serologischer Marker für die Erkennung von Fernmetastasen pulmonaler, hepatischer, ossärer,

mediastinaler und kutaner Lokalisation sowie bei Lokalrezidiven von Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Halsregion (28). Hoffmann-Fazel und Mitarbeiter (16) wiesen darauf hin, dass Cyfra 21-1 als diagnotischer Marker für die Erkennung des Primärtumors eine niedrige Sensitivtät aufweist, jedoch ein guter selektiver Tumormarker für die Erkennung von Fernmetastasen, Zweittumoren und lokoregionaler Rezidive von Plattenepithelkarzinomen der Kopf- und Halsregion ist (15). Sawant und Mitarbeiter (45) berichteten von einer hohen Sensitivität und Spezifizität (84% bzw. 93%) der Cyfra-21-1-Konzentration bei Patienten mit Oropharynxkarzinomen und konnten zeigen, dass eine signifikante Reduktion des Serumspiegels bei den Patienten etwa 2-3 Wochen nach der Resektion des Primärtumors eintritt.

Eine prospektive Anlayse von Pujol und Mitarbeitern (34) an 621 Patienten mit nicht kleinzelligen Bronchialkarzinomen ergab, dass erhöhte Konzentrationen von Cyfra 21-1 im Serum mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet sind als bei Patienten mit normalen Konzentrationen von Cyfra 21-1. Die Sensitivität des Cyfra 21-1-Spiegels im Serum wird bei Plattenepithelkarzinomen der Lunge und des Kopf-Halsbereiches mit $>$50% angegeben. Nach heutigem Wissensstand konnte bislang in keiner Publikation eine derartig hohe Sensitivität für einen Tumormarker wie für Cyfra 21-1 nachgewiesen werden (24). Da die Expression von Zytokeratin-19 im Gewebe der oberen Luft- und Speisewege in aller Regel niedriger ist als im Gewebe der Lunge, sind die Serumspiegel von Cyfra 21-1 bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom im Kopf-Hals-Bereich ebenfalls häufig niedriger (63).

In diesem Zusammenhang eignet sich die Bestimmung von Cyfra 21-1 im Rahmen der onkologischen Nachsorge als klinischer Verlaufsparameter insbesondere zum Nachweis einer früheren Fernmetastasierung für die genannte Tumorentität. Im vorliegenden Kollektiv konnte die serologische Kontrolle von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, vier bis sechs Wochen nach der primären Therapie und ein Jahr nach der Diagnose sowie im Follow-up erfasst werden.

2 Fragestellung

Wissenschaftlicher Ansatz der vorliegenden Dissertationsschrift ist die retrospektive Überprüfung der klinischen Wertigkeit des Tumormarkers Cyfra 21-1 als prognostischer Marker zum Krankheitsverlauf von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Oropharynx. In ausführlichen Vorarbeiten wurde der Cut-off-Wert von Cyfra 21-1 bereits bis 3,3 ng/ml festgelegt.

Im Einzelnen soll zu folgenden Fragen dezidiert Stellung genommen werden:

1. Lassen sich zum Diagnosezeitpunkt Abhängigkeiten von der Größe des Primärtumors mit der Cyfra 21-1-Konzentration identifizieren?

2. Lassen sich zum Diagnosezeitpunkt Abhängigkeiten von dem Ausmaß der lymphogenen Metastasierung mit der Cyfra 21-1 Konzentration identifizieren?

3. Lassen sich zum Diagnosezeitpunkt Abhängigkeiten vom histologischen Tumorgrading mit der Cyfra 21-1-Konzentration identifizieren?

4. Können Aussagen zur Spezifität und Sensitivität von Cyfra 21-1 als Follow up-Marker für Plattenepithelkarzinome des Oropharynx im Falle eines Lokalrezidives oder einer Fernmetastasierung getroffen werden?

3 Material und Methoden

3.1 Beschreibung des Patientengutes

In der vorliegenden Studie wurden die Daten von Patienten, welche vom Januar 2001 bis Januar 2007 wegen eines Oropharynxkarzinoms in der Marburger Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde behandelt wurden, analysiert. Hierbei handelt es sich um 50 Patienten (40 männliche und 10 weibliche Patienten mit einem Duchschnittsalter von 55 Jahren, Spanne: 43-71, Standardabweichung: 7,28) mit einem histologisch gesicherten Plattenepithelkarzinom des Orophraynx. Die Konzentration von Cyfra 21-1 im Serum wurde zum Zeitpunkt der Diagnose, 4-6 Wochen nach der primären Therapie und ein Jahr nach der Diagnose sowie im weiteren Follow-up bestimmt.

Weiterhin wurden folgende Parameter bestimmt: Alter bei der Diagnose des Oropharynxkarzinoms, Geschlecht, Lokalisation des Primärtumors, histologisches Grading, wie aus dem histologischen Befund der Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Gießen und Marburg, Standort Marburg, übernommen, Tumorstadium und TNM-Klassifikationen nach WHO.

Die Diagnose des Tumors wurde in der Regel durch Gewebeproben im Rahmen der initialen Panendoskopie gesichert. Desweiteren dienten die Befunde der Panendoskopie zur Festlegung des T-Stadiums. Zur Bestimmung des präoperativen N-Stadiums wurde eine B-Mode-Sonographie der Halsweichteile sowie eine Computertomographie durchgeführt. Diese Computertomographie diente gleichzeitig der drei-dimensionalen Erfassung des Primärtumors.

3.2 Bestimmung von Cyfra 21-1 im Serum

Die routinemäßige Blutentnahme und die anschließende labormedizinische Auswertung der Serumproben lieferten die Konzentrationen von Cyfra 21-1 im Serum der beschriebenen Patienten. Es ergaben sich so die Konzentrationen bei Primärdiagnose, prä- sowie posttherapeutisch, beim Auftreten von Lymphknoten- und Fernmetastasen sowie im weiteren klinischen Verlauf.

Der Nachweis wird mittels monoklonaler Antikörper (Ks 19.1 und BM 19.21) gegen das serumlösliche Fragment des Cytokeratin 19 (Molekulargewicht von 30Kda) geführt. Hierbei handelt es sich um einen immunologischer in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von löslichen Fragmenten des Cytokeratins 19 in Humanserum und –Plasma mit Enzym-Test Cyfra 21-1 (Fa. Boehringer Mannheim). Die Bestimmung von CK 19-Fragmenten mittels ECLIA (Elektro Chemi Luminszens ImmunoAssay) wird mit Streptavidin-Technologie nach Anweisung des Herstellers (cobas®) durchgeführt. Die Gesamtdauer dieses Testes beträgt 18 Minuten. Der ECLIA-Test beruht auf dem Sandwichprinzip und umfasst folgende Schritte:

1. Inkubation: Eine 20 mikroL Probe, ein biotinylierter monoklonaler Cytokeratin 19 spezifischer Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex markierter monoklonaler Cytokeratin 19 spezifischer Antikörper bilden den Sandwich-Komplex.

2. Inkubation: Nach Zugabe von Streptavidin beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex über Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden.

Das Reaktionsgemisch wird in die Maßzelle überführt, in dem die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Danach werden mit ProCell die ungebundenen Substanzen entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.
Cyfra 21-1 Werte, die mit unterschiedlichen Testverfahren ermittelt wurden, können nicht miteinander verglichen werden und Ursache für medizinische Fehlinterpretation sein.

Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über den Reagenzbarcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert. Die an den Gewebe- und Serumproben durchgeführten Untersuchungen erfolgten mit Zustimmung des Patienten für die Untersuchungen an dem entnommenen Gewebe und der Serumprobe. Diese wurden in mündlichen und schriftlichen Aufklärungen dokumentiert.

3.3 Statistische Auswertung

Erfassung und Verarbeitung der Daten erfolgte mit SPSS für Windows (Version15). Deskriptive Statistik und Diagramme wurden in SPSS und Microsoft Office XP erstellt. Neben rein deskriptiven Darstellungen in grafischer und tabellarischer Form wurden auch verschiedene statistische Signifikanztests angewandt. Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte nach ausführlicher Beratung und Konsultation durch Hr. PD Dr. H-H. Müller (Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie der Philipps-Universität Marburg)

Es wurde mit dem Jonckheere-Terpstra-Test ermittelt, ob ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Konzentration von Cyfra 21-1 und Tumorstadium, Tumorgröße, Tumorgrading und lymphogener Metastasierung besteht. Der Jonckheere-Terpstra-Test ist ein parameterfreier statistischer Test, mit dem im Rahmen einer Varianzanalyse verglichen wird, ob sich verschiedene Stichproben hinsichtlich einer ordinalskalierten Variable unterscheiden (20). Zu den analysierten Variablen gehören die Konzentrationen von Cyfra 21-1 prä-, posttherapeutisch sowie ein Jahr nach der Diagnose. Die Verteilung der Cyfra 21-1-Konzentration zeigte keine Gauß-Verteilung, aus diesem Grund wurde diese durch Median und Perzentile beschrieben.

Die Verteilung der Konzentrationsänderungen von Cyfra 21-1 zum Diagnosezeitpunkt in Abhängigkeit von Tumorgröße, Tumorstadium, Tumorgrading und lymphogener Metastasierung wurde in Form von Box- und Whisker-Plots graphisch dargestellt (Abb. 3-1). Der Box-Whisker-Plot ist ein Diagramm, das zur graphischen Darstellung numerischer Daten verwendet wird. In der Standardform für Box-Plots repräsentiert der Querstrich in der Mitte der Box den Median (19). Die Box wird begrenzt durch die 25%- und 75%-Quartile. Die Boxlänge stellt also den Interquartilsabstand, die Differenz zwischen 75%-Quartil und 25%-Quartil dar. Werte, die mehr als 1,5 Quartilsabstände außerhalb der Box liegen, werden im Boxplot mit einem Kreis gezeichnet, Werte, die mehr als 3 Quartilsabstände außerhalb der Box liegen, werden im Boxplot mit einem Stern gekennzeichnet. Die Länge der Whiskers wird durch den kleinsten und größten Wert bestimmt, der im oben genannten Sinne kein Ausreißer ist.

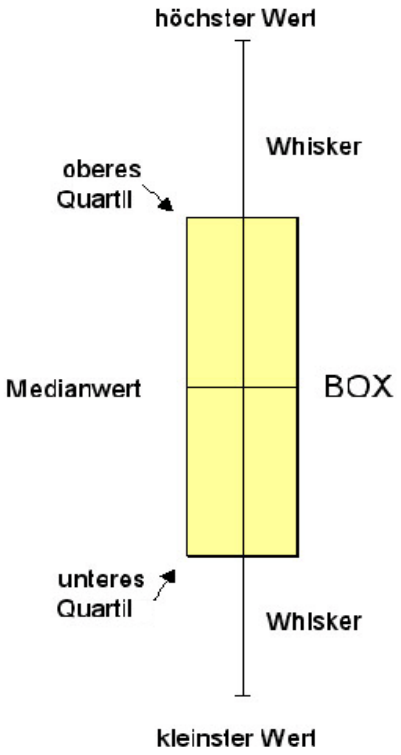

Abb. 3-1: Box-Plots

Um die Eignung der Cyfra 21-1-Werte zum Zeitpunkt der Primärdiagnose, nach der primären Therapie und ein Jahr nach der Diagnose als Prädiktor für das Auftreten von Metastasen und Rezidiven zu untersuchen, wurde eine ROC-Kurve (Receiver Operating Characteristic) dargestellt. Diese beschreibt die Spezifität und zugehörige Sensitivität eines Tests für verschiedene Diskriminanzschwellen (56). Eine Darstellung von Sensitivität und Spezifität bei verschiedenen Referenzwerten wird durch die ROC-Kurve ermöglicht. Dafür wird in einem Koordinatensystem die Sensitivität auf der Y-Achse und Spezifität auf der X-Achse für alle auftretenden Werte von Cyfra 21-1 aufgetragen. Eine mögliche Zusammenfasung der ROC-Kurve auf eine Zahl ist die Fläche unter der ROC-Kurve („Area under the ROC curve“; AUC). Dies hat z.B. den Vorteil, dass es einfacher ist, verschiedene Tests miteinander zu vergleichen (56). Je größer die AUC ist, desto besser ist die AUC. Nur bei einem Test, bei dem falsche Befunde ausgeschlossen sind, ist diese Fläche unter der ROC-Kurve (AUC) gleich 1 (56, 60).

Anschließend wird die Sensitivität und Spezifität bei Verwendung der Cyfra 21-1-Konzentration als Follow-up-Marker für den Hinweis auf Tumorrezidive und Fernmetastasen berechnet. Die Patienten, bei denen keine nachweisbaren Fernmetastasen oder Tumorrezidive festgestellt wurden, gelten als gesunde Personen (Kontrollgruppe). Der Cut-off-Wert wurde bei 3,3 ng/ml festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Patienten

Im Zeitraum von Januar 2001 bis Januar 2007 wurden an der Marburger Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenkunde, Kopf- und Halschirurgie 1044 Patienten mit neu aufgetretenen Malignomen der oberen Luft- und Speisewege behandelt. Die in der Folge genannten Zahlen beziehen sich ausschließlich auf die histologische Entität der Plattenepithelkarzinome. Hierunter befanden sich 179 Patienten mit Primärtumoren im Bereich des Oropharynx. Karzinome, die den Oro- und Hypopharynx betrafen, wurden bei 212 Patienten diagnostiziert. Bei 205 Patienten fand sich ein Karzinom des Larynx. Weiterhin konnten 15 Patienten mit Karzinomen im Bereich des Nasopharynx identifiziert werden. Aus diesem Patientengut wurden 50 Patienten mit einem histologisch gesicherten Plattenepithelkarzinom des Oropharynx analysiert. Hierbei wurden nur Patienten rekrutiert, bei denen eine vollständige Dokumentation der Konzentrationen von Cyfra 21-1 erfolgte. Von den 50 analysierten Patienten waren 20% weiblichen (n=10) und 80% (n=40) männlichen Geschlechtes. Das Durchschnittsalter betrug 55,4 Jahre (Minimum 43 Jahre, Maximum 71 Jahre, Standardabweichung 7,28 Jahre).

4.2 Altersverteilung

Im Histogramm (Abb. 4-1) ist die Altersverteilung der Patienten graphisch dargestellt. Hierbei zeigte sich, dass die Patientenkohorte im Alter von 50 bis 65 Jahren am stärksten vertreten war. 76% der Patienten (n=38) waren älter als 50 Jahre.

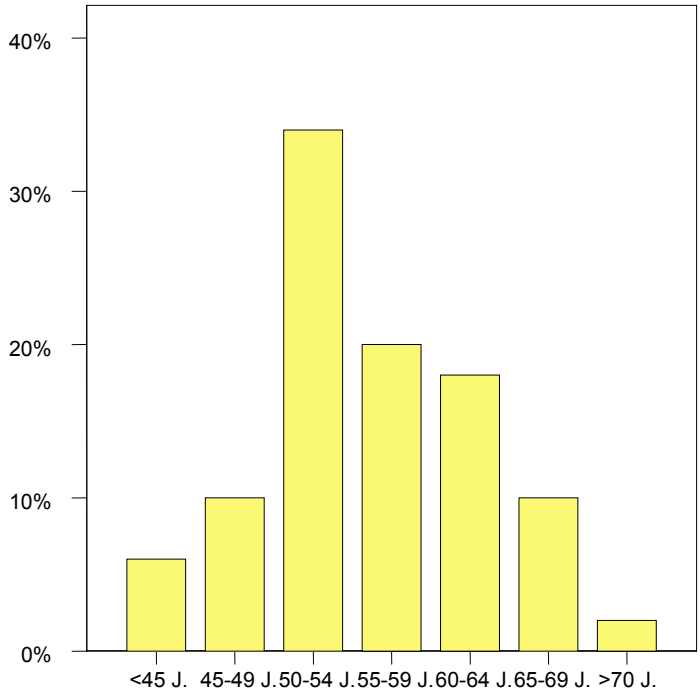

Abb. 4-1: Altersverteilung

4.3 Tumorlokalisation

Zu den Oropharynxkarzinomen zählen die epithelialen bzw. ektodermalen Neoplasien im Bereich der Tonsille, des weichen Gaumens, der Rachenhinterwand, des Zungengrundes und der Vallecula glossoepiglottica. In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich die nachfolgend aufgeteilte Distribution der Karzinome (Diagramm 4-1).

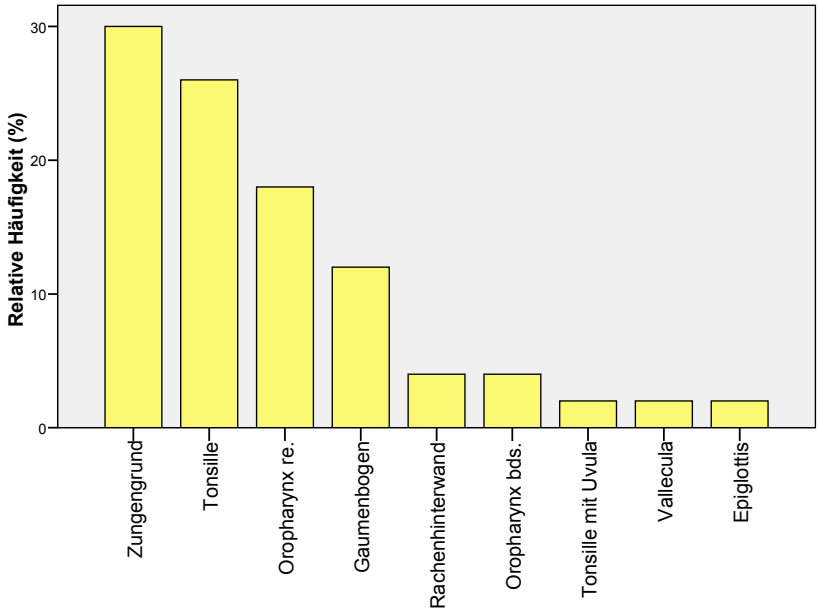

Diagramm 4-1: Häufigkeitsverteilung der Lokalisation bei Oropharynxkarzinom

4.4 TNM-Stadium

Das Staging von Karzinomen der oberen Atem- und Speisewege wird nach der TNM-Klassifikation der Union international contre le cancer (UICC, Version 2002) vorgenommen. Das von Denoix zwischen 1941 und 1952 entwickelte TNM-System wurde von der UICC nach und nach erweitert (64). Die Einteilung der Erkrankung nach der TNM-Klassifikation wird in der Tabelle 4-1 dargestellt. Bezüglich der Verteilung der Tumoren nach der Tumorgröße treten in der vorliegenden Untersuchung am häufigsten die T4- und T2-Tumore mit 32 bzw. 34% auf, während 24% der Patienten einen Tumor der Größe T3 aufwiesen. 16% der Tumoren entsprachen dem Stadium T1.

Bei 24% der Patienten wurde zum Diagnosezeitpunkt keine lokoregionäre Metastasierung festgestellt, während bei 76% der Fälle zu diesem Zeitpunkt cervicale Lymphknotenmetastasen nachgewiesen wurden. Bei diesen 76% der Patienten verteilten sich die cervicalen Lymphknotenmetastasen wie in der Tabelle 4-1 aufgeführt. Hinsichtlich der Tumorstadien befanden sich 80% der Patienten im fortgeschrittenen Stadium IV, 10% der Patienten im Tumorstadium III, 6% im Tumorstadium II und 4% im Stadium I. Die histologische Aufarbeitung der Tumorpräparate zeigte in 8% der Fälle ein hoch differenziertes Plattenepithelkarzinom des Oropharynx (G1). In 82% konnte ein mäßig differenziertes (G2) und in 10% der Fälle ein gering differenziertes (G3) Plattenepithelkarzinom diagnostiziert werden. Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose bestand bei einem der Patienten bereits eine Fernmetastasierung.

Tabelle 4-1: Einteilung der Oropharynxkarzinome nach der TNM-Klassifikation und den UICC-Stadien

		Absolut	Prozent (%)
Tumorgröße	T1	5	10,0
	T2	17	34,0
	T3	12	24,0
	T4	16	32,0
Lokoregionärer Lymphknotenstatus	N0	12	24,0
	N1	3	6,0
	N2A	4	8,0
	N2B	16	32,0
	N2C	11	22,0
	N3	4	8,0
Fernmetastasen	M0	49	98,0
	M1	1	2,0
Histologisches Grading	G1	4	8,0
	G2	41	82,0
	G3	5	10,0
Tumorstadium (UICC)	Stadium I	2	4,0
	Stadium II	3	6,0
	Stadium III	5	10,0
	Stadium IV	40	80,0

4.5 Therapie

Zur Behandlung der Oropharynx-Karzinome stehen heutzutage verschiedene Behandlungsoptionen zur Verfügung, welche in Abhängigkeit von Tumorstadium, der Histologie und der Resektabilität angewandt werden. Die Säulen der Behandlung stellen die Chirurgie mit eventuell rekonstruktiven Maßnahmen, die Strahlentherapie und die kombinierte Radiochemotherapie dar. In diesem Zusammenhang beeinflussen verschiedene Faktoren die Therapiewahl: Lokalisation, Tumorstadium, die Nachbarschaft zu ossären Strukturen, klinischer Zustand des Patienten, vorausgegangene Therapie und Histologie. In der vorliegenden Untersuchung erhielten 60% der Patienten eine primäre Radiochemotherapie, 38% wurden einer primär chirurgischen Therapie zugeführt. Nach Abschluß der primär chirurgischen Therapie erhielten 18% der Patienten eine adjuvante Radiatio, eine kombinierte Radiochemotherpie wurde bei 10% durchgeführt. Bei einem Patienten wurde die initiale Therapie aus Mangel an Compliance abgebrochen (Abb. 4-2).

Das Ausmaß der Neck dissection (selektive = SND, modifizierte radikale = MRND oder radikale Neck dissection = RND) wurde in Abhängigkeit vom Lymphknotenstatus festgelegt. Sechs bis acht Wochen nach der primären Radiochemotherapie erhielten insgesamt 26 Patienten eine Salvage-Neck dissection. Bei 4 Patienten wurde nach Abschluß der primären Radiochemotherapie keine Sanierung des Lymphabflusses durchgeführt.

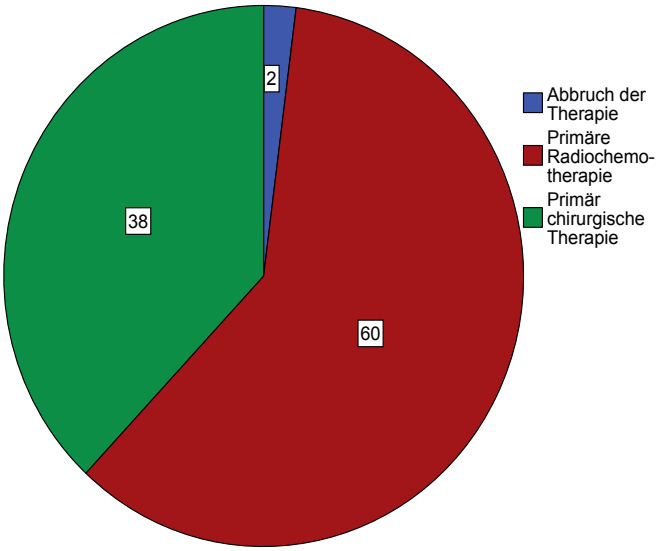

Abb. 4-2: Relative Häufigkeit der primären Therapie bei den Patienten (%)

4.6 Verteilung der Cyfra 21-Werte

Für die Darstellung der Verteilung der Tumormarkerwerte wurden die Cyfra 21-1-Konzentrationen zum Diagnosezeitpunkt, nach Abschluss der primären Therapie und ein Jahr nach der Diagnose erfasst. In Abb. 4-3, Abb. 4-4 und Abb. 4-5 werden die Konzentrationen von Cyfra 21-1 zu den drei oben beschriebenen Zeitpunkten graphisch dargestellt. Dabei wurden die Konzentrationen von Cyfra 21-1 auf der x-Achse aufgetragen, während die relative Häufigkeit der Patienten auf der y-Achse dargestellt wird. Hierbei lässt sich feststellen, dass die erfassten Konzentrationen von Cyfra 21-1 keine Gauß-Verteilung (Normalverteilung) zeigten. Bei ca. 40% der Patienten wurden Werte von Cyfra-21-1 zwischen 2-3 ng/ml zu den 3 Zeitpunkten nachgewiesen. Weiterhin wurden die Verteilungen von Cyfra 21-1 durch Mediane und Perzentile beschrieben. Die bei 50 Patienten bestimmten Werte von Cyfra 21-1 liegen zum Diagnosezeitpunkt zwischen 0,28 und 9,10 ng/ml (Median 1,30 ng/ml). Die 5. und 95. Perzentile der Konzentrationen von Cyfra 21-1 zu den oben genannten Zeitpunkten können aus der Tabelle 4-2 entnommen werden. Ein annähernd gleicher Median der Werte für Cyfra 21-1 von 1,20 ng/ml wurde zum Zeitpunkt nach Abschluß der primären Therapie festgestellt. Hierbei lagen die Cyfra 21-1-Werte zwischen 0,31 und 7,40 ng/ml. Die Cyfra 21-1-Werte ein Jahr nach der Diagnose lagen zwischen 0,47 und 1010 ng/ml. In diesem Zusammenhang darf der Hinweis nicht fehlen, dass die höchste bestimmte Konzentration von Cyfra 21-1 von 1010 ng/ml im gesamten Patientenkollektiv zu diesem Zeitpunkt (ein Jahr nach der Diagnose) bei einem Patienten mit bereits eingetretenen Fernmetastasierungen gemessen wurde.

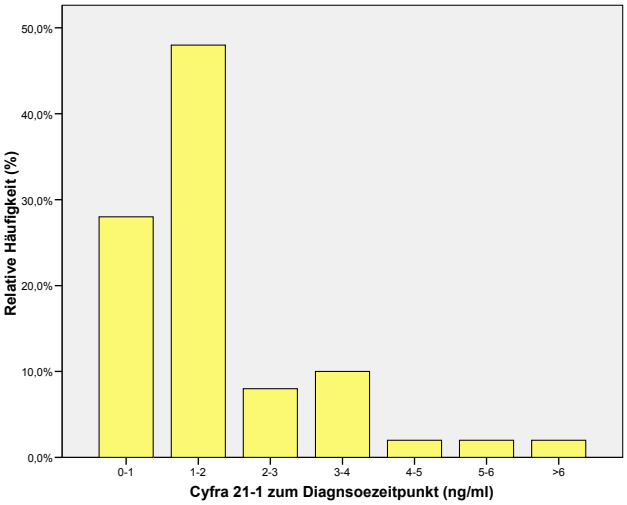

Abb. 4-3: Wertverteilung von Cyfra 21-1 zum Diagnosezeitpunkt

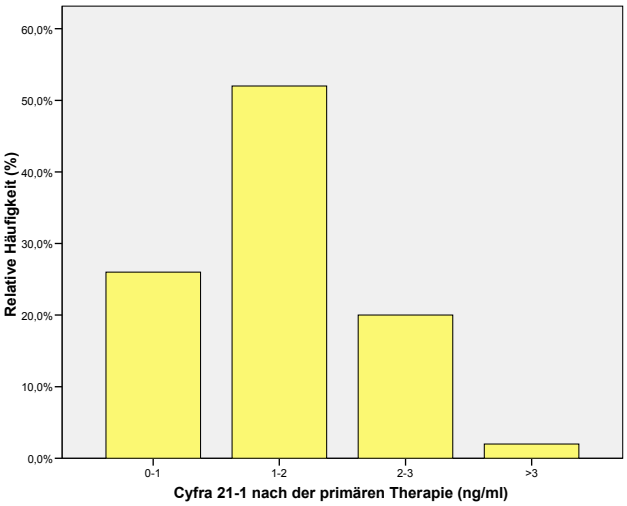

Abb. 4-4: Cyfra 21-1 Wertverteilung nach Abschluß der primären Therapie

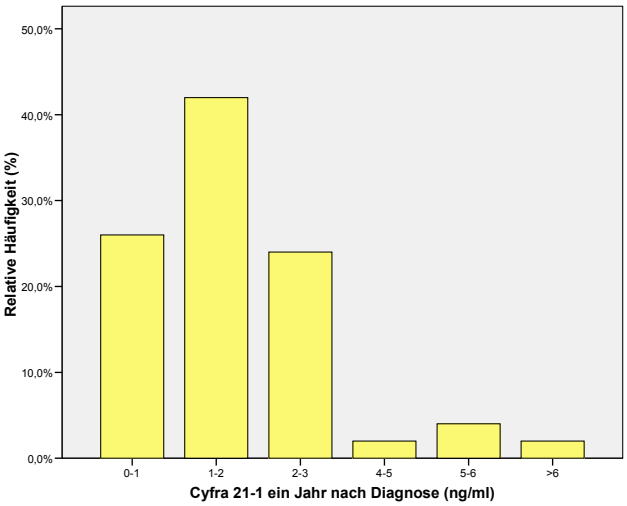

Abb. 4-5: Wertverteilung von Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose des Oropharynxkarzinoms

Tabelle 4-2: Die 5., 50. und 95. Perzentile (ng/ml) von Cyfra 21-1 bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom des Oropharynx

N=50	5. Perzentile	50. Perzentile (Median)	95. Perzentile
Cyfra 21-1 zum Diagnosezeitpunkt	0,36	1,30	1,30
Cyfra 21-1 nach Abschluss der primären Therapie	0,50	1,20	3,98
Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose	0,58	1,35	10,91

4.7 Zusammenhang zwischen Cyfra 21-1 und Tumorgröße bzw. Tumorstadium

Wie bereits im Kapital Material und Methoden erwähnt, wird der Zusammenhang zwischen Cyfra 21-1 und Tumorgröße bzw. Tumorstadium mittels des Jonckheere-Terpstra-Tests statistisch geprüft. In der Abb. 4-6 werden die Werte von Cyfra 21-1 in Abhängigkeit vom Tumorstadium, das vorwiegend von der Tumorgröße geprägt wird, dargestellt. Bei Untersuchungen von Einflussfaktoren auf die stetige Verteilung, bei der nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann, werden Box-Plots graphisch verwendet. Hierbei lag der Medianwert bei T3- und T4-Tumoren zum Diagnosezeitpunkt gleich bei 1,40 ng/ml (Abb. 4-6). Bei T1- und T2-Tumoren lag der Wert niedriger bei 1,10 ng/ml. Jedoch zeigte sich zum Diagnosezeitpunkt kein signifikanter Zusammenhang (Jonckheere-Terpstra-Test p=0.4981) zwischen der Größe des Primärtumors und der Höhe der Werte für Cyfra 21-1. Desweiteren lässt sich zum gleichen Zeitpunkt keine signifikante Korrelation zwischen der Höhe der Werte von Cyfra 21-1 und dem Tumorstadium (Jonckheere-Terpstra-Test p=0.3078) erkennen. In Abhängigkeit von der Stadieneinteilung der Karzinomerkrankung (Abb. 4-7) wurde auch der Medianwert der Cyfra 21-1-Konzentration errechnet. Dieser lag im Stadium II mit 1,70 ng/ml am höchsten, dagegen im Stadium IV bei 1,40 ng/ml, im Stadium I und Stadium III annähernd gleich bei 0,88 und 0,96 ng/ml. Mit zunehmenden Tumorstadium bzw. zunehmender Tumorgröße wird keine Erhöhung des Wertes von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Diagnose beobachtet.

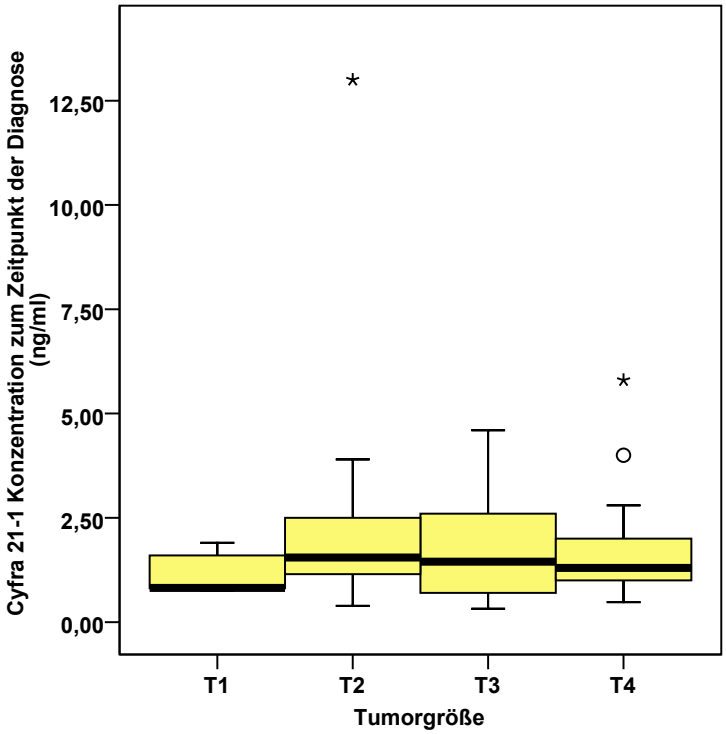

Abb. 4-6: Konzentrationen von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Primärdiagnose in Abhängigkeit von der Größe des Primärtumors (UICC)

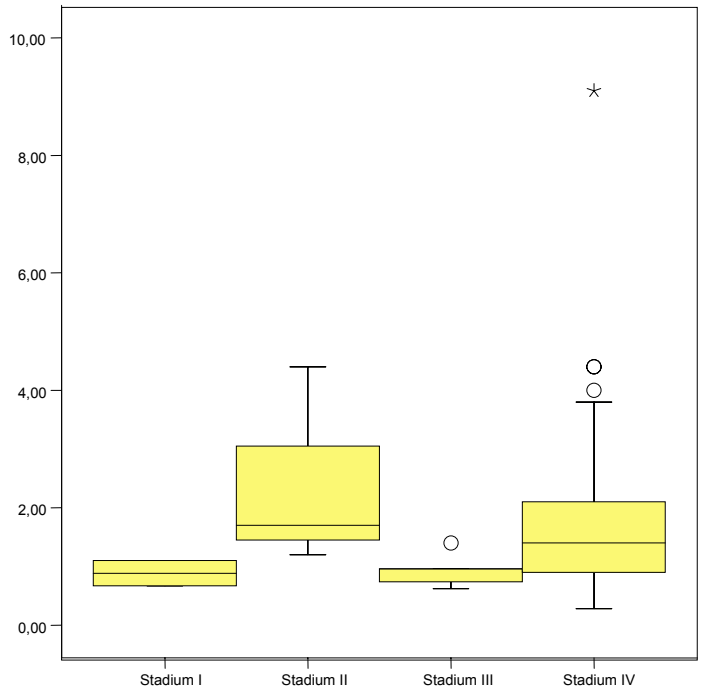

Abb. 4-7: Konzentrationen von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Primärdiagnose in Abhängigkeit vom Tumorstadium

4.8 Cyfra 21-1 Konzentration in Abhängigkeit von der lymphogenen Metastasierung

Zum Zeitpunkt der Diagnosesicherung wiesen 12 der 50 Patienten keine lymphogene Metastasierung auf. In der nach TNM-Klassifikation des Lymphknotenstatus N2a lag der Medianwert mit 2,70 ng/ml am höchsten (Abb. 4-8). Der Median lag bei ausgeprägter Lymphknoten-Metastasierung deutlich niedriger (N2b: 1,10; N2c: 1,60 und N3: 1,21). Es lässt sich somit kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der Werte von Cyfra 21-1 und der lymphogenen Metastasierung zum Diagnosezeitpunkt feststellen (p=0.7276).

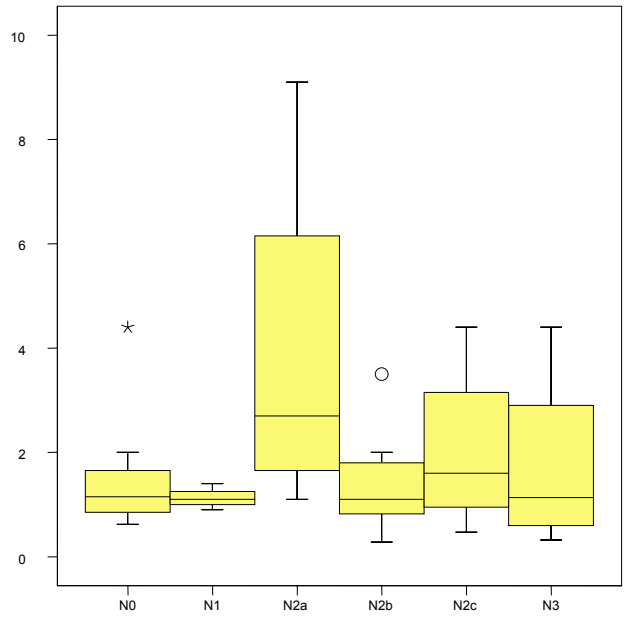

Abb. 4-8: Konzentrationen von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der primären Diagnose in Abhängigkeit vom Ausmaß der lymphogenen Metastasierung

4.9 Cyfra-Konzentration in Abhängigkeit vom histologischen Tumorgrading

Zwischen der Höhe der Konzentration von Cyfra 21-1 und dem Turmorgrading konnte keine statistisch signifikante Korrelation (p=0.3548) nachgewiesen werden. Bei 82% der Patienten wurde ein mäßig differenziertes Karzinom (G2) diagnostiziert. Hierbei lag der Medianwert der Konzentrationen von Cyfra 21-1 bei 1,40 ng/ml, bei G3-Tumor annähernd gleich hoch (1,60 ng/ml) und G1-Befund bei 0,93 ng/ml (Abb. 4-9)

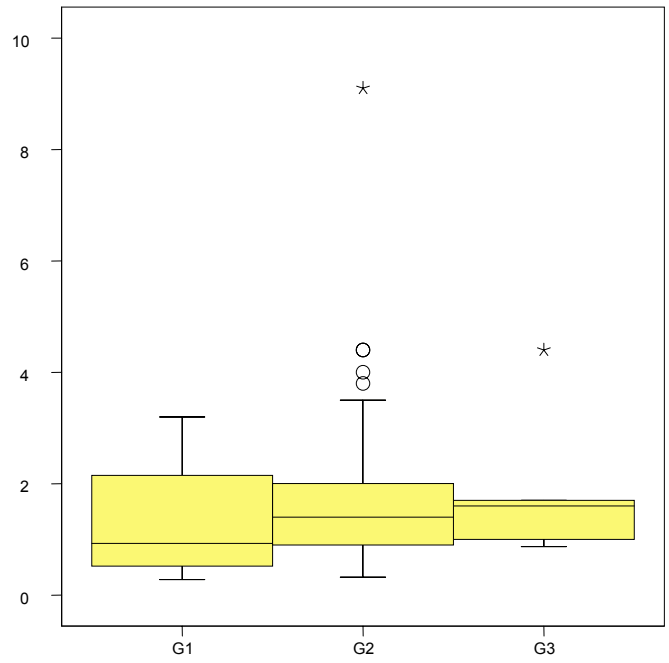

Abb. 4-9: Konzentrationen von Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der primären Diagnose in Abhängigkeit vom histologischen Tumorgrading

4.10 Spezifizität und Sensitivität bei Verwendung der Cyfra 21-1-Konzentration als Follow-up-Marker für Plattenepithelkarzinom des Oropharynx bei einem Lokalrezidiv und einer Fernmetastasierung

Im vorliegenden Fall gibt die Sensitivität, die anhand der Stichprobe geschätzte Wahrscheinlichkeit dafür an, dass ein Patient mit Metastasen, Tumorrezidiv oder Progress einen hohen Wert des Cyfra 21-1 hat (oberhalb eines jeweiligen cut-off point, „Schwellenwert“). Die Spezifität entspricht der Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient ohne Metastasen oder Tumorrezidiv einen geringen Wert des Cyfra 21-1 hat (unterhalb eines jeweiligen cut-off point). Von den insgesamt 50 Patienten traten bei 20 Patienten (40%) nachweisbare Metastasen oder ein Tumorrezidiv oder lymphogene Metastasierung auf, während 30 der Patienten (60%) kein derartiges Ereignis hatten (komplette Remission) (Abb. 4-10 und Tabelle 4-3).

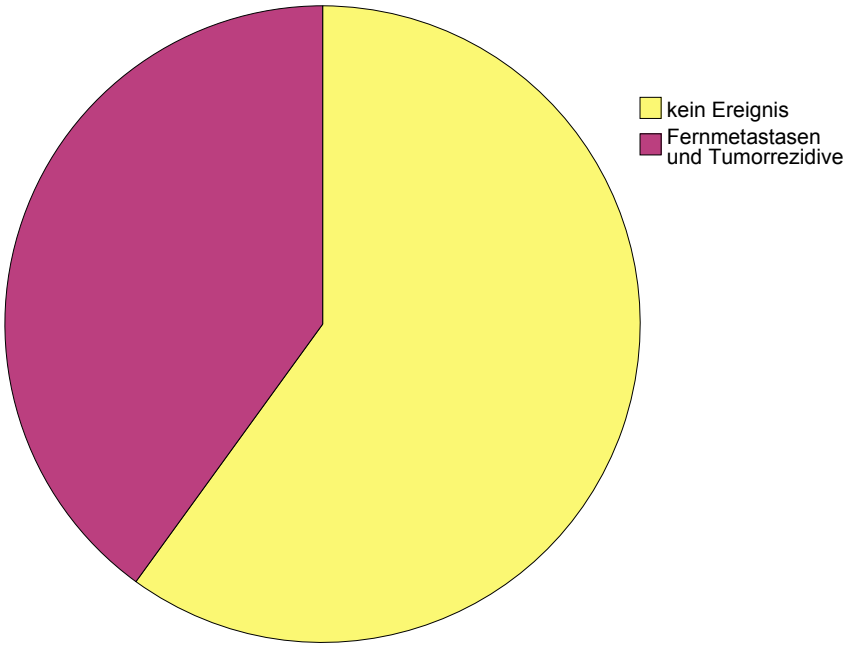

Abb. 4-10: Häufigkeit der Patienten in Bezug auf klinisches Ereignis

Tabelle 4-3: Spezifität und Sensitivität der Konzentration von Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose als Follow-up-Marker für den Hinweis auf Tumorrezidiv und Fernmetastasieung

Konzentration von Cyfra 21-1	Sensitivität	1 – Spezifität
0.5300	1.000	1.000
0.5200	1.000	0.960
0.5800	1.000	0.920
0.6050	0.950	0.920
0.6350	0.950	0.880
0.6900	0.950	0.840
0.7500	0.950	0.800
0.7750	0.950	0.760
0.8300	0.950	0.720
0.9000	0.950	0.680
0.9450	0.900	0.680
0.9750	0.850	0.680
0.9900	0.850	0.640
1.0500	0.850	0.600
1.1500	0.850	0.480
1.2500	0.850	0.360
1.3500	0.800	0.320
1.4500	0.800	0.240
1.6000	0.700	0.160
1.8000	0.650	0.160
1.9500	0.600	0.160
2.0500	0.600	0.120
2.3000	0.500	0.080
2.9000	0.450	0.080
3.4500	0.450	0.000
4.0500	0.350	0.000
4.6000	0.300	0.000
4.9500	0.250	0.000
5.5000	0.200	0.000
7.5000	0.150	0.000
11.1000	0.100	0.000
511.5000	0.050	0.000
1011.0000	0.000	0.000

4.10.1 Receiver Operating Characteristic (ROC) - Kurven bei Verwendung von Cyfra 21-1 als diagnostischer Marker zu verschiedenen Zeitpunkten

Um die Eignung des Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Primärdiagnose als Prädiktor für das Auftreten von Metastasen und Rezidiven zu untersuchen, wurde eine ROC-Kurve dargestellt. Dafür wird in einem Koordinatensystem die Sensitivität auf der Y-Achse und Spezifität auf der X-Achse für alle gemessenen Werte des Cyfra-21-1 aufgetragen. Nur bei einem Test, bei dem falsche Befunde ausgeschlossen sind, ist diese Fläche unter der ROC-Kurve (area under the ROC curve = AUC) gleich 1 (60). Eine AUC von 0,5 besagt, dass der diagnostische Test nicht besser ist als zufällige Zuweisungen „krank“ oder „gesund“ (60). Die Fläche unterhalb der ROC-Kurve (AUC) zum Zeitpunkt der Diagnose beträgt 0,7 (Tabelle 4-4). Außerdem ist die AUC signifikant größer als der Wert 0,5.

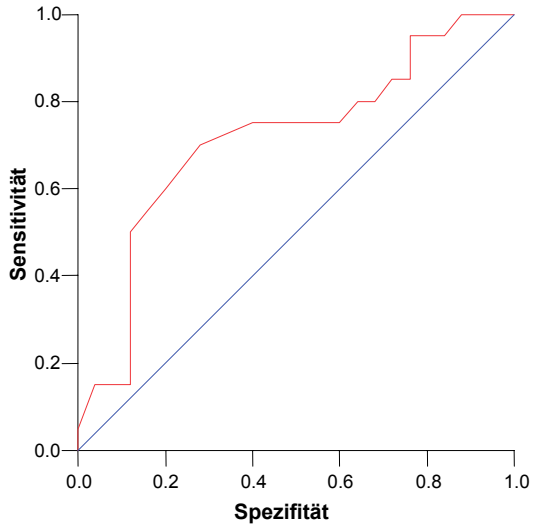

Abb. 4-11: ROC-Kurve bei der Verwendung von Cyfra 21-1 als diagnostischer Marker zum Diagnosezeitpunkt

Tabelle 4-4: Fläche unter der Kurve für Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt der Diagnose

AUC	Standard-Fehler	p-Wert bei U-Test auf AUC ≠ 0,5	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,700	0,076	0,016	0,550	0,849

ROC-Kurve und AUC von Cyfra 21-1 nach Abschluss der primären Therapie und ein Jahr nach der Diagnose

Für die Werte des Cyfra 21-1 zum Zeitpunkt nach der primären Therapie wird ebenso verfahren. Hier ergibt sich AUC=0,692, also ebenfalls signifikant größer als 0,5. Die größte AUC wird für Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose berechnet, hier liegt AUC bei 0,787.

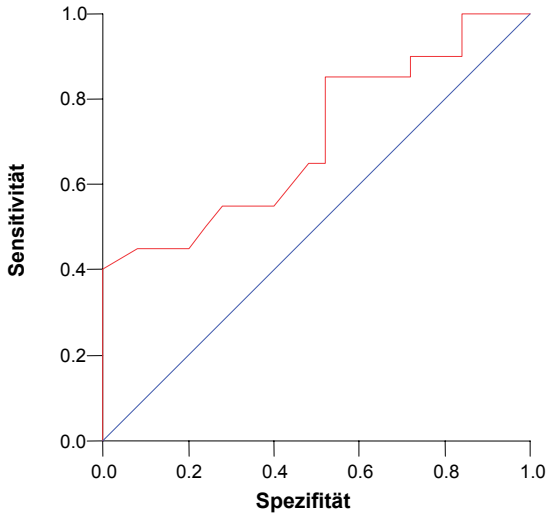

Abb. 4-12: ROC-Kurve bei der Verwendung von Cyfra 21-1 als diagnostischem Marker nach der primären Therapie

Tabelle 4-5:Fläche unter der Kurve für Cyfra 21-1 nach der primären Therapie

AUC	Standard-fehler	p-Wert bei U-Test auf AUC≠0,5	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,692	0,076	0,021	0,542	0,841

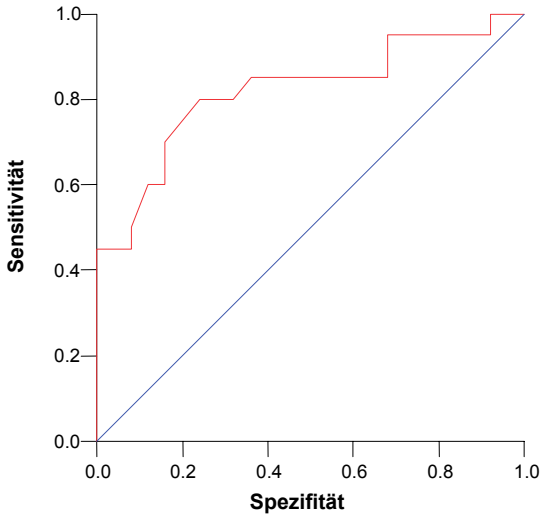

Abb. 4-13: ROC-Kurve bei Verwendung von Cyfra 21-1 als diagnostischem Marker ein Jahr nach der Diagnose

Tabelle 4-6: AUC des Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose

AUC	Standard-fehler	p-Wert bei U-Test auf AUC≠0,5	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,787	0,068	0,001	0,654	0,919

Beim Vergleich der AUCs für die 3 Zeitpunkte fällt auf, dass der Wert ein Jahr nach der Diagnosestellung am größten ist. Anschließend werden die Sensitivität und Spezifität des Cyfra 21-1 ein Jahr nach dem Diagnosezeitpunkt bezüglich des üblichen Cut-off-Wertes 3,3 ng/ml berechnet (Tabelle 4-7). Insgesamt haben nur 11 Patienten eine Konzentration des Cyfra 21-1 von mindestens 3,3 ng/ml. Von den 20 Patienten mit Fernmetastasierung, einem Tumorrezidiv oder lymphogener Metastasierung haben 9 Patienten (45%) einen Wert von mindestens 3,3 ng/ml. Dies entspricht der Sensitivität von 45%. Während 30 Patienten aus dem gesamten Patientengut (n=50) eine komplette Remission aufwiesen, wurden bei 28 Patienten von ihnen Werte des Cyfra 21-1 ≤ 3,3 ng/ml zum Zeitpunkt ein Jahr nach der Diagnose (Follow up) nachgewiesen. Somit beträgt die Spezifität 93,3%.

Tabelle 4-7: Cyfra 21-1-Konzentration ein Jahr nach der Diagnose in Abhängigkeit vom Auftreten eines Tumorrezidives, einer Fernmetastasierung und eines Tumorprogesses

Cyfra 21-1-Konzentration (ein Jahr nach Diagnose)		Kein Ereignis	Metastase, Rezidiv/Progress	Gesamt
≤ 3,3ng/ml	Anzahl (n)	28	11	39
	Prozent (%)	93.3	55.0	78.0
≥ 3,3ng/ml	Anzahl (n)	2	9	11
	Prozent (%)	6.7	45.0	22.0

Als letztes wird die Sensitivität auf Basis des individuellen letzten Messwertes der Konzentration des Cyfra 21-1 für jeden Patienten bestimmt. Von den 22 Patienten mit Fernmetastasierung, einem Tumorrezidiv oder lymphogener Metastasierung liegt bei 13 Patienten (65%) der zuletzt gemessene Cyfra 21-1-Wert mindestens bei 3,3 ng/ml, teilweise auch erheblich höher. Dies entspricht einer Sensitivität von 65%.

Während die Prä-Test-Prävalenz 60% (20/50) beträgt, ergibt sich ein positiver prädiktiver Wert von 81.8%. Dies entspricht der Wahrscheinlichkeit dafür, dass ein Patient mit einem Wert des Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose über 3,3 ng/ml tatsächlich eine Fernmetastasierung oder ein Tumorrezidiv entwickelt. Der negative prädiktive Wert beträgt 71.8%. Dies entspricht der Wahrscheinlichkeit dafür, dass ein Patient mit einem Wert des Cyfra 21-1 ein Jahr nach der Diagnose unter 3,3 ng/ml keine Fernmetastase, Rezidiv oder lymphogene Metastasierung entwickelt. Die folgenden beiden Boxplots (Abb. 4-14, Abb. 4-15) zeigen die Entwicklung der Konzentration von Cyfra 21-1 vom Zeitpunkt der Diagnosestellung bis zum letzten gemessenen Wert. Hieraus ist zu erkennen, dass für Patienten mit kompletter Remission (ohne klinisches Ereignis) die Verteilung der Konzentration von Cyfra 21-1 zu beiden Zeitpunkten annähernd identisch ist. Dagegen zeigen sich bei Patienten mit Fernmetastasen, Tumorrezidiven oder manifester lymphogener Metastasierung beim letzten gemessenen Wert tendenziell höhere Werte des Cyfra 21-1: Der Median ist zum Zeitpunkt der Diagnose 1,95 ng/ml und beim letzten gemessenen Wert 4,6 ng/ml. Auch die Streuung der Werte ist erheblich größer: Der Interquartilsabstand ist zum Zeitpunkt der Diagnose 1,93 und beim letzten gemessenen Wert 6,58.

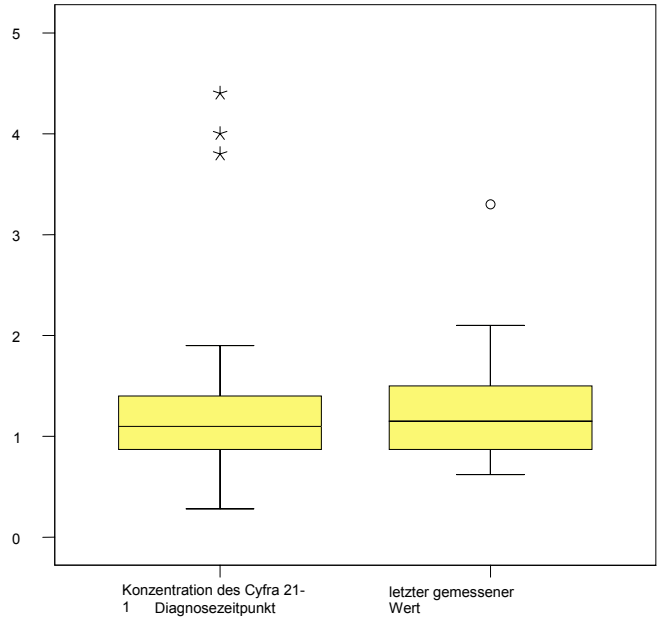

Abb. 4-14: Vergleich der Werte des Cyfra 21-1 (ng/ml) zum Diagnosezeitpunkt und dem letzten gemessenen Wert bei Patienten ohne klinischem Ereignis

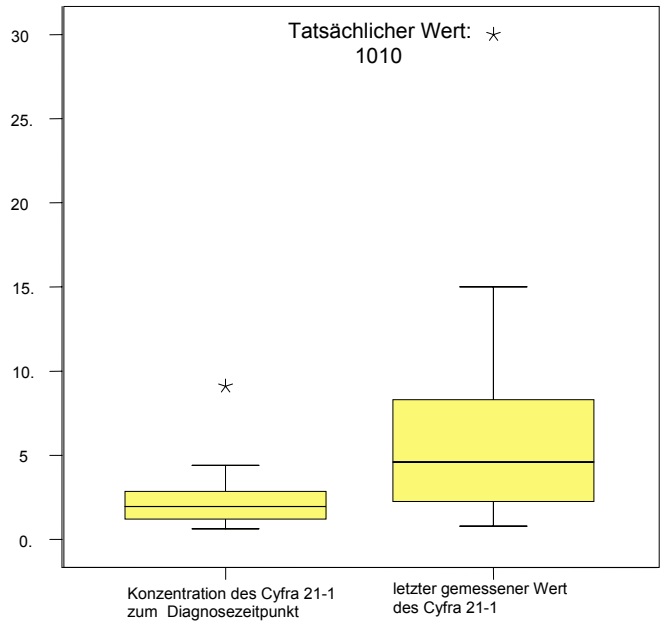

Abb. 4-15: Vergleich der Konzentration von Cyfra 21-1 (ng/ml) zum Diagnosezeitpunkt und dem letzten gemessenen Wert bei Patienten mit klinischem Ereignis

5 Diskussion

Weltweit stehen maligne Tumoren der oberen Luft- und Speisewege an sechster Stelle aller Krebserkrankungen (4). Die Inzidenz sämtlicher Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes liegt bundesweit derzeit bei ca. 50 von 100.000 Neuerkrankungen pro Jahr. Die Inzidenz der o.g. Neubildungen variiert in Abhängigkeit von geographischen, wirtschaftlichen, sozialen und ethnischen Faktoren. So traten rund 85% der malignen Kopf-Hals-Tumoren, welche im National Cancer Data Base Report in den USA untersucht wurden, innerhalb der weißen Bevölkerung auf. Die Oropharynxkarzinome hatten einen Anteil von etwa 12% der bösartigen Neoplasien im Kopf-Hals-Bereich, während Hypopharynxkarzinome mit 4% wesentlich seltener auftraten. Hierbei dominierten Plattenepithelkarzinome mit über 90% aller in den oberen Atem- und Speisewegen lokalisierten Karzinome (21, 48).

In Deutschland liegt die geschätzte Zahl der jährlichen Neuerkrankungen an Karzinomen der Mundhöhle und des Rachens bei Männern mit 7.600 Patienten fast dreimal so hoch wie bei Frauen (2.800). Mit einem Anteil von 3.3% an allen Krebserkrankungen stehen diese Krebsformen bei Männern an siebter Stelle der Erkrankungshäufigkeit (bei Frauen mit 1,4% an fünfzehnter Stelle). Das mittlere Erkrankungsalter ist verglichen mit anderen Krebslokalisationen niedrig und liegt für Männer bei 61, für Frauen bei 63 Jahren. Die höchsten Erkrankungsraten ergeben sich für Männer in den Altersgruppen zwischen 55 und 65 Jahren. In der vorliegenden Studie betrug das Durchschnittsalter aller Tumorpatienten 55,44 Jahre, wobei das der männlichen und der weiblichen Patienten (mit 55 Jahren) annähernd gleich war. Des weiteren konnte in der vorliegenden Untersuchung gezeigt werden, dass die Patientenkohorte im Alter von 55 bis 65 Jahren am stärksten vertreten war. Das ermittelte Durchschnittsalter und der Altersgipfel stimmten mit den Werten der aktuellen Literaturangaben überein (21).

In vielen anderen Studien wurde auf die Dominanz des männlichen Geschlechts bei Karzinomen des Oropharynx hingewiesen. Dieses wurde in der vorliegenden Untersuchung mit 40 männlichen Patienten (80%) und 10 weiblichen Patienten (20%) bestätigt. Die Ergebnisse waren mit den Angaben des Robert-Koch-Instituts und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland kongruent. In der

vorliegenden Studie waren die Karzinome des Oropharynx zumeist im Bereich des Zungengrundes (30%) sowie der Tonsillen (26%) lokalisiert.
Die bedeutendsten Risikofaktoren, welche für die Entstehung eines Oro- bzw. Hypopharynxkarzinoms verantwortlich gemacht werden können, sind Nikotin- und Alkoholabusus, wobei insbesondere die Kombination dieser Genussmittel mit einer Potenzierung des Erkrankungsrisikos einhergeht (10). Raucher erkranken an einer bösartigen Neuerkrankung der Mundhöhle und des Rachens bis zu sechs Mal häufiger als Nichtraucher (10, 23). Weitere exogene Noxen, die für die Entstehung der Malignome des oberen Aerodigestivtraktes verantwortlich gemacht werden, sind virale Infektionen mit dem Humanen Papilloma Virus (HPV) oder dem Ebstein Barr Virus (EBV) (10, 12, 43, 61). Neuere Untersuchungen zeigten, dass HPV-Infektionen oftmals unabhängig von den bereits geschilderten Risikofaktoren „Rauchen“ und „Alkoholkonsum“ mit dem Auftreten von Oropharynxkarzinomen assoziiert waren. Hierbei konnten die Genotypen 16 und 18 als Hochrisiko – HPV – Typen (HR - HPV) identifiziert werden. Neben der Zervix uteri und dem Kopf-Hals-Bereich kommen HR-HPV-induzierte Läsionen im gesamten Anogenitaltrakt sowie seltener im Bereich des Ösophagus, der Konjunktiven und des restlichen kutanen Integuments vor (5, 32, 61). Vermutlich spielen weitere Faktoren wie Mangelernährung, Immunschwäche, radioaktive Strahlung und kanzerogene Chemikalien eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Entstehung oropharyngealer Karzinome.

Die meisten der an einem Plattenepithelkarzinom des Oropharynx erkrankten Patienten befinden sich bei der Diagnosestellung bereits in einem fortgeschrittenen Tumorstadium. Bei etwa 80% der Patienten fand sich bei der Diagnosesicherung ein UICC- Stadium IV. Häufig bestehen zu diesem Zeitpunkt bereits Spätsymptome wie lokale Schmerzen, Dysphagie, Halsschwellung oder Odynophagie. In absteigender Häufigkeit werden zusätzlich pulmonale Metastasen (65%), Knochenmetastasen (15%) und Lebermetastasen (12%) nachgewiesen (63). In 50-60% der Fälle sind regionale Lymphknotenmetastasen, welche gleichfalls eindeutige prognoselimitierende Ursachen dieser Erkrankung darstellen, festzustellen (54, 63). In dem hier untersuchten Patientenkollektiv konnten zum Zeitpunkt der Diagnose cervikale Lymphknotenmetastasen bei 76% der Patienten nachgewiesen werden.

Obwohl das therapeutische Spektrum in den vergangenen Dekaden erweitert wurde, konnte insbesondere die Prognose der Plattenepithelkarzinome des Kopf-Hals-

Bereiches nicht wesentlich verbessert werden (17, 44, 50). Noch immer wird das Outcome bzw. die Prognose des Therapieerfolges vom Vorhandensein regionärer Metastasen erheblich beeinflusst. Der Nachweis manifester lymphogener Metastasen gilt hier als wichtiger prognostischer Faktor für das Gesamtüberleben (46, 63). Beim Auftreten lymphogener Metastasen wurde eine signifikante Reduktion der Überlebensrate beobachtet (13, 33, 62, 63). Die Mortalität der Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der oberen Atem- und Speisewege wird zusätzlich durch lokoregionäre Rezidive, Zweittumore und Fernmetastasen erhöht (16). Lokale und regionäre Rezidive sowie das Auftreten von Zweitkarzinomen sind häufig limitierende Faktoren, weil die Entdeckung dieser Karzinome aufgrund bereits erfolgter chirurgischer Interventionen erschwert wird (39).

Sesterhenn und Mitarbeiter (47) wiesen darauf hin, dass das sogenannte rezidivfreie Stadium (Relapse-Free Survival) bei Patienten mit Karzinomen des Oro- und Hypopharynx von der Lokalisation sowie dem Stadium des Tumors abhängig ist. Dieses beträgt bei der Demarkation von Tumoren im Oropharynx–Bereich 86 Monate (Medianwert), während es bei jenen des Hypopharynx 45 Monate beträgt (47). Mehr als 60% der Patienten mit Oro- und Hypopharynxkarzinomen erleiden innerhalb der ersten zwei Jahre nach Sicherung der Diagnose ein Rezidiv, nach weiteren drei Jahren entwickeln sogar 80% Tumorrezidive (47). Aus den oben genannten Gründen führt die Früherkennung von Tumorrezidiven und Fernmetastasen zu einer erheblichen Verbesserung der Überlebensrate. In diesem Sinne erscheint in der klinischen Praxis die Durchführung von blickdiagnostischen Verfahren wie Spiegel- und panendoskopischer Untersuchungen mit der Möglichkeit der Probeentnahme bei Verdacht auf Tumorrezidive, zum Ausschluß von Fernmetastasen oder zum Nachweis von syn- bzw. metachroner Zweittumoren unumgänglich.

Als eindeutige Kennzeichen derartiger Neoplasien werden cervikale Lymphadenopathien erachtet und sollten daher einer eingehenden Diagnostik zugeführt werden. Zur Erhärtung von solchen Verdachtsmomenten stehen verschiedene diagnostische Verfahren zur Verfügung:

Die minimalinvasive sonographisch gesteuerte Feinnadelpunktion kann laut Studienlage eine Sensitivität von 44-73% erreichen (2, 40, 58). Ergänzend können noninvasive bildgebende Verfahren eingesetzt werden, welche die Trefferquote für die

Detektion von Lymphknoten- und Fernmetastasen erhöhen. Hierbei kommen verschiedene Verfahren wie die Computertomographie (CT), die Magnetresonanztomographie (MRT) oder die Positronen-Emissions-Computertomographie (PET-CT) zum Einsatz. Die CT-Untersuchung (Sensitivität 83% und Spezifität 70%) weist im wesentlichen eine vergleichbare Genauigkeit wie die MRT-Untersuchung (Sensitivität 82% und Spezifität 81%) auf (51, 63). Die Sensitivität der PET-CT-Untersuchung bei der Detektion von Halslymphknotenmetastasen liegt bei rund 80%, während die Spezifität zwischen 88% und 100% rangiert (37, 39, 63).

Ergänzend zu den klinischen und apparativen diagnostischen Verfahren wird in den vergangenen Jahren der Einsatz von laborchemischen Parametern, den sogenannten Tumormarkern, angestrebt. Von den serologischen Tumormarkern haben bei Plattenepithelkarzinomen viele Tumormarker wie der Zytokeratinmarker CYFRA 21-1, das Carcinoemboryonale Antigen (CEA), das Squamous-Cell-Carcinoma-Antigen (SCCA) und das Tissue-Polypeptide-Specific-Antigen (TPS) an Bedeutung gewonnen.

Während zu Beginn experimenteller und klinischer Untersuchungen zur Zuverlässigkeit der oben genannten Tumormarker keine signifikanten Ergebnisse publiziert werden konnten (8, 22, 41, 49, 59), obwohl beispielsweise in einer von Rosati und Mitarbeitern (41) veröffentlichen Studie an 64 Patienten mit Plattenepithelepithelkarzinom der oberen Atem- und Speisewege 68% der Patienten erhöhte SCCA-Werte und 54% der Patienten erhöhte CEA-Werte bei Malignomen des Kopf-Hals-Bereiches zeigten, wurden diesbezügliche Studien weiter voranzusammengetrieben. So wurde in einer Untersuchung von Rosati und Mitarbeitern darauf hingewiesen, dass TPA als nützlicher Tumormarker für das Monitoring der Chemotherapie bei Patienten mit Malignomen des Kopf-Hals-Bereiches eingesetzt werden kann (41). Ferner wurden einige Tumormarker wie SCC bei Malignomen des Kopf-Hals-Bereiches zum klinischen Verlauf der Tumorerkrankung untersucht, jedoch ohne wesentlichen Erfolg.

In diesem Zusammenhang und basierend auf mehreren nachfolgend genannten aktuellen Studien schien Cyfra 21-1 ein geeigneteres Reliabilitätsprofil als die bisher vorgestellten Tumormarker, wie beispielsweise SCCA und CEA, für Plattenepithelkarzinome der oberen Luft- und Speisewege zu haben. Wollenberg und Mitarbeiter berichteten im Rahmen einer Untersuchung bei 163 Probanden mit primärem und 40 rezidiv erkrankten Probanden mit einem Plattenepithelkarzinom des

Kopf-Halses, dass die Sensitivität nicht höher als die der anderen oben genannten Marker, wie TPS und SCCA, war (65-66). Demgegenüber betonten Banal und Mitarbeiter, dass die Sensitivität von Cyfra 21-1 gegenüber SCCA und TPS als Tumormarker für die Frühdiagnose und das Monitoring des Therapieeffektes von Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches für den klinischen Einsatz zuverlässig sei (3). Von den zahlreichen vorgestellten Tumormarkern der Plattenepithelkarzinome der oberen Atem-, und Speisewege scheint sich Cyfra 21-1 im Vergleich zu den anderen Tumormarkern als ein wichtiger Parameter zur Diagnose und Nachsorge dieser Malignome vermehrt in der klinischen Routine zu etablieren.

Die Möglichkeit der Messung von im Serum löslichen Fragmenten des Cytokeratins 19 war die Grundlage für die Entwicklung dieses Tumormarkers. Cytokeratine sind Bausteine der intermediären Filamente und somit verantwortlich für die Stabilität der Epithelzellen (14, 30). Zusammen mit Aktin-Mikrofilamenten und Mikrotubuli bilden Keratin-Filamente das Cytoskelett der Epithelzellen (29-31). Derzeit sind 20 verschiedene Cytokeratine bekannt (CK 1-20), deren Molekülmasse zwischen 40 und 68 kDa liegt (29-31). Das Molekulargewicht von Cyfra 21-1, welches ein serumlösliches Fragment von Cytokeratin 19 ist, beträgt 30 kDa. Cytokeratine werden in unterschiedlichen Kombinationen in Abhängigkeit vom jeweiligen Zelltyp eingeteilt (29-31). CK1–CK8 werden zur neutral-basischen Typ-A-Subfamilie gezählt, während CK9–CK20 die saure Typ-B-Subfamilie darstellen. Diese bilden paarweise in den Intermediärfilamenten einen Heterodimer-Komplex bestehend aus einem Typ-A- und einem Typ-B-Cytokeratin. Die Verteilungsmuster dieser Komplexe unterscheidet sich in den einzelnen epithelialen Zellen erheblich, und ermöglicht somit die Zuordnung zur zellulären Herkunft (29-31). Cyfra 21-1 wird insbesondere von karzinomatösen Epithelzellen vermehrt im menschlichen Serum, im Urin und in diversen anderen Körperflüssigkeiten freigesetzt (9). Daher scheint es sich als Tumormarker bei nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC), Harnblasentumoren und Mammakarzinomen zu eignen (9, 52, 53).

Der wissenschaftliche Ansatz der vorliegenden Dissertation ist die retrospektive Überprüfung des Ausmaßes der klinischen Zuverlässigkeit des Tumormarkers Cyfra 21-1 als prognostischer Marker zum Krankheitsverlauf von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Oropharynx. Bei den hier untersuchten Probanden wurde die Cyfra 21-1-Konzentration im Serum zum Zeitpunkt der Diagnosesicherung,

4-6 Wochen nach der primären Therapie und in einem Follow-up (ein Jahr nach der Diagnosestellung) bestimmt.
Der Cut-off-Wert von Cyfra 21-1 wurde zunächst anhand klinisch-empirischer Erfahrungen bei 3,3 ng/ml festgelegt (16, 25, 26). Der Cut-off-Wert dient der Unterscheidung zwischen nicht-pathologischen und pathologischen Befunden. Unterhalb dieses Wertes sollten möglichst viele Patienten der Referenzgruppe und oberhalb dessen möglichst viele Patienten mit malignen Tumorerkrankungen liegen. Die Sensitivität wird durch die Anzahl der an einem Oropharynx-Karzinom erkrankten Patienten, deren Marker-Konzentration oberhalb des Cut-off-Punktes (3,3 ng/ml) liegt, bezogen auf die Gesamtzahl aller Oropharynxkarzinompatienten geschätzt. Hierauf begründet wird die Spezifität durch den Quotienten aus der Anzahl der nicht an einem Oropharynxkarzinom erkrankten Personen, deren Marker-Konzentration unterhalb des Cut-off-Wertes liegt, bezogen auf die Gesamtzahl des Vergleichskollektives geschätzt. Sensitivität und Spezifität sind somit wesentlich von der Bestimmung des Cut-off-Wertes abhängig.

Im weiteren erfolgte die statistische Verifizierung durch die Anwendung des Jonkheere-Terpstra-Tests. Dieser Test stellt ein parameterfreies statistisches Verfahren dar, bei dem im Rahmen einer Varianzanalyse verglichen wird, ob sich verschiedene unabhängige Stichproben (Gruppen) hinsichtlich einer ordinal skalierten Variable unterscheiden, wobei auf das Vorliegen eines Trends zwischen den Gruppen getestet wird (20). Ob sich zum Diagnosezeitpunkt eine Abhängigkeit von der Größe des Primärtumors, dem Ausmaß der lymphogenen Metastasierung und dem histologischen Tumorgrading mit der Konzentration von Cyfra 21-1 identifizieren lässt, wurde unter anderem anhand dieser Methoden in der vorliegenden Dissertation überprüft.

Hinsichtlich des Zusammenhangs der im Serum gemessenen Konzentration von Cyfra 21-1 und der Tumorgröße (Einteilung gemäß der internationalen TNM-Klassifikation der WHO) zum Diagnosezeitpunkt konnten folgende Feststellungen getroffen werden:
Bezüglich der Verteilung der Tumoren nach der Tumorgröße zum Zeitpunkt der Diagnosesicherung handelte es sich bei der Stichprobe am häufigsten um Tumoren des Stadiums T2 (34%), gefolgt von Stadium T4 (32%), T3 (24%) und T1 (16%). Bei den T3- und T4-Tumoren lag der Medianwert der Konzentration von Cyfra 21-1 bei einem Wert von 1,40 ng/ml, während dieser bei den T2 und T1-Tumoren bei 1,10 ng/ml zu ermitteln war. Hier ließ sich keine signifikante Korrelation zwischen der Höhe der

Konzentration von Cyfra 21-1 und dem T-Stadium erkennen (p=0,498). Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass Cyfra 21-1 als Frühdiagnostikum für Plattenepithelkarzinome der oberen Luft- und Speisewege kaum geeignet ist, weil kein Zusammenhang zwischen der quantitativen Tumormasse und der Serumkonzentration des Cyfra 21-1 nachzuweisen war.

Demgegenüber belegte eine Studie von Céruse und Mitarbeitern an 300 Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der oberen Atem- und Speisewege und einer Kontrollgruppe von 71 Nichterkrankten, dass ein statistischer Zusammenhang zwischen der Konzentration von Cyfra 21-1 und dem Tumorstadium besteht (7).

Bezogen auf die Identifizierung von Zusammenhängen zwischen Konzentration von Cyfra 21-1 und dem Ausmaß lymphogener Metastasierungen zum Diagnosezeitpunkt konnte in der vorliegenden Studie kein signifikantes Ergebnis ermittelt werden. Zum Zeitpunkt der Diagnosesicherung wiesen 38 der 50 Patienten eine lymphogene Metastasierung auf. Gemäß der internationalen TNM-Klassifikation der WHO wiesen 4 Patienten einen Lymphknotenstatus von N2a auf. Bei dieser Gruppe lag der Medianwert der Cyfra 21-1-Konzentrationen bei 2,70 ng/ml, während der Wert bei einem fortgeschrittenen Lymphknotenbefall (N3) 1,21 ng/ml betrug. Hierbei lag der nach dem Jonkheere Terpstra-Test ermittelte p-Wert bei 0,727. Das dieser Studie zugrunde liegende Patientenkollektiv wies somit durchweg inkonstante Ergebnisse bezüglich der Cyfra-21-1-Serumkonzentration und dem Vorhandensein lymphogener Metastasen auf. Auf dieses Resultat bezogen kann konstatiert werden, dass einerseits keine eindeutige Korrelation zwischen dem Ausmaß der Lymphknotenmetastasen und der Cyfra 21-1 Konzentrationen festzustellen war, andererseits jedoch beim Vorliegen expansiven Tumorwachstums mit Befall der Lymphknoten ein Anstieg der Konzentration von Cyfra 21-1 festzustellen war. Demzufolge ist der Bestimmung des Cyfra 21-1 hinsichtlich der Detektion von regionären Lymphknotenmetastasen beim Vorliegen eines oropharyngealen Plattenepithelkarzinoms eine rein qualitative Aussage beizumessen.

Passend zu diesen Ergebnissen zeigte die Arbeitsgruppe von Bünzel und Mitarbeitern (6), dass zum Diagnosezeitpunkt kein signifikanter Zusammenhang zwischen Cyfra 21-1-Werten und lymphogener Metastasierung ermittelt werden konnte. Indes wiesen Niemann und Mitarbeiter auf eine deutliche Korrelation zwischen Tumorgröße,

Lymphknotenmetastasen und der im Serum gemessenen Cyfra 21-1-Werte hin (33). Auf ein ähnliches Ergebnis kamen Banal und Mitarbeiter, die eine Untersuchung an 320 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren, von denen 240 Erstdiagnosen waren, durchführten (3). Sie berichteten von einer deutlichen Korrelation zwischen der im Serum gemessenen Konzentration von Cyfra 21-1 und der diagnostizierten Tumorgröße sowie dem jeweiligen Lymphknotenstatus.

In der vorliegenden Arbeit konnte des weiteren abgeleitet werden, dass in Anbetracht des Tumorgradings gemäß der internationalen TNM-Klassifikation der WHO zum Zeitpunkt der Diagnosesicherung kein Zusammenhang zwischen der Konzentration von Cyfra 21-1 und dem histologischen Tumorgrading festzustellen war (p=0,354). Aus der Grundgesamtheit wurde bei 82% der Patienten ein mäßig differenziertes Karzinom (G2) klassifiziert. Bei 8% der Patienten konnte ein gut differenziertes Karzinom (G1) diagnostiziert werden, während bei den restlichen Patienten ein gering differenziertes Karzinom (G3) festgestellt wurde. Der Medianwert der Cyfra-21-1-Konzentrationen lag bei dem betrachteten Patientenkollektiv bei 1,40 ng/ml. Bei G3-Tumoren waren die Werte annähernd gleich hoch (1,60 ng/ml) und bei G1-Tumoren betrugen die Werte 0,93 ng/ml. Diese Ergebnisse lieferten keinen Anhalt für die Annahme, dass die Entdifferenzierung des malignen Plattenepithelgewebes sich in Cyfra-21-1-Konzentrationen widerspiegeln könnte. Im Gegensatz hierzu stellten Niemann und Mitarbeiter eine signifikante Korrelation zum Zeitpunkt der Primärdiagnose zwischen der Cyfra-21-1-Konzentration und dem histologischen Tumorgrading fest (33).

Die anhand der Studienlage kontrovers geführte Diskussion um die Zuverlässigkeit des klinischen Einsatzes von Tumormarkern wirft die Frage auf, ob Cyfra 21-1 als früher Indikator für Fernmetastasen und serologischer Marker in der klinischen Follow-up Phase bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches geeignet ist. Demzufolge wurde in der vorliegenden Arbeit die Sensitivität und die Spezifität bei der Verwendung von Cyfra 21-1 als Follow-up-Marker (ein Jahr nach der Diagnosesicherung) hinsichtlich der Diagnose von Lokalrezidiven und Fernmetastasierungen untersucht. Der Cut-off-Wert wurde wie zuvor bei 3,3 ng/ml festgelegt.

Von den insgesamt 50 Patienten waren nach einem Jahr bei 20 Patienten (40%) nachweisbare Metastasen oder Tumorrezidive aufgetreten. Bei dieser Subgruppe

konnte bei 9 Patienten eine Cyfra-21-1-Konzentration von ≥3,3 ng/ml ermittelt werden, was hinsichtlich der Sensitivität zu einem Resultat von 45% führt. Bei den restlichen 30 Patienten (60%) konnte eine komplette Remission verzeichnet werden, was gleichzeitig den Ausschluss von Fernmetastasen bedeutet. Innerhalb dieser Gruppe konnte bei 28 Patienten eine Cyfra-21-1-Konzentration von weniger als 3,3 ng/ml verzeichnet werden. Die Spezifität des Cyfra 21-1 als Follow-up-Marker entsprach folglich 93,3%. Zusammenfassend konnte in der Follow-up-Untersuchung zur Detektion von Fernmetastasen und Tumorrezidiven eine Sensitivität von 45% ermittelt werden, während die Spezifität bei 92% lag.

Die Bedeutung von Cyfra 21-1 bei der klinischen Anwendung bei Plattenepithelkarzinomen der oberen Atem- und Speisewege wird in der Literatur in widersprüchlicher Weise diskutiert:

In einer von Doweck und Mitarbeitern (11) veröffentlichen Studie wurden 67 Patienten mit einem primären Karzinom des Kopf-Hals-Bereiches untersucht. Die Autoren befanden, dass Cyfra 21-1 nicht als prognostischer Marker für diese Karzinome in Abhängigkeit von dem jeweiligen Tumorstadium geeignet sei. Jedoch berichteten sie, dass die Erhöhung der Cyfra-21-1-Werte (bei einem Cut-Off-Wert von 1,5 ng/ml) in der Follow-up-Phase einem Tumorrezidiv zugeordnet werden könne. Hierbei wurden 38 Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der oberen Atem- und Speisewege untersucht. 83% der Patienten zeigten eine signifikante Erhöhung der Cyfra-21-1-Werte vor bzw. zeitgleich mit dem Auftreten von Tumorrezidiven und Tumorresiduen.

Pujol und seine Mitarbeiter (34-36) berichteten, dass Cyfra 21-1 als ein unabhängiger prognostischer Tumormarker für Plattenepithelkarzinome der Lunge zu bewerten sei. Sie konstatierten, dass die Bestimmung des Cyfra 21-1 neben der Bewertung von den klassischen prognostischen Faktoren, wie beispielsweise dem Gewichtsverlust, eine eigenständige Bedeutung beizumessen sei.

In einer von Niemann und Mitarbeitern (33) veröffentlichten Studie zeigten Patienten mit Fernmetastasen eine Erhöhung der Cyfra-21-1-Konzentration bei einem Cut-off-Wert von 2,2 ng/ml. Weiterhin wurde eine signifikante Korrelation von Tumormarkern mit rezidivierenden Ereignissen in einer Studie von Zhong (67) erwähnt: Patienten mit Tumorrezidiven im Bereich der oberen Atem- und Speisewege zeigten deutlich höhere

Konzentrationen von Cyfra 21-1 als solche ohne derartige Ereignisse. In einer von Doweck und Mitarbeitern (11) veröffentlichten Studie an 67 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren (57 Patienten mit Plattenepithelkarzinomen, fünf mit Adenokarzinomen und weitere fünf mit Karzinomen sonstiger Diginität) wurde bei 83% der Patienten mit einem Turmorrezidiv eine signifikante Erhöhung der Cyfra 21-1-Konzentration vor oder während des Auftretens von erneuten Tumorproliferationen festgestellt. Bei dieser Studie konnte allerdings übereinstimmend mit unseren Ergebnissen keine Korrelation zwischen der Cyfra-21-1-Konzentration und dem Tumorstadium festgestellt werden.

Ein enger Zusammenhang zwischen Cyfra-21-1-Werten und dem Tumorstadium wurde in der vorliegenden Literatur angedeutet, und zugleich weisen einige Autoren darauf hin, dass Cyfra 21-1 als Tumormarker bei der Diagnose und Verlaufskontrolle hilfreich sein kann (9). In einer Untersuchung von Céruse und Mitarbeitern (7) betrug die Sensitivität bei der Anwendung von Cyfra 21-1 zum Diagnosezeitpunkt 72%, während die Spezifität bei 94% lag. Dieses Ergebnis fällt insofern „gut“ aus, als der zugrunde gelegte Cut-off-Wert bei 1 ng/ml definiert worden war.

In der vorliegenden Abhandlung wurde die klinische Zuverlässigkeit bei der Anwendung des serumbestimmten Tumormarkers Cyfra 21-1 bei Malignomen des Kopf-Hals-Bereiches untersucht. Die Sicherheit der Aussagen der hier erörterten Zusammenhänge anhand klinischer Zuverlässigkeit wurde unter anderem durch die Frage nach der Korrelation zwischen Tumormasse und Cyfra-21-1 Konzentration untersucht. Hierbei konnte aufgezeigt werden, dass zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei dem untersuchten Patientenkollektiv kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Cyfra-21-1-Konzentrationen und der Tumorgröße, der lymphogenen Metastasierung, dem jeweiligen Tumorstadium sowie dem Tumorgrading zu ermitteln war.

In Bezug auf prospektive Überlegungen konnte aufgeschlüsselt werden, dass die Sensitivität des Tumormarker-Follow-up mit 45% bei einem Cut-off-Wert von 3,3 ng /ml als eindeutiger Hinweis für proliferative Ereignisse wie Tumorrezidive und pulmonale Metastasierungen zu bewerten ist. Für die Spezifität konnte ebenfalls ein deutliches Resultat von 93,3% ermittelt werden. Darüber hinaus kann man begründen, dass ein wesentlicher Teil der produzierten Ergebnisse unmittelbar von der Definierung des Cut-off-Wertes abhängig war. Wahrscheinlich lässt sich die niedrige Sensitivität von Cyfra

21-1 als Follow-up-Marker dadurch erklären, dass keine synchrone Erhöhung der Konzentration von Cyfra 21-1 zum Tumorgeschehen erfolgt. Vermutlich findet eine Erhöhung des Cyfra 21-1 nicht gleichzeitig mit dem Auftreten und dem Tumorwachstum statt. Ein Erklärungsmodell wäre, dass die mangelnde Synchronizität die Detektion von Lokalrezidiven oder Fernmetastasierungen beeinflusst und somit die geringe Sensitivität bedingt.

In der Frühdiagnostik oder als Screeningmethode für Plattenepithelkarzinome der oberen Luft- und Speisewege bietet Cyfra 21-1 nach dem aktuellen Wissensstand und den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung keine Bereicherung. Jedoch kann die Erhebung dieses serumbestimmten Markers wertvolle Hinweise auf Tumorrezidive, Fernmetastasen und die Kontrolle des Therapieerfolges sowie des Krankheitsverlaufes geben. Nicht unbemerkt sollte bleiben, dass die Resultate dieser Untersuchung eindeutig die Überlegenheit der bisherigen routinemäßigen klinischen Kontrollen wie Blickuntersuchungen (Spiegel- und panendoskopische Untersuchungen), bildgebende Verfahren und Untersuchungen nativer Präparate belegen.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass die Cyfra-21-1-Konzentration bei Plattenepithelkarzinomen der oberen Atem- und Speisewege zusätzliche Hinweise zum Monitoring und zur Erkennung von Tumorrezidiven und Fernmetastasen liefert. Hierbei muss darauf hingewiesen werden, dass in dieser Studie eine relativ kleine Gruppe von Patienten erfasst wurde. Die Verifizierung der Ergebnisse macht eine deutlich größere Gruppe von Patienten erforderlich – gegebenenfalls könnten Metaanalysen dazu beitragen. Des Weiteren kann die Untersuchung eines größeren Patientenkollektivs eine Anpassung des Cut-off Wertes für Cyfra 21-1 nach sich ziehen und zu einer noch größeren Sicherheit in der Zuverlässigkeit der Aussagekraft anhand eines höheren Sensitivitätswertes führen.

Nicht außer Betracht gelassen werden sollte, dass möglicherweise die Konzentration des Cyfra 21-1 als serumlösliches Proteins von den Gesamtprotein-Konzentrationen sowie vom Hämatokrit-Wert wesentlich beeinflusst wird. Zukünftige Untersuchungen sollten diesen Umstand näher beleuchten und gegebenenfalls in verbesserte laborchemische Untersuchungsmethoden münden, um die Bedeutung des Cyfra 21-1 im Sinne frühdiagnostischer Sicherheit zu stärken. Abschließend lässt sich im klinischen Alltag erfahren, dass Änderungen der Cyfra-21-1-Konzentrationen in

Abhängigkeit vom individuellen Verlauf der Tumorerkrankung wertvolle Hinweise auf proliferative Ereignisse wie Tumorrezidive oder Fernmetastasierungen abgesehen vom Cut-off-Wert liefern.

6 Zusammenfassung

Weltweit stehen die Karzinome der oberen Luft- und Speisewege an sechster Stelle der Häufigkeit aller Krebserkrankungen. Die Überlebensrate für Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der oberen Luft- und Speisewege konnte im Laufe der letzten Jahrzehnte trotz einer großen Bandbreite an Therapieoptionen zwar verbessert, jedoch keinesweg zufriedenstellend optimiert werden. Diese Tatsache spiegelt sich in der weiterhin hohen Rezidivrate nach teilweise kurzen rezidivfreien Intervallen bei Plattenepithelkarzinomen des Oropharynx wieder. Von diesem Hintergrund ist die Früherkennung von Tumorrezidiven und Fernmetastasen, insbesondere durch den Einsatz von diagnostischen Verfahren wie Tumormarker Cyfra 21-1, ein wichtiges Ziel bei der Bemühung um eine Verbesserung der Überlebensrate.

In der vorliegenden Dissertation wurde retrospektiv die klinische Wertigkeit des Cyfra 21-1 als prognostischer Tumormarker zum Krankheitsverlauf von 50 Patienten der Marburger Universitäts-HNO-Klinik mit einem histologisch gesicherten Plattenepithelkarzinom des Oropharynx überprüft. Im Einzelnen sollte hinterfragt werden, ob sich zum Diagnosezeitpunkt eine Abhängigkeit von der Größe des Primärtumors, dem Ausmaß der lymphogenen Metastasierung und dem histologischen Tumorgrading mit der Konzentration von Cyfra 21-1 identifizieren lässt. Weiterhin war von Interesse, ob sich Aussagen zur Spezifität und Sensitivität von Cyfra 21-1 als Follow-up-Marker für Plattenepithelkarzinome des Oropharynx bei Lokalrezidiv und Fernmetastasierung treffen lassen. In eingehenden Vorarbeiten wurde der Cut-off-Wert von Cyfra 21-1 bereits auf 3,3 ng/ml festgelegt.

Hinsichtlich des Zusammenhanges der im Serum gemessenen Konzentrationen von Cyfra 21-1 und der Tumorgröße ließ sich keine signifikante Korrelation zum Zeitpunkt der Diagnose (Jonckheere-Terpstra-Test p=0,498) feststellen. Bezüglich der Verteilung der Tumoren nach der Tumorgröße handelt es sich prätherapeutisch bei der Stichprobe am häufigsten um Tumore des Stadiums T2 (34%), gefolgt von T4 (32%), T3 (24%) und T1 (16%). Bei den T3- und T4-Tumoren lag der Medianwert der Konzentration von Cyfra 21-1 bei 1,40ng/ml, während dieser bei den T2- undT1-Tumoren bei 1,10ng/ml zu ermitteln war. Bezogen auf die Identifizierung von Zusammenhängen zwischen Konzentrationen von Cyfra 21-1 und dem Ausmaß der lymphogenen Metastasierung zum Zeitpunkt der Diagnose konnte in der vorliegenden

Untersuchung kein signifikantes Ergebnis ermittelt werden (Jonckheere-Terpstra-Test p=0,727). Zum Zeitpunkt der Diagnosesicherung wiesen bereits 38 der 50 Patienten regionale Lymphknotenmetastasen auf. Beim Lymphknotenstatus N2a lag der Medianwert mit 2,70ng/ml am höchsten, was am ehesten mit der geringen Fallzahl in dieser Gruppe zu erklären ist. Bei ausgeprägter Lymphknotenmetastasierung lag der Median bei N2b = 1,10; N2c = 1,60 und N3 = 1,21 ng/ml. In Anbetracht des Tumorgradings gemäß der TNM-Klassifikation der WHO (64) zum Zeitpunkt der Diagnosesicherung konnte ebenfalls kein Zusammenhang zwischen der Konzentration von Cyfra 21-1 und dem histologischen Tumorgrading festgestellt werden (Jonckheere-Terpstra-Test p=0,354). Aus der Grundgesamtheit wurde bei 83% der Patienten ein mäßig differenziertes Karzinom (G2) klassifiziert. Bei 8% der Patienten konnte ein gut differenziertes Karzinom (G1) diagnostiziert werden, während bei den restlichen Patienten ein gering differenziertes Karzinom festgestellt wurde. Weiterhin lieferten die Ergebnisse keinen Anhalt für die Annahme, dass die Entdifferenzierung des malignen Plattenepithelgewebes sich in Cyfra-21-1-Konzentrationen wiederspiegeln könnte. Anschließend wurde in der vorliegenden Arbeit die Zuverlässigkeit des klinischen Einsatzes von Cyfra 21-1 als früher Indikator im Falle einer Fernmetastasierung und eines Lokalrezidives in der klinischen Follow-up-Phase bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereiches untersucht. Von den insgesamt 50 Patienten waren nach einem Jahr bei 20 Patienten (40%) nachweisbare Metastasen oder Tumorrezidive aufgetreten. Bei dieser Subgruppe konnte bei 9 Patienten eine Konzentration des Cyfra 21-1 ≥ 3,3ng/ml ermittelt werden. Bei den restlichen 30 Patienten (60%) konnte eine komplette Remission verzeichnet werden. Innerhalb dieser Gruppe wurde bei 28/30 Patienten eine Konzentration des Cyfra 21-1 von ≤ 3,3ng/ml beobachtet. In der Follow-up-Untersuchung zur Detektion von Fernmetastasen und Tumorrezidiven konnte eine Sensitivität von 45% bei einem Cut-off-Wert von 3,3ng/ml ermittelt werden, während die Spezifität bei 92% lag.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Erhebung der Cyfra 21-1-Konzentration im Serum wertvolle Hinweise vor allem hinsichtlich des Vorlegens von Fernmetastasen und Kontrolle des Therapieerfolges sowie des individuellen Krankheitsverlaufes geben kann. Die Resultate der vorliegenden Untersuchung zeigen, dass zum Zeitpunkt der Diagnosestellung keine eindeutige Korrelation zwischen dem Ausmaß der cervikalen Lymphknotenmetastasen, der Tumorgröße bzw. dem Tumorstadium sowie dem histologischen Tumorgrading und der Konzentration von

Cyfra 21-1 festzustellen ist. Prospektive Untersuchungen sollen die Wertigkeit des Cyfra 21-1 als Marker früher pulmonaler Metastasen bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen auch auf die statistische Signifikanz überprüfen.

7 Englische Zusammenfassung

Introduction: Head and Neck squamous cell carcinomas („HNSCCs“) are the sixth most common cancer in the world. Head and neck squamous cell carcinoma are rapidly proliferating tumors. Following the treatment of early stage disease, the most frequent disease related event is the development of a second primary tumor. The aim of this study was to evaluate the importance of Cyfra 21-1 at the time of initial diagnosis and its potential as a Follow up Tumor Marker in case of local recurrences and distant metastases in Patients with oropharyngeal squamous cell carcinomas.

Methods: Cyfra 21-1 serum level of 50 patients with oropharyngeal SCC were evaluated by ECLIA assay. These patients had serial measurements of Cyfra 21-1 during their clinical course, so the serum level of Cyfra 21-1 was evaluated at the time of the primary diagnosis, post-therapy (6-8 weeks after primary therapy) and follow-up (one year after primary diagnosis) as well as further follow up. Cyfra 21-1 levels were correlated to the clinical course of the patients.

Results: Using the Jonckheere-Terpstra test, no significant correlation exist between the serum concentration of Cyfra 21-1 at time of initial diagnosis, with the clinic-pathological parameters (tumor-size (p=0,498), lymph-node-metastases (p=0,727), and histological grade (p=0.354), nor with the clinical tumor-stage (p=0,307). The clinical performance of Cyfra 21-1 as a tumor marker for follow-up of patients for a range of decision levels to separate those patients with local residual disease, recurrence and/or distant metastasis from those patients without this condition was good. This is shown by the sensitivity and specificity of Cyfra 21-1 at a cut-off 3.3ng/ml were 45% and 93.3% respectively.

Conclusion: Cyfra 21-1 serum concentration is not a suitable tumor marker for early diagnosis of squamous cell carcinoma of the oropharynx and there are no significant correlation between its serum level at the time of initial diagnosis and the clinicopathological parameters. An abrupt increase of Cyfra 21-1 in serial measurements during follow-up, indicate impending disease progression or distant metastases in the individual patient.

8 Literaturverzeichnis

1 Ambrosch P, Kron M, Pradier O, Steiner W. Efficacy of selective neck dissection: a review of 503 cases of elective and therapeutic treatment of the neck in squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract. Otolaryngol Head Neck Surg 2001; 124:180-7.

2 Baatenburg de Jong RJ, Rongen RJ, Laméris JS, Harthoorn M, Verwoerd CD, Knegt P. Metastatic neck disease. Palpation vs. ultrasound examination. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1989; 115:689-90.

3 Banal A, Hacene K, Berthelot-Ruff E, Mahé E, Fontana X, Pichon MF. Comparison of Cyfra 21-1 and SCC assays in head and neck tumours. Tumour Biol 2001; 22:27-35.

4 Black RJ, Bray F, Ferlay J, Parkin DM. Cancer incidence and mortality in the European Union: cancer registry data and estimates of national incidence for 1990. Eur J Cancer 1997; 33:1075-107.

5 Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol 2002; 55:244-65.

6 Büntzel J, Hornig A, Glatzel M, Micke O, Bruns F, Schäfer U, Fröhlich D. Tumor markers and lymphatic metastasis in head and neck cancer patients. Anticancer Res 2005; 25:1539-42.

7 Céruse P, Rabilloud M, Charrié A, Dubreuil C, Disant F. Study of cyfra 21-1, a tumor marker, in head and neck squamous cell carcinoma. Ann Otol Rhinol Laryngol 2005; 114:768-76.

8 Clasen B, Péré P, Senekowitsch R, Menz E. Squamous cell carcinoma-associated antigen (SCC) as a tumor marker in the initial diagnosis of carcinomas of the head and neck region. Results of a prospective study after 24 months. Laryngorhinootologie 1990; 69:275-80.

9 Deng YF, Chen P, Lin YZ, Le JZ, Wu XL, Yu MQ, Zhuang PY, Gao MH. Analytical and clinical evaluation of CYFRA 21-1 by electrochemiluminescent immunoassay in head and neck squamous cell carcinoma. J Laryngol Otol 2003; 117:190-4.

10 Döbrossy L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the problem. Cancer Metastasis Rev 2005 Jan; 24:9-17.

11 Doweck I, Barak M, Uri N, Greenberg E. The prognostic value of the tumour marker Cyfra 21-1 in carcinoma of head and neck and its role in early detection of recurrent disease. Br J Cancer 2000; 83:1696-701.

12 D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. N Engl J Med 2007; 356:1944-56.

13 Duenne AA, Barth PJ, Budach V, Werner JA. Neck-Dissection nach Radiochemotherapie bei Kopf-Hals-Karzinomen. Der Onkologe 2007; Volume 13, Number 2:129-138.

14 Fuchs E. Keratins and the skin. Annu. Rev. Cell Dev. BioL 1995; 11:123-53.

15 Gadducci A, Tana R, Cosio S, Genazzani AR. The serum assay of tumour markers in the prognostic evaluation, treatment monitoring and follow-up of patients with cervical cancer: a review of the literature. Crit Rev Oncol Hematol 2008; 66:10-20.

16 Hoffmann-Fazel A, Hoffmann M, Gottschlich S, Maass JD, Rudert H, Maune S. Cyfra 21-1 in diagnosis of distant metastases of head and neck carcinoma. Anticancer Res 2003; 23:917-20.

17 Hörmann K. Neoadjuvante Therapiekonzepte: neoadjuvante Chemotherapie beim Oropharynxkarzinom. Onkologie 19 1996; 81-93.

18 Hosal AS, Carrau RL, Johnson JT, Myers EN. Selective neck dissection in the management of the clinically node-negative neck. Laryngoscope 2000; 110:2037-40.

19 http://cms.uni-kassel.de/unicms/index.php?id=61, Universität Kassel Fachbereich Mathematik. Unter: http://www.mathematik.uni-kassel.de /stochastik. schule /sisonline/struktur/jahrgang17-97/heft1/1997-1_Ka_Pe .pdf. Eingesehen am: 15.02.2009.

20 http://www.ams.med.uni-goettingen.de/de/for/diplom/Piske.pdf, Universitäts-medizin Göttingen. http://www.ams.med.uni-goettingen.de/de/for/diplom/ Piske.pdf. Eingesehen am: 15.02.2009.

21 http://www.ekr.med.uni-erlangen.de, Bevölkerungsbezogenes Krebsregister Bayern.
Unter: http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Doc/kid2008.pdf. Eine gemeinsame Veröffentlichung des Robert Koch-Instituts und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. Krebs in Deutschland 2003 – 2004 Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage, 2008. Eingesehen am: 15.02.2009.

22 Katopodis N, Hirshaut Y, Geller NL, Stock CC. Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer, Cancer Res 1982; 42:5270-5.

23 Kurokawa H, Yamashita Y, Tokudome S, Kajiyama M. Combination assay for tumor markers in oral squamous cell carcinoma. J Oral Maxillofac Surg 1997; 55:964-6.

24 Kuropkat C, Lippert BM, Werner JA. Follow-up with serum Cyfra 21-1 in patients with squamous cell carcinomas of the head and neck. Oncology 2002; 63:280-5.

25 Kuropkat C, Werner JA. Analytical and clinical evaluation of CYFRA 21-1 by electrochemiluminescent immunoassay in head and neck squamous cell carcinoma. J Laryngol Otol 2003; 117:1007-8.

26 Lin DT, Cohen SM, Coppit GL, Burkey BB. Squamous cell carcinoma of the oropharynx and hypopharynx. Otolaryngol Clin North Am 2005; 38:59-74.

27 Maass JD, Hoffmann-Fazel A, Goeroegh T, Hoffmann M, Meyer JE, Gottschlich S, Rudert H, Maune S. Cyfra 21-1: a serological help for detection of distant metastases in head and neck cancer. Anticancer Res 2000; 20:2241-3.

28 McLaughlin MP, Mendenhall WM, Mancuso AA, Parsons JT, McCarty PJ, Cassisi NJ, Stringer SP, Tart RP, Mukherji SK, Million RR. Retropharyngeal adenopathy as a predictor of outcome in squamous cell carcinoma of the head and neck. Head Neck 1995; 17:190-8.

29 Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. Subcell Biochem 1998; 31:205-62.

30 Moll R. Cytokeratins in the histological diagnosis of malignant tumors. Int J Biol Markers 1994; 9:63-9.

31 Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation. Expression profiles in epithelia and epithelial tumors. Veroff Pathol 1993; 142:1-197.

32 Nibu KI, Yanagisawa A, Nakamizo M, Hoki K, Nigauri T, Kawabata K, Kamata SE. Clinical role of p53 and p21WAF1/CIP1 in squamous cell carcinoma of the pyriform sinus. Acta Otolaryngol 1998; 118:432-7.

33 Niemann AM. Cytokeratin 19 und dessen serumlösliche Fragmente : Untersuchungen zur Anwendbarkeit von CYFRA 21-1 bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der oberen Luft- und Speisewege 1996; Kiel, Univ., Dissertation.

34 Pujol JL, Boher JM, Grenier J, Quantin X. Cyfra 21-1, neuron specific enolase and prognosis of non-small cell lung cancer: prospective study in 621 patients. Lung Cancer 2001; 31:221-31.

35 Pujol JL, Grenier J, Daurès JP, Daver A, Pujol H, Michel FB. Serum fragment of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. Cancer Res 1993; 53:61-6.

36 Pujol JL, Grenier J, Parrat E, Lehmann M, Lafontaine T, Quantin X, Michel FB. Cytokeratins as serum markers in lung cancer: a comparison of CYFRA 21-1 and TPS. Am J Respir Crit Care Med 1996; 154:725-33.

37 Rege S, Maass A, Chaiken L, Hoh CK, Choi Y, Lufkin R, Anzai Y, Juillard G, Maddahi J, Phelps ME. Use of positron emission tomography with fluorodeoxyglucose in patients with extracranial head and neck cancers. Cancer 1994; 73:3047-58.

38 Reuther T, Posselt NK, Rabbels J, Kübler AC. Plattenepithelkarzinom der Mundhöhle. Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie 2006; Volume 10, Number 1.

39 Rödel R, Straehler-Pohl HJ, Palmedo H, Reichmann K, Jaeger U, Reinhardt MJ, Biersack HJ. PET-CT-Bildgebung bei Kopf-Hals-Tumoren. Der Radiologe 2004; Volume 44, Number 11:1055-1059.

40 Ropka ME, Goodwin WJ, Levine PA, Sasaki CT, Kirchner JC, Cantrell RW. Effective head and neck tumor markers. The continuing quest. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1991; 117:1011-4.

41 Rosati G, Riccardi F, Tucci A. Use of tumor markers in the management of head and neck cancer. Int J Biol Markers 2000; 15:179-83.

42 Rosenquist K, Wennerberg J, Annertz K, Schildt EB, Hansson BG, Bladström A, Andersson G. Recurrence in patients with oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: human papillomavirus and other risk factors. Acta Otolaryngol 2007; 127:980-7.

43 Rudert H. Maligne Tumoren der Lippen, der Mundhöhle und des Oropharynx. In: Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis. Band 2. Naumann HH, Helms J., Herberhold C, Kastenbauer E (Hrsg). Thieme, Stuttgart; (1992) Seite 648-68.

44 Russell NS, Bartelink H, Snow GB. Head and neck cancer. N Engl J Med 1993; 328:1783-4.

45 Sawant SS, Zingde SM, Vaidya MM. Cytokeratin fragments in the serum: their utility for the management of oral cancer. Oral Oncol 2008; 44:722-32.

46 Schuller DE, McGuirt WF, McCabe BF, Young D. The prognostic significance of metastatic cervical lymph nodes. Laryngoscope 1980; 90:557-70.

47 Sesterhenn AM, Muller HH, Wiegand S, Teymoortash A, Folz BJ, Werner JA. Cancer of the oro- and hypopharynx - when to expect recurrences? Acta Otolaryngol 2008; 128:925-9.

48 Shah JP. Head and Neck Surgery and Oncology. Mosby; 3 edition (2003) Seite 175.

49 Silverman NA, Alexander JC Jr, Chretien PB. CEA levels in head and neck cancer. Cancer 1976; 37:2204-11.

50 Snow GB, Annyas AA, van Slooten EA, Bartelink H, Hart AA. Prognostic factors of neck node metastasis. Clin Otolaryngol Allied Sci 1982; 7:185-92.

51 Stern WB, Silver CE, Zeifer BA, Persky MS, Heller KS. Computed tomography of the clinically negative neck. Head Neck 1990; 12:109-13.

52 Stieber P, Bodenmüller H, Banauch D, Hasholzner U, Dessauer A, Ofenloch-Hähnle B, Jaworek D, Fateh-Moghadam A. Cytokeratin 19

fragments: a new marker for non-small-cell lung cancer. Clin Biochem 1993; 26:301-4.

53 Stieber P, Schmeller N, Schambeck C, Hofmann K, Reiter W, Hasholzner U, Fateh-Moghadam A. Clinical relevance of CYFRA 21-1, TPA-IRMA and TPA-LIA-mat in urinary bladder cancer. Anticancer Res 1996; 16:3793-8.

54 Strutz J, Mann W. Praxis der HNO-Heilkunde, Kopf- und Halschirurgie. Thieme, Stuttgart; (2001) Seite 425.

55 Thiel HJ, Rettinger G. Der heutige Stand in der Erkennung und Behandlung maligner Nasen- Und Nasennebehöhlen-Tumoren. I: Pathologie, Diagnostik und Stadieneinteilung der Nasen- und Nebenhöhlentumoren. II: Therapie und Behandlungsergebnisse. HNO. Hals-, Nasen-,Ohrenärzte 1986; Volume 34, Number 3:91-107.

56 Tom Fawcett. ROC Graphs: Notes and Practical Considerations for Data Mining Researchers. MS 1143 HP Laboratories 2003; 1501 Page Mill Road.

57 Tsuchiya Y, Onda M, Miyashita M, Sasajima K. Serum level of cytokeratin 19 fragment (CYFRA 21-1) indicates tumour stage and prognosis of squamous cell carcinoma of the oesophagus. Med Oncol 1999; 16:31-7.

58 van den Brekel MW, Castelijns JA, Stel HV, Golding RP, Meyer CJ, Snow GB. Modern imaging techniques and ultrasound-guided aspiration cytology for the assessment of neck node metastases: a prospective comparative study. Eur Arch Otorhinolaryngol 1993; 250:11-7.

59 Walther EK, Dahlmann N, Gorgulla HT. Tumor markers in patients with head-neck carcinomas. Laryngorhinootologie 1990; 69:271-4.

60 Weiß C. Basiswissen Medizinische Statistik. Springer, Berlin; 2. Auflage (2007) Seite 284.

61 Wentzensen N, Knebel Doeberitz M. Virale Kanzerogenese von Kopf-Hals-Tumoren. Der Pathologe 2004; Volume 25, Number 1:21-30.

62 Werner JA. Aktueller Stand der Versorgung des Lymphabflusses maligner Kopf-Hals-Tumoren. Eur Arch ORL 1998: 1–85.

63 Werner JA. Lymphknotenerkrankungen im Kopf-Hals-Bereich. Springer, Berlin; 1. Auflage (2002).

64 Wittekind C. Prinzipien der Tumorklassifikation und Prognosefaktoren. Springer Berlin Heidelberg 2006; 2. Auflage:21-34.

65 Wollenberg B, Jan V, Schmit UM, Hofmann K, Stieber P, Fateh-Moghadam A. CYFRA 21-1 is not superior to SCC antigen and CEA in head and neck squamous cell cancer. Anticancer Res 1996; 16:3117-24.

66 Wollenberg B, Zimmermann F. Tumoren der Mundhöhle und Lippen. Manual: Kopf-Hals-Malignome. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. 2003; 3. Auflage: 179-186.

67 Zhong LP, Zhu HG, Zhang CP, Chen WT, Zhang ZY. Detection of serum Cyfra 21-1 in patients with primary oral squamous cell carcinoma. Int J Oral Maxillofac Surg 2007; 36:230-4.

9 Lebenslauf

Khaled Alkotyfan

Geboren:	Am 17.08.1979 in Deraa/Syrien

Schulbildung:

1985-1995	Grundschule und Mittelschule an der Ibtaa-Schule in Deraa/Syrien
1995-1998	Gymnasium mit Hochschulzulassung in Deraa/Syrien

Berufliche Ausbildung:

2000-2007	Studium der Humanmedizin an der Philipps-Universität Marburg
2002	Ärztliche Vorprüfung
2003	Ärztlicher Abschnitt der ärztlichen Prüfung
2005	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
2006-2007	Praktisches Jahr am Klinikum der Universitätklinik Gießen und Marburg GmbH, Standort Marburg
	1.Tertial Chirurgie
	2. Wahltertial HNO
	3. Tertial Innere Medizin
2007	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Seit 07/2007	Assistenzarzt an der Klinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde der Philipps-Universität Marburg

10 Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel Cyfra 21-1 als Follow-up-Tumormarker bei Patientene mit Plattenepithelkarzinom des Oropharynx in der Klinik für Hals-Nasen- und Ohrenheilkunde unter Leitung von Hr. Prof. J.A. Werner mit Unterstützung durch ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Marburg, den 17.04.2009

11 Akademische Lehrer

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren

Univ.-Prof. Dr. med. Aumüller
Univ.-Prof. Dr. med. Barth
Univ.-Prof. Dr. med. Basler
Univ.-Prof. Dr. med. Czubayko
Univ.-Prof. Dr. med. Daut
Univ.-Prof. Dr. med. Geuß
Univ.-Prof. Dr. med. Görg
Univ.-Prof. Dr. med. Grimm
Univ.-Prof. Dr. med. Kern
Univ.-Prof. Dr. med. Klose
Univ.-Prof. Dr. med. Koolmann
Univ.-Prof. Dr. med. Lang
Univ.-Prof. Dr. med. Lohoff
Univ.-Prof. Dr. med. Maisch
Univ.-Prof. Dr. med. Moll
Univ.-Prof. Dr. med. Moosdorf
Univ.-Prof. Dr. med. Neubauer
Univ.-Prof. Dr. med. Neumüller
Univ.-Prof. Dr. med. Oertel
Univ.-Prof. Dr. med. Remschmidt
Univ.-Prof. Dr. med. Richter
Univ.-Prof. Dr. med. Röhm
Univ.-Prof. Dr. med. Gotzen
Priv.-Doz. Dr. med. Sesterhenn
Univ.-Prof. Dr. med. Steiniger
Univ.-Prof. Dr. med. Vogelmayer
Univ.-Prof. Dr. med. Werner
Univ.-Prof. Dr. med. Wulff

12 Danksagung

Für meine Doktorarbeit schulde ich sehr vielen Menschen einen herzlichen Dank. Besonders danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. J. A. Werner für die Idee zu dieser Arbeit sowie seine Ermöglichung und für die bisherige Unterstützung, Motivation und Förderung während meiner Ausbildung.

Für die intensive Hilfestellung bei der Verwirklichung, seine Hilfsbereitschaft und hervorragende Betreuung bin ich meinem Oberärzt Herr PD. Dr. Sesterhenn zu großem Dank verpflichtet. Er brachte mir sehr viel Geduld entgegen und sorgte mit wertvollen Ratschlägen für das Gelingen dieser Arbeit.

Ein großer Dank geht aber auch an meine Kollegen, die mir tatkräftig zur Seite gestanden haben.

Von Herzen danke ich meinen liebvollen Eltern, meinem Freund Sayed für die tatkräftige Einsetzte und die sehr hilfsreichen Unterstützungen, meiner Partnerin Thuridur, die mich stets aufbaute und mich verstärkt hat und dass es sie in meinem Leben gibt.