

Aus dem Pathologischen Institut  
Institut der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Frederick Klauschen

**Etablierung und Überprüfung eines Biomarkerpanels zum besseren  
Karzinogeneseverständnis, sichereren Diagnostik und möglichen  
Graduierung der muzinösen Ovarialtumoren: Immunhistochemische  
Untersuchungen mit Korrelation zu klinischen, pathologischen und  
Überlebensdaten**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von Eva-Maria Holley  
aus München

2023

Mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatterin: Prof. Dr. Doris Mayr  
Mitberichterstatter/-innen: Priv. Doz. Dr. Bastian Czogalla  
Priv. Doz. Dr. Markus Pfirrmann  
Mitbetreuung durch die  
promovierte Mitarbeiterin: PD. Dr. Elisa Schmoeckel  
Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann  
Tag der mündlichen Prüfung: 11.05.2023

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1</b>	<b>Ovarialkarzinom</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1.1</b>	<b>Epidemiologie</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Übersicht Ovarialtumoren</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1.3</b>	<b>Muzinöse Neoplasien</b> .....	<b>7</b>
<b>1.1.4</b>	<b>Seromuzinöse Neoplasien</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1.5</b>	<b>Ovarielle Metastasen muzinöser Karzinome</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1.6</b>	<b>Pathologie</b> .....	<b>15</b>
<b>1.1.7</b>	<b>Ätiologie</b> .....	<b>19</b>
<b>1.1.8</b>	<b>Klinik</b> .....	<b>21</b>
<b>1.2</b>	<b>Untersuchte immunhistochemische Färbungen</b> .....	<b>24</b>
<b>1.2.1</b>	<b>Etablierte immunhistochemische Färbungen: CK7, CK20, PAX8, CDX2, ER, PR, SATB2</b> .....	<b>24</b>
<b>1.2.2</b>	<b>Neuere Immunhistochemische Marker: REG4, MUC1 und MUC5AC</b> .....	<b>29</b>
<b>2</b>	<b>Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit</b> .....	<b>32</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>33</b>
<b>3.1</b>	<b>Patientenkollektiv</b> .....	<b>33</b>
<b>3.2</b>	<b>Untersuchungsmaterial</b> .....	<b>36</b>
<b>3.3</b>	<b>Geräte, Materialien, Chemikalien</b> .....	<b>37</b>
<b>3.3.1</b>	<b>Geräte</b> .....	<b>37</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Materialien</b> .....	<b>38</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Chemikalien</b> .....	<b>38</b>
<b>3.4</b>	<b>Immunhistochemie</b> .....	<b>39</b>
<b>3.4.1</b>	<b>Grundlagen</b> .....	<b>39</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Immunhistochemische Färbung</b> .....	<b>40</b>
<b>3.5</b>	<b>Mikroskopische Auswertung</b> .....	<b>43</b>
<b>3.5.1</b>	<b>Immunreaktiver Score (IRS)</b> .....	<b>43</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Auswertung</b> .....	<b>43</b>
<b>3.6</b>	<b>Statistische Analyse</b> .....	<b>44</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>46</b>
<b>4.1</b>	<b>Deskriptive Statistik</b> .....	<b>46</b>
<b>4.1.1</b>	<b>Ergebnisse der Färbungen</b> .....	<b>46</b>
<b>4.1.2</b>	<b>Nachträgliche Untersuchung auf seromuzinöse Differenzierung</b> .....	<b>48</b>
<b>4.2</b>	<b>Re-Evaluation Diagnosen</b> .....	<b>50</b>
<b>4.3</b>	<b>Weitere Untersuchungen am reevaluierten Kollektiv</b> .....	<b>52</b>

4.3.1	Erhebung Wachstumsmuster .....	52
4.3.2	Gegenüberstellung der immunreaktiven Scores von muzinösen Ovarial- und Dickdarmkarzinomen .....	53
4.4	Induktive Statistik.....	54
4.4.1	Differentialdiagnostik muzinöser Ovarial- und Dickdarmkarzinome .....	54
4.4.2	Untersuchungen zur Graduierung von muzinösen Ovarialkarzinomen .....	56
4.4.3	Statistische Untersuchungen bezüglich der Karzinogenese.....	65
5	Diskussion .....	70
5.1	Re-Evaluation Diagnosen .....	70
5.2	Differentialdiagnostik von primär muzinösen Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen .....	72
5.2.1	Unterscheidung mittels immunhistochemischer Färbungen.....	72
5.2.2	Spezifität der immunhistochemischen Färbungen bezüglich des Karzinomursprungs.....	74
5.2.3	Immunhistochemisches Panel zur besseren Differentialdiagnostik.....	75
5.3	Graduierung.....	76
5.3.1	Konventionelle Graduierung nach Regeln für Endometriumkarzinome .....	76
5.3.2	Eignung signifikanter Faktoren ER $\alpha$ , PAX8, Wachstumsmuster und CK20 für die Entwicklung eines Gradierungssystems.....	77
5.3.3	Überlegungen für ein zweistufiges Gradierungssystem .....	80
5.4	Pathogenese/Karzinogenese.....	81
5.4.1	Spiegeln immunhistochemische Reaktionen die Progression einer muzinösen ovariellen Neoplasie wider?.....	81
5.4.2	Welche diagnostische Relevanz haben diese Ergebnisse?.....	84
6	Zusammenfassung .....	85
7	Anhang.....	89
7.1	Verzeichnisse .....	89
7.1.1	Abkürzungsverzeichnis .....	89
7.1.2	Literaturverzeichnis .....	90
7.1.3	Abbildungsverzeichnis.....	97
7.1.4	Tabellenverzeichnis .....	98
7.2	Danksagung.....	100
7.3	Eidesstattliche Versicherung .....	101

## 1 Einleitung

Am 24. Dezember 1809 führte Dr. Ephraim McDowell die erste erfolgreiche Exstirpation eines Ovarialtumors in Danville, Kentucky ohne Anästhesie durch. Der Tumor war riesig, zystisch aufgebaut und mit Schleim gefüllt. Die Patientin überstand die Operation ohne Komplikationen und lebte danach noch 32 Jahre, bis sie im Alter von 78 Jahren starb [1]. Aufgrund der Größe des Tumors, des zystischen Aufbaus, der Schleimmassen und dem langen Überleben der Patientin wird vermutet, dass es sich um ein benignes Zystadenom oder um einen potentiell malignen Borderlinetumor vom muzinösen, also verschleimenden Subtyp handelte [2].

Hermann Pfannenstiel gelang es Ende des 19. Jahrhunderts erstmals, muzinöse von serösen Tumoren anhand des Epithels zu unterscheiden. Auch die Abgrenzung zwischen Borderlinetumoren und Ovarialkarzinomen wurde erstmals von Pfannenstiel definiert [3].

Obwohl die Untergruppe der muzinösen Ovarialtumoren schon lange bekannt ist, gibt es hier immer noch Forschungsbedarf:

So ist in der pathologischen Diagnostik eine korrekte Abgrenzung zwischen primären muzinösen Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen, welche beispielsweise aus dem Gastrointestinaltrakt stammen können, oftmals noch problematisch. Die richtige Differentialdiagnostik ist jedoch eine essenzielle Voraussetzung für eine korrekte Behandlung der betroffenen Patientinnen.

Für muzinöse Ovarialkarzinome gibt es bis heute kein einheitliches Graduierungssystem. Die Graduierung, auch Grading genannt, ist eine Einteilung, die den Grad der histologischen Abweichung des Tumorgewebes vom physiologischen Gewebe beschreibt und welche unter anderem bei der Abwägung von Therapiemöglichkeiten hilfreich sein kann (siehe Kapitel 1.1.6.3) [4].

Auch eine genauere Kenntnis der Mechanismen, die zu einer Tumorentstehung und -progression beitragen, ist essenziell. Diese Erkenntnisse können wichtige Ansatzpunkte für neue Therapiemöglichkeiten darstellen.

## **1.1 Ovarialkarzinom**

### **1.1.1 Epidemiologie**

An einem Ovarialkarzinom (ICD-10-Code C56) erkrankten in Deutschland im Jahr 2016 insgesamt 7350 Frauen. Beim weiblichen Geschlecht stellen Ovarialkarzinome 3,1% aller malignen Neubildungen dar und sind ursächlich für 5,2% aller Krebstodesfälle. Somit ist das Ovarialkarzinom nach dem Mammakarzinom für Frauen die häufigste tödliche gynäkologische Krebserkrankung [5, 6]. Muzinöse Ovarialkarzinome stellen laut aktueller Studien etwa 3-4% aller Ovarialkarzinome dar [7-10].

Bis zum 85. Lebensjahr steigen die Erkrankungsraten an Ovarialkarzinomen an, das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt bei 70 Jahren. Von 72 Frauen erkrankt in ihrem Leben eine Frau an Eierstockkrebs [6].

Die Diagnose wird in 75% der Fälle erst in einem späten Stadium gestellt. Die Prognose der Ovarialkarzinome ist trotz der umfangreichen operativen und medikamentösen Therapiemöglichkeiten im Vergleich zu anderen genitalen Krebserkrankungen ungünstig. Die relative 5-Jahres-Überlebensrate liegt momentan bei 43%. Auch umfangreiche Früherkennungsmaßnahmen konnten bis zum heutigen Zeitpunkt die Mortalität nicht beeinflussen [5, 6].

### **1.1.2 Übersicht Ovarialtumoren**

Man unterscheidet epitheliale Ovarialtumoren, welche ungefähr 60% aller Ovarialtumoren und bei Frauen über 40 Jahren insgesamt 90% aller Ovarialkarzinome ausmachen von Keimzelltumoren, Keimstrang-Stromatumoren, mesenchymalen Tumoren, gemischten Tumoren und Metastasen. Die Metastasen im Ovar stammen meist von Karzinomen des Gastrointestinaltrakts, seltener von Karzinomen des pankreatikobiliären Systems, Mammakarzinomen, Endometriumkarzinomen oder Zervixkarzinomen. Die epithelialen Tumoren lassen sich unterteilen in Zystadenome, Adenome, Borderlinetumoren und Karzinome, welche muzinös, low-grade serös, high-grade serös oder endometrioid differenziert sein können. Wesentlich seltener auftretende epitheliale Tumoren sind beispielsweise das klarzellige Karzinom oder das undifferenzierte Karzinom [10].

Ferner können die Tumoren des Ovars, der Tube und des Peritoneums in Typ I- (umfassen 25% der Ovarialkarzinome) und Typ II-Tumoren (umfassen die restlichen

75% der Ovarialkarzinome) eingeteilt werden. Typ I-Tumoren sind oft auf das Ovar begrenzt. Sie umfassen low-grade seröse Karzinome, muzinöse Karzinome, endometrioidale Karzinome, klarzellige Karzinome und maligne Brenntumoren. Typ II-Tumoren dagegen sind hochmaligne Tumoren, welche aggressiv und schnell wachsen. Zu den Typ II-Tumoren werden high-grade seröse Karzinome, Karzinosarkome sowie alle gemischten Karzinome gezählt. Oft werden sie in einem späten Stadium diagnostiziert und verursachen 90% der Todesfälle bei Ovarialkarzinomen [10-14].

### **1.1.3 Muzinöse Neoplasien**

#### *1.1.3.1 Muzinöse Zystadenome (ICD-O: 8470/0)*

Bei muzinösen Zystadenomen handelt es sich um benigne, zystische Tumoren. Sie stellen 80% aller muzinösen Ovarialtumoren dar. Durchschnittlich treten sie im Alter von 50 Jahren auf. Häufige Symptome sind Bauchschmerzen und eine Vergrößerung des Bauchumfangs, selten kommt es durch Luteinisierung von Stromazellen zu erhöhten Östrogen- oder Androgenspiegeln.

Muzinöse Zystadenome weisen im Durchschnitt einen Durchmesser von 10 cm auf, können aber einen Durchmesser von mehr als 30 cm erreichen. Zu 95% sind sie unilateral und meist multizystisch aufgebaut mit vielen glattwandigen Zysten unterschiedlicher Größe sowie zahlreichen Drüsen.

Muzinöse Zystadenome werden ausgekleidet von einreihigem, hochprismatischem, schleimbildendem Epithel. Dieses Epithel vom gastrischen, foveolären oder intestinale Typ enthält Becherzellen, teils auch neuroendokrine Zellen oder Paneth-Zellen [10].

Ungefähr 10 % aller muzinösen Zystadenome sind entweder mit einer Dermoidzyste oder einem Brenntumor vergesellschaftet. Die Assoziation zu Dermoidzysten weist darauf hin, dass einige muzinöse Zystadenome ursprünglich aus dem Keimzellgewebe stammen. Die Assoziation zu Brenntumoren dagegen deutet auf eine Abstammung des Oberflächenepithels aus dem Zölomepithel hin.

Generell ist der Verlauf gutartig, das muzinöse Zystadenom kann jedoch nach einer Zystenausschälung rezidivieren [10].

#### *1.1.3.2 Muzinöse Borderlinetumoren (ICD-O: 8472/1)*

Als Borderlinetumor oder atypisch proliferierender Tumor bezeichnet man nicht invasiv wachsende Neoplasien mit moderat atypischem, schleimbildendem Epithel vom

gastrointestinalen Typ. Es zeigt sich eine atypische Proliferation von mindestens 10% des Gesamtepithels.

Muzinöse Borderlinetumoren des Ovars treten durchschnittlich im 40. bis 49. Lebensjahr auf. Insgesamt stellen sie mit 40-45% den zweithäufigsten Typ der Borderlinetumoren in Nordamerika und Europa dar, in Asien mit ungefähr 70% den Häufigsten.

Muzinöse Borderlinetumoren treten in der Regel unilateral und sind auf das Ovar beschränkt. Bilaterale Borderlinetumoren sind hingegen verdächtig auf ein metastasiertes Karzinom.

Die Tumoren erreichen durchschnittlich einen Durchmesser von 21,5 cm. Sie haben eine glatte Oberfläche und bestehen aus unterschiedlich großen Zysten, welche schleimiges Material aber auch feste Bereiche enthalten können. Diese Zysten sind mit gastrointestinalem Epithel ausgekleidet: durch gastrisches Epithel vom pylorischen Typ, Becherzellen, neuroendokrinen Zellen und gelegentlich Paneth-Zellen. Das Epithel zeigt dabei eine unterschiedliche Schichtung/ Stratifizierung. Die einzelnen Zellen zeigen eine mäßige Zellkernvergrößerung, Hyperchromasie und Mitosen. Zu hochgradigen nukleären Veränderungen kommt es dabei nicht.

Der muzinöse Borderlinetumor scheint aus muzinösen Zystadenomen hervorzugehen [10]. Bei muzinösen Borderlinetumoren liegt seltenen Fälle ein Pseudomyxoma ovarii mit extrazellulären Schleimseen im Gewebe vor. Aufgrund von extrazellulärem Schleim infolge von Drüsenrupturen kommt es zu einer granulomatösen Gewebsreaktion.

Wenn muzinöse Borderlinetumoren Herde mit schwerer Zellatypie aufweisen, die auf das Epithel begrenzt ist, ordnet man den Tumor als muzinösen Borderlinetumor mit intraepithelialen Karzinom ein. Bei Borderlinetumoren mit mindestens einem kleinen stromainvasiven Herd (<5 mm) und geringer bis moderater Atypie der Epithelzellen liegt definitionsgemäß eine Mikroinvasion vor. Sollten schwere Zellatypien vorhanden sein, spricht man von einem mikroinvasiven Karzinom [10].

Für die pathologische Diagnostik ist ein adäquates Tumorsampling wichtig, um Karzinomherde nicht zu übersehen. Oft liegen Areale unterschiedlicher Dignität (benigne, borderline, maligne) direkt nebeneinander. Bei Tumoren, welche einen Durchmesser von weniger als 10 cm aufweisen, sollte pro Zentimeter eine Gewebsprobe



entnommen werden. Dabei sollen vor allem solide, makroskopisch suspekte Regionen miteinbezogen werden. Bei Borderlinetumoren, die größer als 10 cm sind, Mikroinvasion oder ein intraepitheliales Karzinom aufweisen, sollten pro Zentimeter zwei Gewebeproben entnommen werden. Insgesamt gehen nur wenige Borderlinetumoren in Karzinome über [5, 10].

Generell befinden sich muzinöse Borderlinetumoren im FIGO-Stadium I und sind mit einer guten Prognose assoziiert. In 10–15% der Fälle treten Rezidive auf, zum geringen Teil auch als invasives Karzinom [5]. Das Gesamtüberleben von Patientinnen mit einem intraepithelialen Karzinom beträgt 95-100%, bei Mikroinvasion beträgt die tumorbedingte Sterberate weniger als 5% [10].

Zur weiteren Subtypisierung und Differentialdiagnose von Tumoren können immunhistochemisch nachgewiesene Proteinexpressionen herangezogen werden. Muzinöse Borderlinetumoren exprimieren typischerweise folgende immunhistochemische Färbungen: Zytokeratin 7 (CK7) wird diffus exprimiert, Zytokeratin 20 (CK20) zeigt eine variable Expression, die geringer ausfällt als bei CK7. Die Expression der Estrogen- und Progesteronrezeptoren (ER und PR) fällt meist negativ aus, das Paired-Box-Protein 8 (PAX8) wird in 50-60% der Fälle exprimiert, die Expression des Homeobox Proteins CDX-2 fällt variabel aus. Eine *KRAS*-Mutation zeigt sich bei 30-75% der Borderlinetumoren [10].

Um eine adäquate Therapie zu gewährleisten, sollte der Tumor komplett exziiert werden. Bei abgeschlossener Familienplanung sollte eine bilaterale Salpingo-Oophorektomie durchgeführt werden. Ferner sollte ein sorgsames chirurgisches Staging durchgeführt werden, welches die Inspektion des Abdomens, die Gewinnung einer Spülzytologie, die Resektion der auffälligen Areale, Peritonealbiopsien unauffälliger Areale und eine Omentektomie beinhaltet. Bei muzinösen Borderlinetumoren muss zum Ausschluss einer Metastasierung durch einen extraovariellen Tumor der Appendix eine Appendektomie durchgeführt werden [5].

Wenn lediglich eine Zystektomie oder eine unilaterale Adnexektomie durchgeführt wird, ist mit höheren Rezidivraten zu rechnen [10]. Bei unerfülltem Kinderwunsch kann jedoch eine unilaterale Adnexektomie als fertilitätserhaltendes Verfahren bei entsprechender Aufklärung über das erhöhte Rezidivrisiko durchgeführt werden [5]. Die einfache

Zystektomie kann aufgrund eines vierfach höheren Rezidivrisikos nicht empfohlen werden [15]. Vor allem muzinöse Borderlinetumoren neigen dazu, als invasives Adenokarzinom zu rezidivieren, wenn nur eine Zystektomie statt einer bilateralen Adnexektomie durchgeführt wird. Ursächlich könnte die oft überdurchschnittliche Größe von muzinösen Borderlinetumoren sein. Hieraus ergibt sich das Risiko, bei der histopathologischen Aufarbeitung einen invasiven Anteil zu übersehen [16].

Laut Literatur existiert kein Vorteil einer adjuvanten Therapie bei Borderlinetumoren [17]. Im Fall eines invasiven Rezidivs sollte dieses wie ein invasives Ovarialkarzinom behandelt werden [5].

#### *1.1.3.3 Muzinöse Ovarialkarzinome (ICD-O: 8480/3)*

Ein muzinöses Karzinom ist ein maligner Tumor, welcher Zellen vom gastrointestinalen Typ aufweist. Insgesamt stellt das muzinöse Ovarialkarzinom 3-4% aller primären Ovarialkarzinome dar. Das durchschnittliche Alter bei Erstdiagnose beträgt 45 Jahre. Die meisten Karzinome sind zum Zeitpunkt der Erstdiagnose auf das Ovar beschränkt, fortgeschrittene Stadien sind bei muzinösen Ovarialkarzinomen selten [10, 18].

Das muzinöse Karzinom präsentiert sich typischerweise als großer, einseitiger Tumor, welcher aus zystischen und soliden Anteilen aufgebaut ist. Eine Beteiligung der Ovaroberfläche ist oft nicht nachweisbar. In muzinösen Ovarialkarzinomen ist die mitotische Aktivität hoch, auch abnormale Mitosefiguren können vorkommen. Es können Bereiche von benignen, borderline oder malignen Dignität innerhalb eines Tumors auftreten und direkt nebeneinander liegen [10].

Unterschieden wird ein expansives Wachstumsmuster sowie ein destruktives, welches seltener vorliegt. Diese können auch simultan im selben Tumor vorliegen. Für das expansive Muster ist eine starke, komplexe Drüsenproliferation typisch sowie wenig Stroma zwischen den Drüsen, was zu einem labyrinthartigen Aussehen führt. Die Drüsenstrukturen sind gedrängt, aber klar abgegrenzt [10].

Bei einem destruktiven, stromainvasiven Wachstumsmuster sind atypische Drüsen, Zellnester und Einzelzellen mit malignen zytologischen Eigenschaften typisch, welche das Stroma infiltrieren. Eine starke desmoplastische Stromareaktion tritt dabei häufig auf. Wenn ein infiltratives Wachstumsmuster bei einem bilateralen Ovarialkarzinom

auftritt, muss eine metastatische Infiltration durch ein extraovarielles Karzinom ausgeschlossen werden [10].

Muzinöse Ovarialkarzinome entwickeln sich oft aus muzinösen Borderlinetumoren, seltener können sie sich auch aus Teratomen oder Brennertumoren zu entwickeln. Muzinöse Ovarialkarzinome, die aus einem Teratom hervorgehen können mit einem Pseudomyxoma ovarii und gelegentlich auch mit einem Pseudomyxoma peritonei vergesellschaftet sein. Dies erschwert die Differentialdiagnostik. Wenn Elemente eines Teratoms identifiziert werden, kann eine sekundäre Infiltration durch z.B. durch eine primäre Neoplasie der Appendix jedoch ausgeschlossen werden [10]. Die muzinösen low-grade Neoplasien der Appendix (LAMN) können ebenfalls mit einem Pseudomyxoma peritonei auftreten. Das Krankheitsbild zeichnet sich durch massive abdominelle Schleimmassen aus.

Die häufigsten genetischen Veränderungen bei muzinösen Ovarialkarzinomen sind somatische *KRAS*-Mutationen (64 %) oder *HER2*-Amplifikationen. *HER2*-Amplifikationen können in 15-20% der Tumoren nachgewiesen werden [10].

Zur Diagnostik muzinöser Ovarialkarzinome werden immunhistochemische Färbungen genutzt. Die Immunhistochemie ist ein immunologisches Verfahren um Antigenstrukturen zu identifizieren. Die Zielstrukturen des Antikörpers können durch Antigen-Antikörper-Bindung und Färbung dieser entstehenden Immunkomplexe lichtmikroskopisch dargestellt werden. Unter Kapitel 3.4 wird das Prinzip der Immunhistochemie genauer erläutert.

Für ein primäres Ovarialkarzinom sprechen eine *PAX8*-Expression, eine diffuse *CK7*-Expression und zugleich eine schwache Expression von *CK20* und *CDX2*. Wenn *PAX8* nicht exprimiert wird, spricht dies jedoch nicht gegen ein primäres muzinöses Ovarialkarzinom. Für ein sekundäres Ovarialkarzinom mit Ursprung im Gastrointestinaltrakt sprechen eine starke *CDX2*- und *CK20*-Expression bei schwacher *CK7*-Expression [5, 10].

Die Mehrheit der muzinösen Ovarialkarzinome ist bei Erstdiagnose auf ein Ovar beschränkt (FIGO-Stadium I). Dies ist mit einer günstigeren Prognose assoziiert. Patientinnen mit fortgeschrittenem Stadium bei Erstdiagnose (extraovarieller Befall, mindestens FIGO-Stadium II) dagegen versterben meist an der Erkrankung. Muzinöse

Ovarialkarzinome mit einem expansiven Wachstumsmuster zeigen eine günstigere Prognose als Karzinome mit einem destruktiven Wachstumsmuster. Zu Rezidiven kommt es meist innerhalb der ersten drei Jahre. Diese sprechen meist schlecht auf Chemo- und Radiotherapie an [10].

#### **1.1.4 Seromuzinöse Neoplasien**

Man unterschied bis 2020 zwischen seromuzinösen Zystadenomen (ICD-O: 8474/0), Borderlinetumoren (ICD-O:8474/1) und Ovarialkarzinomen (ICD-O:8474/3). Muzinöse Ovarialtumoren vom endozervikalen Typ wurden seit der WHO-Klassifikation von 2014 als seromuzinöse Tumoren klassifiziert [10]. Seit 2020 werden seromuzinöse Karzinome zu den endometrioiden Ovarialkarzinomen gezählt.

Bei seromuzinösen Tumoren zeigen sich bei jeweils mehr als 10% des gesamten Epithels mindestens zwei verschiedene Zelltypen müllerscher Differenzierung. Dies kann beispielsweise seröses, muzinöses oder endometrioides Epithel sein.

Die Pathogenese dieser Tumoren ist unabhängig von der muzinöser Tumoren. Ähnlich wie bei endometrioiden und klarzelligen Tumoren besteht eine positive Expression von Östrogenrezeptoren, eine Assoziation zu Endometriose, eine fehlende WT1-Expression und ARID1A-Mutation im Sinne eines Expressionsverlustes [10, 19].

#### **1.1.5 Ovarielle Metastasen muzinöser Karzinome**

Bei Karzinomen im Ovar handelt es sich zum Teil auch um Metastasen von Karzinomen anderen Ursprungs in das Ovar. Der Anteil dieser sekundären Ovarialkarzinome beträgt in westlichen Ländern 3-15%. Die Metastasen im Ovar können synchron oder auch metachron mit dem primären Karzinom auftreten. Dies bedeutet, dass der extraovarielle Primarius zum Zeitpunkt der Erstdiagnose auch noch okkult sein kann. Die größten Probleme bei der Einordnung der Herkunft ergeben sich bei muzinösen Karzinomen [10].

Als Differenzialdiagnose von muzinösen Borderlinetumoren oder primären muzinösen Ovarialkarzinomen kommen vor allem metastasierte Karzinome mit Ursprung im oberen oder unteren Gastrointestinaltrakt, meist aus Dickdarm oder Appendix, dem pankreatikobiliären System, seltener aus Zervix oder Endometrium infrage [5, 10].

Von der S3-Leitlinie wird für die Abgrenzung von primären Ovarialtumoren zu Metastasen anderen Ursprungs folgende Kombination immunhistochemischer

Färbungen empfohlen: CK7, CK20, CDX2, p16 und SATB2 (Tabelle 3). Die WHO-Klassifikation führt zur Abgrenzung von Karzinomen aus dem Ovar, Kolorektum, Appendix, pankreatikobiliären System, Magen und Endozervix die immunhistochemischen Färbungen CK7, CK20, DPC4, p16, PAX8, ER und PR auf (Tabelle 1) [5, 10].

Für eine Metastase spricht generell eine geringere Tumorgöße (<10-12cm), Bilateralität des Tumors, ein noduläres Wachstumsmuster sowie Tumormasse an der Oberfläche des Ovars. Metastasen zeigen häufig ein infiltratives Wachstumsmuster mit stromaler Desmoplasie und können eine lymphovaskuläre Invasion aufweisen [10].

Primäre Ovarialtumoren zeigen ein konfluierendes, glanduläres Wachstumsmuster. Jedoch können auch Metastasen diese makro- und mikroskopischen Eigenschaften aufweisen und so die Diagnostik erschweren. Bereiche gutartiger Differenzierung im Tumor wie muzinöse Zystadenome, muzinöse Borderlinetumoren oder eine stromale Luteinisierung weisen auf einen Ursprung im Ovar hin [10]. Ein muzinöses Ovariakarzinom in einem höheren Stadium ist stets verdächtig auf eine Metastase [17].

Am häufigsten metastasiert das kolorektale Karzinom in das Ovar. Ungefähr 60% der Tumoren sind bilateral, der durchschnittliche Durchmesser beträgt 12,5 cm. Der Tumor ist aus Drüsen aufgebaut, welche klein und tubulär, aber auch groß und zystisch erweitert sein können. Typisch ist luminales, nekrotisches Gewebe. Diese „schmutzige Nekrose“ wird von Epithel umrandet, was man auch „garland pattern“ bzw. kribriiformes Muster nennt. Neben der komplexen Drüsenarchitektur mit kribriiformen Wachstumsmuster zeigt sich häufig eine Verdichtung des Bindegewebes und Luteinisierung um die Drüsen herum. Das Epithel ist mehrschichtig, hoch atypisch und nicht eindeutig muzinös [10].

Ein weiterer Ursprungsort ovarieller Metastasen ist die Appendix vermiformis. Zu einer Beteiligung des Ovars kommt es durch Ruptur von low-grade muzinösen Neoplasien der Appendix oder high-grade Adenokarzinomen der Appendix. Tumoren der Appendix sind jedoch seltener als metastatische kolorektale Karzinome. Low-grade muzinöse Neoplasien der Appendix (LAMN) präsentieren sich oft mit einem Pseudomyxoma peritonei, also großen Massen von gallertigem, muzinösen Material im Abdomen.

Durchschnittlich weisen LAMNs einen Durchmesser von 15 cm auf und sind meistens multizystisch und mukoid. Im Ovar zeigt sich reichlich extrazelluläres Muzin, was als Pseudomyxoma ovarii bezeichnet wird, sowie hypermucinöses Epithel. Dieses ist oft von der Basalmembran abgehoben, enthält unvollständige Drüsen und formt ein wahlloses und unregelmäßiges Muster. Die LAMNs sind üblicherweise indolent und haben eine bessere Prognose als high-grade Karzinome der Appendix. Metastatische high-grade Adenokarzinome haben durchschnittlich einen Durchmesser von 11 cm, die Oberfläche ist fest und hart. Sie erscheinen verschachtelt und zeigen oft eine Siegelring-Differenzierung. Die Prognose ist ungünstig.

Ein seltenerer möglicher Ursprungsort für ovarielle Metastasen ist das pankreatikobiliäre System. Die Metastasen sind meist bilateral. Der Tumor besteht aus soliden und zystischen Anteilen mit variabler Oberflächenbeteiligung. Selten können ovarielle Metastasen auch aus der Brust, dem Magen, der Endozervix oder dem Endometrium stammen. Sehr selten kann es sich bei ovariellen Metastasen um Lungen-, Blasen- und Nierenkarzinome handeln sowie Karzinoide, nicht-gynäkologische Sarkome, uterine nicht-mesenchymale Tumoren und Mesotheliome [10].

Insgesamt zeigt sich, dass die Diagnostik des muzinösen Ovarialkarzinoms, einschließlich der Berücksichtigung aller Differentialdiagnose rein histomorphologisch nicht immer eindeutig ist.

Ursprung	CK7	CK20	DPC4	p16	PAX8, ER, PR
<b>Ovar</b>	positiv * (CK7>CK20)	~ 75% positiv*	positiv	negativ/fokal positiv	muzinös: ~50% positiv **
<b>Kolorektum</b>	~ 90% negativ	positiv (CK20>CK7)	~90% positiv	negativ/fokal positiv	negativ
<b>Appendix</b>	70-90% negativ	positiv (CK20>CK7)	positiv	negativ/fokal	negativ
<b>Pancreatobiliär</b>	positiv (CK7>CK20)	positiv/negativ ~ 80% positiv	~50% positiv ***	negativ/fokal positiv	negativ
<b>Gastrisch</b>	positiv/negativ	positiv/negativ	positiv	negativ/positiv	negativ
<b>Endozervikal</b>	positiv (CK7>CK20)	negativ/positiv	positiv	diffus positiv ****	PAX8 positiv ER/PR negativ
	<p>*primäre muzinöse Ovarialtumoren teratomatösen Ursprungs: CK7-/CK20+</p> <p>**primäre muzinöse Ovarialtumoren sind typischerweise negativ für ER/PR</p> <p>***DPC4 Verlust ist typisch für pankreatobiliären Ursprung, eine positive Expression schließt einen pankreatobiliären Ursprung jedoch nicht aus.</p> <p>****HPV bedingte Tumoren reagieren positiv bei in-situ Hybridisierung, HPV unabhängige Tumoren zeigen keine p16 Expression</p>				

Tabelle 1: immunhistochemische Expressionsmuster nach Ursprung laut WHO-Klassifikation [10]

## 1.1.6 Pathologie

### 1.1.6.1 Pathologische Diagnostik

Aktuell empfiehlt die S3 Leitlinie „Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren“ zur Bestimmung des histologischen Subtyps der Ovarialkarzinome sowie zur Differentialdiagnostik zwei verschiedene Paneele immunhistochemischer Färbungen (Tabelle 2, Tabelle 3).

Zur Diagnostik des histologischen Subtyps werden vier immunhistochemische Färbungen zum Nachweis von folgenden Antigenen empfohlen: p53, WT1, Napsin A und Progesteronrezeptor (PR), siehe Tabelle 2. Aus diesen Färbungen wurde in einer kanadischen Studie ein Algorithmus entwickelt, welcher 88,5% der Ovarialkarzinome richtig diagnostiziert [5, 20].

	High-grade	Low-grade	Muzinös	Endometroid	Klarzellig
<b>WT1</b>	96,7%	98,4%	0,6%	10,1%	0,9%
<b>TP 53, aberrant</b>	93,9%	0%	61,3%	14,9%	11,8%
<b>Napsin A</b>	1,5%	0%	3,4%	8,2%	91,8%
<b>PR</b>	36,6%	58,6%	3,8%	84,7%	7,2%

Tabelle 2: immunhistochemische Expressionsmuster der histologischen Subtypen des Ovarialkarzinoms [5]

Laut Leitlinie wird für die Abgrenzung von primären Ovarialtumoren und ovariellen Metastasen folgende Kombination immunhistochemischer Färbungen empfohlen: CK7, CK20, CDX2, p16 und SATB2. Bei fraglicher Expression von p16 kann zum Ausschluss eines Zervixkarzinoms eine HPV-Analyse durchgeführt werden (Tabelle 3).

Primärtumor	CK7	CK20	CDX2	SATB2	p16
<b>Ovar</b>	+	(+)	+	-	+/-
<b>Zervix</b>	+	(+)	(+)	-	+
<b>Dickdarm</b>	(+)	+	+	+	-
<b>Oberer GI-Trakt</b>	+	+	+	(+)	-

Tabelle 3: Empfohlenes Panel zur Differenzialdiagnostik von primären muzinösen OVCAs [5]

Für ein primäres Ovarialkarzinom sprechen eine diffuse Expression von CK7 und zugleich eine schwächere Expression von CK20 und CDX2. SATB2 fällt typischerweise negativ aus. Für einen Ursprung des Karzinoms im Gastrointestinaltrakt sprechen eine starke CDX2- und CK20-Positivität bei schwächerer CK7-Expression und starker SATB2-Expression [5].

#### 1.1.6.2 Stadien (TNM, FIGO)

Die TNM-Klassifikation teilt maligne Tumoren anhand der anatomischen Ausbreitung in Stadien ein, siehe Tabelle 4. Sie ist gültig für alle Ovarialkarzinome und Borderlinetumoren. Die FIGO-Klassifikation ist ein weiteres System zur Einteilung gynäkologischer Tumoren, welches von der Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO) empfohlen wird. Die TNM-Klassifikation kann nicht vollständig in die FIGO-Klassifikation übertragen werden, weswegen das FIGO-Stadium zusätzlich angegeben werden sollte [4].



TNM-Stadien	FIGO-Stadien	Definition
<b>TX</b>		Primärtumor kann nicht beurteilt werden
<b>T0</b>		Kein Anhalt für Primärtumor
<b>T1</b>	<b>I</b>	Tumor begrenzt auf Ovarien oder auf Tube(n)
<b>T1a</b>	<b>IA</b>	Tumor auf ein Ovar beschränkt, Kapsel intakt, kein Tumor auf Oberfläche des Ovars oder Tube, keine malignen Zellen im Aszites oder bei Peritonealspülung
<b>T1b</b>	<b>IB</b>	Tumor auf beide Ovarien oder Tuben begrenzt, Kapsel intakt, kein Tumor auf der Oberfläche der beiden Ovarien oder Tuben, keine malignen Zellen in Aszites oder Peritonealspülung
<b>T1c</b>	<b>IC</b>	Tumor begrenzt auf ein oder beide Ovarien oder Tuben mit einem der nachfolgenden Kriterien
<b>T1c1</b>	<b>IC1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tumorzelldissemination während Operation</li> </ul>
<b>T1c2</b>	<b>IC2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kapselruptur vor Operation/ Tumor an Ovar oder Tubenoberfläche</li> </ul>
<b>T1c3</b>	<b>IC3</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Maligne Zellen in Aszites/Peritonealspülung</li> </ul>
<b>T2</b>	<b>II</b>	Tumor befällt ein oder beide Ovarien und breitet sich im Becken aus, unterhalb des Beckenrandes
<b>T2a</b>	<b>IIA</b>	Ausbreitung auf und/oder Implantate an Uterus und /oder Tube(n) und/oder Ovarien
<b>T2b</b>	<b>IIB</b>	Ausbreitung auf andere Beckengewebe
<b>T3 und/oder N1</b>	<b>III</b>	Tumor befällt ein oder beide Ovarien oder Tuben oder primäres Karzinom des Peritoneums mit zytologisch oder histologisch nachgewiesener Ausbreitung auf das Peritoneum außerhalb des Beckens und/oder regionären Lymphknotenmetastasen
<b>N1</b>	<b>IIIA1</b>	Nur retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
<b>N1a</b>	<b>IIIA1i</b>	Lymphknotenmetastasen 10 mm oder weniger in größter Ausdehnung
<b>N1b</b>	<b>IIIA1ii</b>	Lymphknotenmetastasen größer als 10 mm in größer Ausdehnung
<b>T3a jedes N</b>	<b>IIIA2</b>	Mikroskopische Ausbreitung jenseits des Beckens (oberer Beckenrand) mit oder ohne retroperitoneale Lymphknotenmetastasen
<b>T3b jedes N</b>	<b>IIIB</b>	Makroskopische Peritonealmetastasen jenseits des Beckens, 2 cm oder weniger in größter Ausdehnung
<b>T3c jedes N</b>	<b>IIIC</b>	Peritonealmetastasen jenseits des Beckens, mehr als 2 cm in größter Ausdehnung und/oder regionäre Lymphknotenmetastasen einschließlich Tumorausbreitung auf die Leber- und Milzkapsel ohne parenchymale Beteiligung dieser Organe
<b>M1</b>	<b>IV</b>	Fernmetastasen (außer Peritonealmetastasen)
<b>M1a</b>	<b>IVA</b>	Pleuraergüsse und positive Zytologie
<b>M1b</b>	<b>IVB</b>	Parenchymmetastasen und Fernmetastasen in extraabdominellen Organen (eingeschlossen inguinale Lymphknoten und Lymphknoten außerhalb der Bauchhöhle)

Tabelle 4: TNM- und FIGO Klassifikation [4]

### 1.1.6.3 Graduierung

Die Graduierung oder Grading ist eine Einteilung, welche den Grad der Abweichung der Gewebsarchitektur vom physiologischen Gewebe beziehungsweise den Grad der zytologischen Atypie oder histologischer Malignität angibt. Diese Einteilung erfolgt je nach Art des Tumors nach einem eigenen System (Tabelle 5). In den unterschiedlichen Graduierungssystemen können je nach Tumor mehrere histologische Merkmale, aber auch ausschließlich einzelne Merkmale berücksichtigt werden.

Das Grading ist häufig auch für die Therapieentscheidungen von Bedeutung. Beispielsweise kann bei niedrigmalignen Tumoren eine chirurgische Resektion ausreichen, während bei hochmalignen Tumoren zusätzliche systemische Therapiemaßnahmen eingeleitet werden müssen [21, 22].

Generell weisen Tumoren mit einer niedrigen Graduierung (G1/ low-grade) histologisch eine bessere Differenzierung auf, sind den Ursprungsgewebe in Aussehen und Funktion also noch ähnlicher. Dies geht in der Regel mit langsamerem Wachstum, geringerer Neigung zur Metastasierung und einer besseren Prognose einher. Eine höhere Graduierung (G3/ high-grade) spricht für eine höhere Malignität und Aggressivität, schnelleres Wachstum, schnellere Metastasierung und schnellere Rezidivbildung und somit eine schlechtere Prognose.

Histologie	Graduierung			Erklärung/Bemerkung
<b>Serös</b>	low-grade (G1)	-	high-grade (G3)	-
<b>Muzinös</b>	-	-	-	keine einheitliche Graduierung
<b>Endometrioid</b>	G1 (low-grade)	G2 (low-grade)	G3 (high-grade)	analog dem Endometriumkarzinom
<b>Klarzellig</b>	-	-	high-grade (G3)	immer high-grade
<b>Maligner Brenntumor</b>	-	-	-	keine Graduierung
<b>Undifferenziert</b>	-	-	-	gelten als hoch maligne
<b>Karzosarkom</b>	-	-	-	

Tabelle 5: Zusammenfassung der Graduierung der Ovarialkarzinome [5, 10]

Für muzinöse Karzinome existiert bisher kein einheitliches Graduierungssystem. Im klinischen Alltag werden sie oft in Anlehnung an die Regeln für endometrioiden Karzinome graduiert. Zur besseren Orientierung wurden alle muzinösen Ovarialkarzinome aus dem Kollektiv zunächst nach den Regeln für endometrioiden Ovarialkarzinome nachgraduiert, analog der endometrioiden Adenokarzinome des Uterus (Tabelle 6) [5].

<b>G</b>	<b>solides Wachstum</b>	<b>zytologischen Atypien</b>
<b>G1</b>	weniger als 5% solides Wachstum	bei schweren zytologischen Atypien der Zellkerne in mehr als 50% des Karzinoms wird das Grading um einen Punkt erhöht
<b>G2</b>	6-50% solides Wachstum	
<b>G3</b>	mehr als 50% solides Wachstum	

Tabelle 6: Grading für endometrioiden Ovarialkarzinome [10]

### 1.1.7 Ätiologie

#### 1.1.7.1 Risikofaktoren und protektive Faktoren

Eine höhere Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung eines Ovarialkarzinoms besteht bei den folgenden Tumorsyndromen: dem familiären Brust- und Eierstockkrebsyndrom („*hereditary breast ovarian cancer syndrome*“, *HBOC*) und dem familiären, nicht polypösen Kolonkarzinomsyndrom (*HNPCC*, „*hereditary non-polyposis colorectal carcinoma syndrome*“, auch Lynch-Syndrom genannt). Die Diagnose wird durch genetische Testung bestätigt.

Beim familiären Brust- und Eierstockkrebsyndrom ist ein Großteil der genetischen Mutationen in den Genen *BRCA1* und *BRCA2* lokalisiert. Bei einer *BRCA1*-Mutation besteht ein kumulatives Risiko von 46–65% bis zum 69. Lebensjahr für die Entstehung eines Mammakarzinoms und von 39% für die Entwicklung eines Ovarialkarzinoms. Dagegen beträgt bei einer *BRCA2*-Mutation das Risiko für die Entstehung eines Mammakarzinoms 45%, für die Entwicklung eines Ovarialkarzinoms nur 11–22%. Mit betroffenen Patientinnen sollte die Möglichkeit einer beidseitigen Salpingo-Oophorektomie besprochen werden, da dies eine wirksame Methode zur Senkung von Erkrankungsrisiko und Mortalität des hereditären Ovarialkarzinoms ist [5, 23].

Bei einem Lynch-Syndrom treten Veränderungen in den Mismatch-Repair-Genen (*MLH1*, *MSH2*, *MLH3*, *MSH6*, *PMS2*) auf. Mit einer *MSH2*- oder *MLH1*-Mutation beträgt das Risiko, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken bis zum 40. Lebensjahr ein Prozent. Bis zum 70. Lebensjahr steigt dies bei *MSH2* jedoch auf 24% an, bei *MLH1* auf 20% [5].

Die Anwendung oraler Kontrazeptiva vermindert das Risiko, an einem Eierstockkarzinom zu erkranken um 40%. Die Risikoreduktion hält mehr als zehn Jahre an und findet sich bei allen histologischen Subtypen außer bei dem muzinösen Ovarialkarzinom [24, 25].

Eine Sterilisation durch Tubenligatur führt zu einer Verringerung des Risikos, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken um 34%. Diese Risikoreduktion war für alle histologischen Typen außer dem muzinösen Ovarialkarzinom nachweisbar. Eine Risikoreduktion bleibt über 30 Jahre bestehen, verringert sich aber im Verlauf [26]. Eine Hormontherapie in der Peri- und Postmenopause führt laut Metaanalysen einer Steigerung des Risikos für seröse Ovarialkarzinome [5]. Auch Infertilität und Adipositas im Erwachsenenalter sind mit einem gesteigerten Risiko für Ovarialkarzinome assoziiert [27, 28].

#### 1.1.7.2 Pathogenese

Häufig findet man in muzinösen Karzinomen Gewebe mit unterschiedlicher Dignität direkt nebeneinander. Dies deutet darauf hin, dass die Karzinogenese durch maligne Transformation von muzinösen Zystadenomen über Borderlinetumoren, Borderlinetumoren mit intraepithelialen Karzinom zum muzinösen Ovarialkarzinom stattfindet [29, 30].

Dafür spricht auch, dass eine steigende Häufigkeit für Codon 12/13 *KRAS*-Mutationen von muzinösen Zystadenomen über Borderlinetumoren zu Karzinomen festgestellt wurde [31]. Die selbe *KRAS*-Mutation wurde in Gebieten mit unterschiedlicher Dignität innerhalb desselben Ovarialtumors nachgewiesen [10]. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Aktivierung der *KRAS*-Mutation ein frühes Ereignis in der Karzinogenese darstellt [10, 31, 32].

### **1.1.8 Klinik**

#### *1.1.8.1 Symptome*

Das Ovarialkarzinom bleibt lange asymptomatisch, zudem ist die Symptomatik unspezifisch. Als Symptome können Flatulenzen, Völlegefühl, unklare abdominelle Schmerzen, eine gesteigerte Miktionsfrequenz und eine Zunahme des abdominellen Umfangs auftreten. Daher sollte bei Patientinnen ab dem 50. Lebensjahr bei Auftreten dieser Symptome eine weitergehende Diagnostik eingeleitet werden. Bei positiver Familienanamnese oder bei Vorliegen anderer Risikofaktoren für ein Ovarialkarzinom sollte die Diagnostik auch schon in jüngerem Alter erfolgen [5, 10].

#### *1.1.8.2 Diagnostik*

Bei dem Verdacht auf eine Raumforderung des Ovars sollten zunächst eine Inspektion, gynäkologische Spiegeluntersuchung sowie die körperliche Untersuchung durch bimanuelle Palpation von Uterus, Adnexen und Portio durchgeführt werden. Die erste indizierte apparative Untersuchung ist die transvaginale Sonografie. Hinweise auf Malignität bei einer Zyste in der sonographischen Untersuchung der Ovarien sind eine überdurchschnittliche Größe, unregelmäßige Begrenzung, wechselnde Wandstärke, inhomogenes oder solides Reflexmuster der Binnenstruktur, solide oder papilläre Strukturen in der Binnenstruktur, zentrale Vaskularisation, unterschiedlich dicke Septen innerhalb des Tumors, Befall beider Ovarien und Nachweis von Aszites [5, 33].

Der transvaginale Ultraschall erlaubt jedoch nur eine eingeschränkte Beurteilung des Beckens und keine Darstellung des Abdomens. Für ein präoperatives Staging können zusätzlich die Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT) oder Positronen-Emissions-Tomographie (PET) zur Beurteilung der Ausdehnung und zur Differentialdiagnostik eingesetzt werden. Peritoneale und mesenteriale Metastasen können mittels Bildgebung allerdings nur eingeschränkt detektiert werden [5].

#### *1.1.8.3 Staging*

Zur Erfassung des Ausmaßes der Tumordinfiltration und zur Zytoreduktion findet zunächst eine Staging-Operation statt. Eine Staging-Operation ist die einzige diagnostische Maßnahme, durch welche die Operabilität zuverlässig eingeschätzt

werden kann. Durch sie kann das Staging gemäß TNM/FIGO-Klassifikation durchgeführt werden und somit das weitere Behandlungsregime geplant werden.

Die Staging-OP wird als Längsschnittlaparatomie durchgeführt und beinhaltet folgende Schritte: Laut S3-Leitlinie wird zunächst die Abdominalhöhle inspiziert und palpirt. Anschließend wird Aszites für die Peritonealzytologie sowie Biopsien an allen auffälligen Stellen entnommen. Peritonealbiopsien werden auch an unauffälligen Regionen entnommen. Anschließend folgt eine Adnexektomie bilateral sowie die Hysterektomie. Im Stadium FIGO A1 G1 ist die Operation bei bestehendem Kinderwunsch noch fertilitätserhaltend möglich. In diesem Stadium wird die Adnexektomie nur unilateral durchgeführt und der Uterus in situ belassen. In jedem Fall wird eine Omentektomie infrakolisch durchgeführt und bei muzinösen oder unklarem Tumortyp kann zusätzlich eine Appendektomie durchgeführt werden. Die Lymphknoten werden beidseits pelvin und paraaortal vom Leistenband bis zum Nierengefäßstiel entfernt [5].

#### *1.1.8.4 Therapie*

##### *1.1.8.4.1 Operative Therapie*

Da die Prognose maßgeblich von der Radikalität der Tumorentfernung abhängt, ist das Operationsziel eine möglichst vollständige makroskopische Resektion [34]. Zusätzlich zu den Schritten der Staging-OP werden infiltrierte Organe komplett oder teilweise reseziert [5]. Bei ausgedehntem Befall des Dünndarms oder ausgeprägter Infiltration des Mesenteriums mit Befall der Mesenterialwurzel ist eine radikale Operation nur noch bedingt möglich. In diesem Fall kann keine Tumorfreiheit erreicht werden, die Operation dient hier der Reduktion der Tumormasse [5].

#### 1.1.8.4.2 Systemische Therapie

Die Indikation für eine systemische Therapie richtet sich nach dem TNM-Stadium des Ovarialkarzinoms. So soll bei Patientinnen bis einschließlich Stadium IA Grad 1 nach vollständigen operativem Staging keine adjuvante Chemotherapie eingeleitet werden, außer bei high-grade/ G3 Karzinomen [5].

Ab dem Stadium IC oder IA/B und G3 wird empfohlen, den Patientinnen eine platinhaltige Chemotherapie über sechs Zyklen zu verabreichen [5, 35].

In den Stadien II–IV sollte das Erstlinien-Chemotherapieschema aus Carboplatin AUC 5 und Paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> für insgesamt 6 Zyklen alle 3 Wochen bestehen. In den Stadien III–IV kann zusätzlich eine Erhaltungstherapie angeboten werden, beispielsweise mit Bevacizumab oder einen PARP-inhibitor [5].

#### 1.1.8.5 Prognose

Bewährte pathologische Prognosefaktoren sind das Tumorstadium, der histologische Subtyp und die Tumorgraduierung [5].

Bei Diagnose im Stadium I ist die Prognose von muzinösen Ovarialkarzinomen gut. Ungünstig ist die Prognose dagegen bei Fällen, welche in höheren Stadien diagnostiziert werden [36].

Postoperativer Tumorrest, Alter, Allgemeinzustand und leitliniengerechte Therapie haben sich als valide klinische Prognosefaktoren für das Ovarialkarzinom etabliert. Für verschiedene tumorbiologische Parameter wie Genexpressionsprofile oder Lymphozyteninfiltration des Tumors konnte ein Zusammenhang zur Prognose gezeigt werden [5, 37, 38].

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass Karzinome mit destruierendem Wachstumsmuster mit einer schlechteren Prognose assoziiert sind als Karzinome mit expansiven Wachstumsmuster [31]. Karzinome vom expansiven Typ befinden sich meist in Stadium 1, außerdem metastasieren und rezidivieren seltener [2, 10].

Auch Borderlinetumoren und Borderlinetumoren mit Mikroinvasion befinden sich im Stadium 1 und entwickeln selten Metastasen [2].

Die Kombination aus destruktiven Wachstumsmuster, hohem Grad an Atypie und Zustand nach Tumorruptur (also mindestens FIGO-Stadium IC/TNM: pT1c) ist ein guter Indikator für die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs [31].

## 1.2 Untersuchte immunhistochemische Färbungen

### 1.2.1 Etablierte immunhistochemische Färbungen: CK7, CK20, PAX8, CDX2, ER, PR, SATB2

#### 1.2.1.1 Zytokeratine 7 und 20

Zytokeratine sind Proteine des Zytoskeletts aus der Familie der Intermediärfilamente. Die Zytokeratine sind im Zytoplasma des epithelialen Gewebes lokalisiert und stellen wichtige Marker für epitheliale Differenzierung dar. In der Praxis werden sie oft eingesetzt, um gering differenzierte Neoplasien als Karzinome zu identifizieren. Es existieren mehr als 20 unterschiedliche Zytokeratine. Diese teilt man in basische (CK1-CK8) und saure (CK9-CK20) Zytokeratine ein. Zytokeratine kommen im Körper als Heterodimere vor, die sich aus einer basischen und einer sauren Einheit zusammensetzen. Daher werden bestimmte Paare von Zytokeratinen, wie zum Beispiel CK7 und CK20 gemeinsam exprimiert. Man teilt die Zytokeratine aus diagnostischen Gründen in squamöse Keratine des Plattenepithels (HMWCK) und einfache, nicht squamöse und nicht dem Plattenepithel zugehörige Keratine (LMWCK) ein. CK7 und CK20 gehören zu der Gruppe der LMWCKs und zeigen stark spezifische Verteilungsmuster für bestimmte Karzinome (Tabelle 7) [39].

	CK7	CK20	Ursprung Karzinom
<b>Expression</b>	positiv	negativ	Ovar (nicht-muzinöses Ovarialkarzinom), Uterus, Lunge, Brust, Schilddrüse, Speicheldrüse
	negativ	positiv	Kolorektum, Merkelzellkarzinom
	positiv	positiv	Muzinöses Ovarialkarzinom, Pankreatikobiliäres System, Magen, Ösophagus, Blase
	negativ	negativ	Leber, Niere, Prostata

Tabelle 7: Expressionsprofile CK7 und CK20 [39]

Aufgrund der unterschiedlichen Verteilungsmuster von CK7/CK20 in muzinösen Ovarialkarzinomen und Kolonkarzinomen ist diese Kombination gut geeignet für deren Differentialdiagnostik.



Das in Tabelle 7: Expressionsprofile CK7 und CK20 [39] gezeigte Verteilungsmuster ist jedoch nicht in allen Fällen zu erwarten, beim kolorektalem Karzinom trifft die Kombination CK7-/CK20+ in 82% aller Fälle zu, in 10% der Fälle kann die Kombination CK7-/CK20- auftreten und in 8% der Fälle auch CK7+/CK20+. Dabei ist zu beachten, dass 70% der rektalen Adenokarzinome CK7 exprimieren. Für ein Ovarialkarzinom spricht eine CK7 Expression bzw. ein Überwiegen der CK7-Expression gegenüber der CK20-Expression [10, 39].

#### 1.2.1.2 PAX8

Das Paired-Box-Gen 8 aus der PAX-Genfamilie kodiert das nukleäre Protein PAX8, einen Transkriptionsfaktor [40].

Während der embryonalen Entwicklung spielt PAX8 eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von Schilddrüse, Nieren, Teilen des ZNS, Innenohr und Müllergang [40].

Physiologisch lässt sich eine immunhistochemische PAX8-Expression in gesunden Schilddrüsenfollikeln, Nierenepithelzellen (einschließlich aller Tubulussegmente), Lymphozyten und Gewebe Müllerschen Ursprungs nachweisen [39].

In der pathologischen Diagnostik wird PAX8 verwendet, um Ovarialkarzinome, Endometriumkarzinome, Zervixkarzinome, Nierenzellkarzinome (klarzellig, papillär, chromophob, medullär und duktal), Schilddrüsenkarzinome (follikulär und anaplastisch) und pankreatische neuroendokrine Tumoren zu detektieren [39].

Bei ER / PR positiven Karzinomen wird PAX8 beispielsweise verwendet, um zwischen einem Primarius in der Brust (PAX8 negativ) und im weiblichen Genitaltrakt (PAX8 positiv) zu unterscheiden [39].

Zu 50 % exprimieren muzinöse Ovarialkarzinomen PAX8, die Abwesenheit von PAX8 schließt ein primäres muzinöses Ovarialkarzinom also nicht aus. Bei Karzinomen des Kolorektums ist generell keine Expression zu erwarten [10].

### 1.2.1.3 CDX2

CDX2 ist ein Homeobox-Gen des kaudalen Typs, welches das CDX2-Protein, einen Transkriptionsfaktor codiert, der sich unter anderen im Darm befindet. Das CDX2-Protein wird nukleär in Epithelzellen von Dünndarm und Dickdarm exprimiert. CDX2 spielt eine wichtige Rolle in der Darmentwicklung und Karzinogenese, da es an Zelldifferenzierung, Proliferation, Adhäsion und Migration beteiligt ist [41].

CDX2 ist ein Marker für intestinale Differenzierung, welcher in Karzinomen mit gastrointestinalem Phänotyp (z.B. kolorektales Karzinom) exprimiert wird. Eine diffuse bis starke Expression zeigt sich bei intestinalen Karzinomen. Bei Karzinomen mit enterischen Phänotyp, wie dem muzinösen Ovarialkarzinom ist eine variable Expression zu erwarten. Bei gastrischen und pankreatikobiliären Karzinomen ist ebenfalls eine variable/fokale Expression zu erwarten. Karzinoide des Appendix und Dottersacktumoren exprimieren in 40% der Fälle CDX2 [39, 42-45].

Die überschneidenden Expressionsprofile erschweren die Differenzialdiagnostik von muzinösen Ovarialkarzinomen und kolorektalen Adenokarzinomen durch CDX2.

#### 1.2.1.4 Östrogenrezeptoren (ER $\alpha$ ) und Progesteronrezeptoren (PR)

Östrogen und Progesteron sind Steroidhormone. Die zugehörigen Rezeptoren sind Steroidrezeptoren, welche nukleär lokalisiert sind. Bei Bindung des jeweiligen Hormons an die DNA-Bindungsdomäne bindet der Hormon/Rezeptorkomplex an die DNA und aktiviert die Transkription bestimmter Gene, was zu deren Induktion oder Repression führen kann.

Physiologisch induziert Östrogen die Proliferation des Endometriums, die Entwicklung der Brustdrüse und der Schambehaarung, die Produktion von Zervixschleim und die Weitstellung der Zervix. Über Aktivierung von Osteoblasten wirkt Östrogen osteoanabol.

Progesteron schafft nach dem Eisprung günstige Bedingungen im Uterus für eine Nidation, steigert die Proliferation und Sekretionsbereitschaft der Glandulae mammae und führt zu einer Erhöhung der Basaltemperatur in der Lutealphase.

In gesundem Gewebe sind Progesteronrezeptoren in der glatten Muskulatur nachweisbar sowie in Zervix, Uterus, Endometrium, Tube, Ovar und Vagina. Östrogenrezeptoren (ER $\alpha$ ) werden physiologisch in der glatten Muskulatur, Brust, Zervix, Ovar, Uterus, Endometrium, Tube und Vagina exprimiert.

Bei östrogenabhängigen Tumoren wie dem Mammakarzinom stellt die Hormonrezeptorexpression dank antihormonellen Medikamenten wie Aromatasehemmern oder selektiven Östrogenrezeptormodulatoren auch ein Therapieansatzpunkt dar.

Hormonrezeptoren können in Karzinomen des Uterus, der Brust und des Ovars nachgewiesen werden. Ferner können bei Lungenkarzinomen (5%), Tumoren des Hautanhangsgewebes, Astrozytomen und zystischen Neoplasien mit ovarähnlichen Stroma Hormonrezeptoren exprimiert werden. Die ER-Expression ist in Ovarialkarzinomen jedoch signifikant höher als in gesundem Eierstockgewebe und benignen Ovarialtumoren [39, 46, 47].

Meningeome, pankreatische pseudopapilläre Neoplasien und der pankreatische neuroendokrine Inselzelltumor exprimieren typischerweise Progesteronrezeptoren [39].

In den meisten Studien werden die Hormonrezeptoren ER und PR bei muzinösen Metastasen des Kolorektums nicht exprimiert [48-51], bei Metastasen aus dem Magen

[52, 53] und der Gallenblase [54-56] dagegen kann die Hormonrezeptorfärbung auch positiv ausfallen.

Die Expression von Östrogenrezeptoren bei muzinösen Ovarialkarzinomen fällt variabel aus, es wurden Expressionsraten von 0% bis zu 88% berichtet. Meist fällt die ER-Expression jedoch gering oder negativ aus [48, 57-59]. Bei muzinösen Borderlinetumoren und sekundären muzinösen Ovarialkarzinomen fällt die ER-Expression ebenfalls sehr gering bis negativ aus [48].

Auch die Expression von Progesteronrezeptoren fällt bei muzinösen Ovarialkarzinomen variabel aus, hier wurden Expressionsraten von 0-84% berichtet [48, 59, 60]. Muzinöse Borderlinetumoren und sekundäre Ovarialtumoren exprimieren PR in der Regel nicht [48].

#### 1.2.1.5 SATB2

SATB2 (*Special AT-rich sequence-binding protein 2*) ist ein nukleär exprimierter Marker, der sensitiv kolorektale Adenokarzinome detektiert. Es handelt sich bei SATB2 um ein DNA-bindendes Protein, das als nukleärer Transkriptionsfaktor wirkt und so an der Genregulierung und an Chromatin-Remodeling beteiligt ist [61]. Außerdem kann es als Träger wirken, der die Aktivität anderer DNA-bindender Proteine verstärkt [62].

SATB2 verhindert die Expression des Gens *Ctip2* und bewirkt so die Spezifizierung von pyramidalen Neuronen des Neocortex. Dieser Prozess ist außerdem im Zuge der Entwicklung des zerebralen Kortex an der Regulation kortiko-kortikaler Verbindungen beteiligt [63, 64]. Ferner ist SATB2 an der Skelettentwicklung und Differenzierung von Osteoblasten beteiligt [62]. SATB2 wird immunhistochemisch in Osteoblasten, postmitotischen differenzierenden Neuronen und Zellen epithelialer Herkunft, hauptsächlich Drüsenzellen aus dem unteren Gastrointestinaltrakt exprimiert [65, 66].

Da eine starke SATB2-Expression relativ spezifisch für Karzinome kolorektalen Ursprungs ist, kann SATB2 verwendet werden, um kolorektale Karzinome von Karzinomen anderen Ursprungs zu unterscheiden [65-68].

SATB2 wird vom gesunden Epithel des Ovars und primären, muzinösen Ovarialtumoren in der Regel nicht exprimiert. Bei Ovarialtumoren, die mit zystischen Teratomen assoziiert sind, kann eine SATB2-Expression auftreten [67-69].

In Pankreas, Gallenblase, Magen, Endozervix, Ösophagus wird SATB2 nicht bzw. gering exprimiert [67, 69, 70]. Daher kann durch eine SATB2-Negativität eine ovarielle Metastase nicht automatisch ausgeschlossen werden.

### **1.2.2 Neuere Immunhistochemische Marker: REG4, MUC1 und MUC5AC**

Die Verwendung der immunhistochemischen Färbungen REG4, MUC5AC und MUC1 bei muzinösen Ovarialtumoren ist bis dato nicht als Standarddiagnostik etabliert, daher wird im Folgenden genauer auf den theoretischen Hintergrund dieser Proteine eingegangen.

#### *1.2.2.1 REG4*

Das Protein REG gehört zur Familie der Calcium-abhängigen Lectine. REG codiert eine Gruppe sekretorischer Proteine, welche als Akute-Phase-Proteine, Lectine, anti-apoptotische Faktoren und Wachstumsfaktoren fungieren. Es handelt sich dabei um Wachstumsfaktoren für pankreatische Betazellen, Nervenzellen und Epithelzellen des Verdauungstrakts. Die von REG codierten Proteine spielen unter anderem eine wichtige Rolle bei Entzündungsreaktionen, bei der Proliferation und Differenzierung von Zellen sowie bei der Karzinogenese. Abweichende Expression wird mit unterschiedlichen malignen Neoplasien des Gastrointestinaltrakt in Verbindung gebracht [71-73].

REG4 zeigt ein stark auf den Gastrointestinaltrakt begrenztes Expressionsmuster. Es ist ein Marker für intestinale Differenzierung und wird zytoplasmatisch / membranös exprimiert. Studien weisen darauf hin, dass REG4 ein nützlicher Marker für die Identifizierung von muzinösen Karzinomen vom intestinalen Typ bzw. gastrointestinale Differenzierung ist [74].

REG4 wird von muzinösen Ovarialtumoren stärker als von serösen Ovarialtumoren exprimiert [72, 75]. Lehtinen et al. folgert daraus eine Spezifität für muzinöse Ovarialtumoren [76]. Im gesunden Ovarialgewebe fällt die Färbung negativ aus, lediglich in der Tube wird REG4 schwach exprimiert.

Da es in ersten Studien Hinweise darauf gibt, dass die REG4-Expression mit der Dauer des Gesamtüberlebens zusammenhängt, mit Fortschreiten der malignen Transformation verloren geht und stärker in gut als in gering differenzierten Tumoren exprimiert wird, wird in dieser Arbeit unter anderem getestet, ob eine REG4-Expression für eine genauere Graduierung herangezogen werden kann oder zur Karzinogenese beiträgt [75, 76].

#### 1.2.2.2 Muzine MUC1 und MUC5AC

Die Muzine (MUCs) stellen eine große Proteinfamilie dar. Alle MUCs verfügen über repetitive Aminosäuredomänen, an denen sie mit Oligosacchariden glykosyliert werden können. Man unterteilt die Muzine in sekretorische (MUC2, 5AC, 5B, 6) und membrangebundene (MUC1, 4) Muzine.

Sekretorische Muzine werden von Epithelzellen, die mit der Umwelt in Verbindung stehen, produziert. Sekretorische Muzine bilden einen viskösen Schleim, der als Schutz für die Mukosa fungiert. Beispiele dafür sind das Atemwegs-, Magen-, Darm-, Pankreas- und Gallenblasenepithel.

Die membrangebundenen Muzine haben eine hydrophobe, membranüberspannende Domäne, die als Rezeptor für zelluläre Signaltransduktion fungiert. Sie können Signale der extrazellulären Matrix oder von Zytokinen weitergeben, die zu Reaktionen wie Zellproliferation, -differenzierung oder -migration führen können.

##### 1.2.2.2.1 MUC1

MUC1 ist ein membrangebundenes O-Glykoprotein, immunhistochemisch wird es zytoplasmatisch / membranös exprimiert. MUC1 wird in gesundem Gewebe epithelial, perineural und meningoepithelial sowie in Lunge, Brust, Pankreas, Niere, Ovar und Kolon exprimiert [77]. Ferner wird MUC1 bei Karzinomen, synovialen Sarkomen, epitheloiden Sarkomen und Chordomen exprimiert sowie in Meningeomen, Perineuriomen, Plasmazellneoplasien, Mesotheliomen und Adenokarzinomen [39].

MUC1 wird oft in Ovarialkarzinomen, auch muzinösen Ovarialkarzinomen überexprimiert [78-81]. Im gesunden Ovar wird MUC1 dagegen in der Regel nicht exprimiert [82, 83].

Eine MUC1- Expression trägt generell zu Progression und Metastasierung bei und ist daher mit einem schlechteren Überleben assoziiert [78-81]. MUC1 kann in Tumoren als Anti-Adhäsionsmolekül fungieren [87, 88] und durch Vermittlung der Bindung an Proteine der Zelloberfläche wie ICAM1 [89] oder SIGLECS [90] die Adhäsion von Zellen fördern und durch diese Prozesse zur Metastasierung beitragen.

Da MUC1 in Ovarialkarzinomen in der Regel überexprimiert wird, folgerten Wang et al., dass MUC1 ein gutes therapeutisches Ziel für eine Krebstherapie darstellen könnte [83].

Wang et al. stellten bei ihrer Studie die Hypothese auf, dass MUC1 zur Differenzialdiagnostik von primären und sekundären muzinösen Ovarialkarzinomen herangezogen werden könnte, da sich das Färbeverhalten von MUC1 für muzinöse Ovarialtumoren von dem Färbeverhalten von Pankreas-, Gallenblasen-, Ösophagus-, Magen- und kolorektalen Karzinomen unterscheidet [84].

#### 1.2.2.2.2 MUC5AC

MUC5AC ist ein sekretorisches Muzin, welches zytoplasmatisch/ membranös exprimiert wird. Sekretorische Muzine tragen zu Viskosität, Viskoelastizität und Hygroskopizität von Schleim bei. Sie werden in polymere- und nicht polymere Glykokonjugate eingeteilt. MUC 2, MUC5AC, MUC5B und MUC6 gehören zu den polymeren Muzinen. Physiologisch wird MUC5AC im Epithel von Magen und Atemwegen exprimiert [85].

MUC5AC wird verstärkt exprimiert bei Karzinomen des Pankreas, der extrahepatischen Gallengänge, der Appendix, des Magens, des Ösophagus und der Endozervix sowie bei einem geringen Anteil von Lungen- und Endometriumkarzinomen. Bei Karzinomen der Gallenblase, der Ampulla Vateri, des Analkanals und des Kolorektums wird MUC5AC jedoch nicht exprimiert [86, 87].

Laut Albarracin et al. wird MUC5AC von muzinösen Ovarialkarzinomen exprimiert. Da MUC5AC bei kolorektalen Karzinomen nicht exprimiert wird, könnte MUC5AC einen nützlichen Marker für die Differenzialdiagnostik darstellen [84, 88, 89].

Aufgrund von Beobachtungen unter anderem bei Magen- und Pankreaskarzinomen [90-93] folgern Musrap et al., dass MUC5AC generell eine wichtige Rolle bei der Progression von Karzinomen spielt [94]. In den Studien von Wang et al. und Hirabayashi et al. zeigte sich ein Verlust der MUC5AC-Expression bei muzinösen Ovarialkarzinomen im Vergleich zu muzinösen Borderlinetumoren und Adenomen [95, 96].

## 2 Fragestellung und Zielsetzung dieser Arbeit

Ziel der Arbeit war es, anhand retrospektiver Daten sowie der Durchführung etablierter und neuer immunhistochemischer Färbereaktionen weitere Erkenntnisse über die Differentialdiagnostik, Graduierung und Karzinogenese muzinöser Ovarialtumoren zu gewinnen.

Dies geschah vor dem Hintergrund, dass:

-die Abgrenzung zwischen primären Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen auch heute noch immer problematisch ist. Die richtige Einordnung der Herkunft eines Karzinoms ist jedoch die Grundlage für die Einleitung der richtigen Behandlung.

-laut der WHO-Klassifikation keine einheitliche Graduierung für muzinöse Ovarialkarzinome existiert. Durch eine genauere Graduierung können Malignität und Prognose besser eingeschätzt sowie Therapieoptionen besser gegeneinander abgewogen werden [22].

-auch eine genauere Erforschung der Mechanismen, die zu einer Tumorentstehung und Tumorprogression beitragen essenziell ist, da gewonnene Erkenntnisse wichtige Ansatzpunkte für neue Therapiemöglichkeiten darstellen können.

Es ergaben sich folgende Fragestellungen:

1. Lassen sich mit den heutigen immunhistochemischen Untersuchungsmethoden die damals gestellten Diagnosen bestätigen?
2. Lassen sich mithilfe weiterer immunhistochemischer Färbungen muzinöse Neoplasien des Ovars von muzinösen Neoplasien anderen Ursprungs, z.B. Kolon, Pankreas, Gallenblase und -gänge unterscheiden?
  - Handelt es sich hier um organspezifische immunhistochemische Färbungen?
  - Existiert eine Färbekombination, die den verschiedenen Ursprüngen zuzuordnen ist?
3. Korreliert das Expressionsmuster der durchgeführten immunhistochemischen Färbungen mit der Tumordifferenzierung?
  - Zeigt das Expressionsmuster einen Einfluss auf Überlebenszeitanalysen?



-Zeigt das Wachstumsmuster einen Einfluss auf Überlebenszeitanalysen?

-Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Expressions- und dem Wachstumsmuster?

-Besteht die Möglichkeit, ein zweistufiges Graduierungssystem (low- und high-grade) für muzinöse Ovariakarzinome zu entwickeln?

4. Spiegeln einzelne oder kombinierte immunhistochemische Färbungen die Progression einer muzinösen ovariellen Neoplasie (Adenom, Borderlinetumor, Karzinom) wider?

-Lässt sich dies anhand des Tumorstadiums und der Überlebenszeit belegen?

-Könnten diese Ergebnisse in der weiteren Diagnostik hilfreich sein?

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Patientenkollektiv**

Das Kollektiv besteht aus 108 Fällen von Patientinnen aus den Jahren 1985-2015, die aufgrund eines muzinösen Tumors entweder in der Frauenklinik Maistrasse oder in der Frauenklinik des Klinikums Großhadern in München behandelt wurden. Die pathologische Diagnostik wurde vom Pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt. Für diese Arbeit wurde die WHO-Klassifikation von 2020 verwendet. Das Kollektiv setzt sich aus 26 muzinösen Zystadenomen des Ovars, 26 muzinösen Borderlinetumoren des Ovars, 46 muzinösen Karzinomen des Ovars sowie 10 muzinösen Karzinomen unklarer Herkunft zusammen (Tabelle 8). Die Kategorie „unklare Herkunft“ wurde eingeführt für Karzinome, deren Ursprung weder durch die Daten des Tumorregisters noch durch die internen Akten eindeutig festzustellen war. Die Patientinnen waren zum Zeitpunkt der Erstdiagnose 17-87 Jahre alt.

Ursprüngliche Diagnose	Fälle
Muzinöses Zystadenom	26
Muzinöser Borderlinetumor	26
Muzinöses Ovarialkarzinom	46
Muzinöses Karzinom unklarer Genese	10
<b>Gesamt</b>	<b>108</b>

Tabelle 8: Zusammensetzung Kollektiv

Das mittlere Alter bei Erstdiagnose variierte je nach Dignität und Herkunft des Tumors (Tabelle 9). Maligne Tumoren traten durchschnittlich erst im höheren Alter auf.

	Alter bei Erstdiagnose			
	Mittelwert	Median	Std.-Abweichung	Varianz
<b>Adenom</b>	53,77	52,50	15,53	241,07
<b>Borderlinetumor</b>	50,46	47,00	15,31	234,42
<b>Ovarialkarzinom</b>	58,59	60,00	15,59	243,14
<b>Karzinom unklaren Ursprungs</b>	62,40	63,50	10,02	100,49

Tabelle 9: Alter bei Erstdiagnose

Muzinöse Ovarialkarzinome wurden nach den Regeln für endometrioide Ovarialkarzinome graduiert (Abbildung 1). Für die muzinösen Ovarialkarzinome, für die keine Information bezüglich des Gradings vorlag, wurde ein nachträgliches Grading anhand der Originalschnitte durchgeführt.

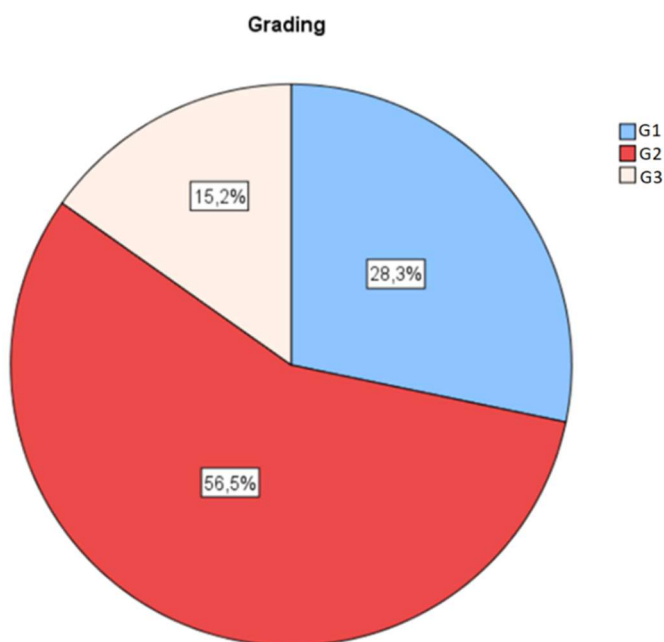


Abbildung 1: Grading für muzinöse Ovarialkarzinome

Es wurden 15,2 % der Ovarialkarzinome in die höchste Kategorie G3 eingestuft, die Einstufung G2 erhielten 56,5% der Ovarialkarzinome und 28,3% wurden als G1 eingestuft. Aufgrund der zahlreichen Untergruppen innerhalb der FIGO-Klassifikation wurden die Patientinnen innerhalb der jeweiligen Hauptgruppe zusammengefasst und auf die weitere Subeinteilung komplett verzichtet.

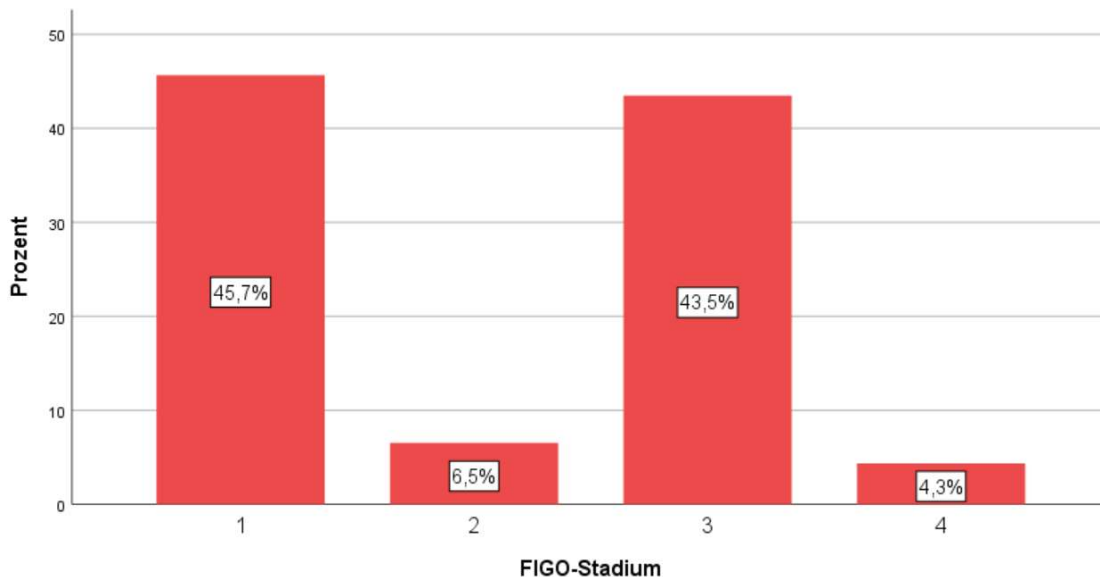


Abbildung 2: FIGO-Klassifikation für muzinöse Ovarialkarzinome

Die Follow-up Daten für Karzinome und Borderlinetumoren wurden vom Tumorregister München am Institut für medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE) der LMU zur Verfügung gestellt (Tabelle 10).

	N	Verstorben (absolute Häufigkeit)	Verstorben (relative Häufigkeit)	Tod tumorabhängig (absolute Häufigkeit)	Tod tumorunabhängig (absolute Häufigkeit)	Nicht beurteilbar (absolute Häufigkeit)	Keine Information (absolute Häufigkeit)
Muzinöses Adenom	26	entfällt	entfällt	entfällt	entfällt	entfällt	entfällt
Muzinöser Borderlinetumor	26	3	11,5%	1	1	0	1
Muzinöses Ovarialkarzinom	46	23	50,0%	14	2	3	4
Karzinom unklaren Ursprungs	10	6	60,0%	5	1	0	0

Tabelle 10: Verteilung der Todesdaten des Tumorregisters

Insgesamt starben 32 Patientinnen, davon 3 Patientinnen mit muzinösen Borderlinetumoren. Von diesen 3 Patientinnen war in einem Fall der Tod tumorabhängig, wobei

die direkte Todesursache aus den zur Verfügung stehenden Daten unklar bleibt und daher sowohl postoperative Komplikationen wie auch eine Tumorprogression in Betracht kommt. Von den 46 Patientinnen mit muzinösen Ovarialkarzinom verstarben 23 Patientinnen, davon war in 14 Fällen der Tod tumorabhängig. Von den 10 Patientinnen mit Karzinomen unklaren Ursprungs verstarben 6 Patientinnen, davon war in 5 Fällen der Tod durch den Tumor bedingt. Das Gesamtüberleben lag zwischen 48 Tagen und über 20 Jahren.

### 3.2 Untersuchungsmaterial

Für die Erstellung des Patientenkollektivs wurden zunächst durch Aktenrecherche Fälle mit muzinösen Neoplasien identifiziert. Als nächstes wurden mit dem Lichtmikroskop die mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbten Schnitte zu den jeweiligen Fällen begutachtet und der Schnitt mit dem größten Tumoranteil ausgewählt. Anschließend wurde zu dem besten HE-Schnitt jedes Falles jeweils der entsprechende Paraffinblock aus dem Archiv gesucht. In den Paraffinblöcken eingebettet befinden sich die Gewebeproben, welche mit Formalin fixiert sind. Aus den Paraffinblöcken wurden mit Hilfe eines Schlittenmikrotoms 12 Leerschnitte pro Fall hergestellt. Die Leerschnitte wurden je nach Dignität mit unterschiedlichen immunhistochemischen Färbungen gefärbt (Tabelle 11).

	<b>SATB2, ER, PR, PAX8, MUC1, MUC5, REG4</b>	<b>CK7, CDx2, CK20</b>
<b>Adenom</b>	Verwendet	<i>Nicht verwendet</i>
<b>Borderlinetumor</b>	Verwendet	<i>Nicht verwendet</i>
<b>Ovarialkarzinom</b>	Verwendet	Verwendet
<b>Muzinöses Karzinom unklarer Genese</b>	Verwendet	Verwendet

*Tabelle 11: Verwendete Färbungen nach Dignität*

Alle invasiven Karzinome wurden mit den genannten Färbungen gefärbt. CK7, CK20 und CDX2 sind Standardmarker für die Differentialdiagnostik von primären und sekundären Ovarialkarzinomen, ihre Untersuchung ist bei gutartigen Tumoren oder Borderlinetumoren nicht notwendig.

### 3.3 Geräte, Materialien, Chemikalien

#### 3.3.1 Geräte

Brutschrank	Memmert GmbH & Co.KG, Schwabach, D
Fotomikroskop	Leica DMD108 Leica, Wetzlar, D
Kühlschrank	AEG, Berlin, D
Lichtmikroskop	Carl Zeiss, Oberkochen, D
Magnetrührer IKAMAG	IKA Werke, Staufen, D
Mikrowelle	Miele & Cie. KG, Gütersloh, D
pH-Meter	WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Weilheim, D
Rotationsmikrotom	Microm International GmbH, Walldorf, D
Software	SPSS 25.0, SPSS Inc., IBM, Chicago, USA PathoPro, Ifms GmbH, Saarbrücken, D
Tissue-Tek Prisma®	Sakura Finetek, Alphen aan den Rijn, NL
Trockenschrank	Bestand des Pathologischen Instituts
Ventana Benchmark Ultra	Roche Diagnostics, Mannheim, D
Vortex Genie 2	Bender & Hobein, Zürich, S
Waage	Sartorius AG, Göttingen, D
Wasserbad	MEDAX GmbH & Co.KG, Kiel, D

### 3.3.2 Materialien

Deckgläser	Menzel GmbH&Co.KG, Braunschweig, D
Eppendorfggefäße	Eppendorf AG, Hamburg, D
Glasküvetten	Bestand des Pathologischen Instituts
Messzylinder	Bestand des Pathologischen Instituts
Objektträger SuperFrost Plus	Menzel GmbH&Co.KG, Braunschweig, D
Pipetten/-spitzen	Eppendorf AG, Hamburg, D

### 3.3.3 Chemikalien

Amplification Kit	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
Antibody Diluent	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
Aqua dest.	Apotheke Innenstadt LMU, München, D
Aquatex	Merck Millipore, Merck KGaA, Darmstadt, D
Bluing Reagent	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
Ethanol	Apotheke Innenstadt LMU, München, D
EZ Prep (10x)	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
H2O2	Carl Roth GmbH& Co. HG, Karlsruhe, D
Hematoxylin Gill's Formula	Vector Laboratories, Burlingame, USA
Hematoxylin	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
ImmPRESS Reagent Kit Anti-RABBIT Ig	Vector Laboratories, Inc., Burlingame, USA
Leitungswasser	
Liquid DAB+ Substate	Agilent Technologies, Santa Clara, USA
Paraffin	Histosec Pastillen ohne Dimethylsulfoxid, Merck KGaA, Darmstadt, D
ProTaqS IV Antigen Enhancer	Quartett GmbH, Berlin, D
Protease 1	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
Reaction Buffer Concentrate	Ventana Medical Systems, Tucson, USA

Tissue-Tek® Coverslipping Film	Sakura Finetek, Alphen aan den Rijn, NL
TRIS Puffer 0,05M:	34,25g Trizma Hydrochlorid, Merck KGaA, Darmstadt, D
	43,90g Sodium Chlorid Merck, Darmstadt, D
	4,50g Trizma base Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
	5l Aqua dest., Apotheke Innenstadt LMU, München, D
ULTRA Cell Conditioning Solution1	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
ULTRA LCS (Predilute)	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
ultraView Universal DAB Detection Kit	Ventana Medical Systems, Tucson, USA
Xylol	Apotheke Innenstadt LMU München, D

### 3.4 Immunhistochemie

#### 3.4.1 Grundlagen

Die Immunhistochemie ist ein immunologisches Verfahren, um membranöse, nukleäre oder zytoplasmatische Antigenstrukturen zu identifizieren und zu lokalisieren. Die Zielstrukturen des Primärantikörpers können durch Antigen-Antikörper-Bindung und Färbung der entstehenden Immunkomplexe lichtmikroskopisch sichtbar gemacht werden. Zielantigene können beispielsweise Oligosaccharide oder Polypeptide sein. Als Material für immunhistochemische Untersuchungen kommen beispielsweise Körperflüssigkeiten, Zellen aus Zellkulturen oder in Paraffin eingebettetes Gewebe infrage.

Man unterscheidet die direkte und die indirekte Immunhistochemie. Bei der direkten Methode ist an den Primärantikörper ein Detektionssystem gekoppelt (z.B. ein Enzym oder ein fluoreszenter Farbstoff). Bei Bindung des gekoppelten Primärantikörpers an das Epitop des Antigens kommt es zur Färbereaktion.

Bei der indirekten Immunhistochemie ist das Detektionssystem an den Sekundärantikörper gekoppelt, welcher nach Bindung des Primärantikörpers an das Epitop des

Antigens an den Primärantikörper bindet. Hier kann eine Verstärkung der Färbereaktion erreicht werden, da an einen Primärantikörper mehrere Sekundärantikörper binden können.

Für diese Arbeit wurde die indirekte Immunhistochemie mit der HRP-Methode zur Detektion angewendet. Für die Detektion wird hier Meerrettichperoxidase (Horse Radish Peroxidase = HRP) verwendet, das Substrat der Peroxidase ist DAB (Diaminobenzidin). Die Meerrettichperoxidase oxidiert das DAB, so wird unlösliches Präzipitat mit brauner Farbe gebildet. Dieses kann im Lichtmikroskop detektiert werden.

### **3.4.2 Immunhistochemische Färbung**

#### *3.4.2.1 Vorbereitung*

Zur Herstellung von Paraffinblöcken wird das Gewebe zunächst zurechtgeschnitten und in neutral gepuffertem Formalin fixiert. Das Gewebe wird danach gespült und anschließend dehydriert. Das dehydrierte Gewebe wird in Paraffin eingebettet, dies wird zu Blöcken geschnitten und in Kassetten übertragen.

Im nächsten Schritt werden Leerschnitte hergestellt, indem 2-3 µm dicke Gewebsschnitte mit einem Schlittenmikrotom von den Blöcken geschnitten werden. Die Schnitte werden in ein 43°C warmes Wasserbad gegeben. Dann werden die Gewebsschnitte auf beschichtete SuperFrost Plus® Objektträger übertragen, fixiert und getrocknet.

#### *3.4.2.2 Durchführung der immunhistochemischen Färbungen*

Die immunhistochemischen Färbungen mit SATB2, MUC1, MUC5AC, PAX8, ER, PR, CK7, CK20, CDX2 erfolgten im Labor des Pathologischen Instituts München durch das vollautomatische Färbemodul Ventana Benchmark Ultra (Tabelle 12). Nur die immunhistochemische Färbung mit REG4 erfolgte manuell, da diese Färbung am Vollautomaten (Ventana Benchmark Ultra) nicht etabliert war. Aus diesem Grund wird in dieser Arbeit nur für REG4 ein ausführliches Färbeprotokoll aufgeführt.



AK	Verdünnung	Vorbehandlung	Inkubationszeit (min)	Nachbehandlung	Klon	Spezies	Hersteller
CDX2	1:50	64' CC1	28	Ultrawash	EPR2764y	monoclonal rabbit	A
CK7	1:500	4' Protease 1	12	---	OV-TL12/30	monoclonal mouse	A
CK20	1:500	4' Protease 1	8	Ultrawash	KS20.8	monoclonal mouse	A
ER	ready to use	64' CC1	28	---	SP1	monoclonal rabbit	C
MUC1	1:200	36' CC1	28	---	VU4H5	monoclonal mouse	B
MUC5AC	1:500	64' CC1	28	---	CLH2	monoclonal mouse	A
PAX8	ready to use	64' CC1	28	---	MRQ-50	monoclonal mouse	A
SATB2	1:500	64' CC1	28	---	EP281	monoclonal rabbit	A
PR	ready to use	64' CC1	16	---	1E2	monoclonal rabbit	B

Tabelle 12: Mit dem Färbemodul Ventana Benchmark Ultra verwendete Antikörper (A: Medac, B: Ventana, C: Sana Cruz)

Ventana Benchmark Ultra verwendet die indirekte Immunhistochemie für die vorliegenden Färbungen. Die dazu benötigten Reagenzien können kommerziell als Kit erworben werden. Das passende Chromogen kann unter dem jeweiligen Detektionssystem-Kit gefunden werden. Die Detektion erfolgte bei allen mit Ventana verwendeten Färbungen mit dem ultraView Universal DAB Detection Kit, das Chromogen ist hier Universal DAB (3,3'Diaminobenzidin). Im Folgenden wird ein beispielhaftes Färbeprotokoll für den vollautomatischen Ventana Benchmark ULTRA aufgeführt:

#### Färbeprotokoll Ventana Benchmark ULTRA:

1. Backen: Erwärmen des Objektträgers und Inkubation
2. Entparaffinierung des Schnittes
3. Absenkung Temperatur des Objektträgers von 72°C auf mittlere Temperaturen
4. Vorbehandlung mit Hitze
5. Zellaufbereitung mit ULTRA Cell Conditioning (ULTRA CC1) oder Protease 1
6. Erwärmen des Objektträgers und Inkubation mit ULTRA CC1/ Protease 1
11. Definition Temperatur für Inkubation des Antikörpers
12. Erwärmen des Objektträgers und Inkubation
13. Titration des Primärantikörpers
14. Auftragen des Primärantikörper und Inkubation
15. Auftragen der Gegenfärbung, Auftragen von LCS, Inkubation
16. Auftragen der Nach-Gegenfärbung, Auftragen von LCS, Inkubation

Die indirekte immunhistochemische REG4-Färbung erfolgte manuell im Pathologischen Institut der LMU. Als Detektionssystem wurde das ImmPRESS Reagent Kit Anti-RABBIT IgG der Firma Vektor verwendet und damit die HRP-Polymer Methode.

AK	Verdünnung	Vorbehandlung	Inkubationszeit	Nachbehandlung	Klon	Spezies	Hersteller
REG4	1:150	Pro Taqs IV Antigen Enhancer	60 min	-	polyclonal	monoclonal rabbit	Atlas Antibodies

Tabelle 13: Daten zu dem Antikörper REG4

### Färbeprotokoll REG4:

Entparaffinierung

Vorbehandlung:

Mikrowelle 750W: Pro Taqs IV Antigen Enhancer (FA Quartett)

Kochzeit: 2 mal 15 Minuten.

20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen

2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer (pH 7,5)

Blockierung der endogenen Peroxidase.

10 Minuten 7,5% wässriges Wasserstoffperoxid bei Raumtemperatur

10 Minuten fließend wässern

2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer

20 Minuten Blocking Serum (ImPRESS Reagent-Kit)

Überstand abkippen

Primär-AK REG4 1:150

Inkubationszeit: 60 Minuten Raumtemperatur.

2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.

30 min Anti-Rabbit Ig (ImPRESS Reagent-Kit, Fa.Vector)

2 mal 5 Minuten Spülung in TRIS-Puffer.

Chromogen: DAB+ (Fa. Agilent Technologies)

10 Minuten fließend wässern.

Gegenfärbung: 10 Sekunden Hematoxylin Gill's Formula (Fa. Vector)

10 Minuten fließend wässern.

Eindecken mit Aquatex (Fa. Merck)

### 3.5 Mikroskopische Auswertung

Die Auswertung aller immunhistochemischen Färbungen erfolgte mit dem Lichtmikroskop. Dabei wurde erfasst, ob die Färbung der Tumorzellen gemäß dem erwarteten Reaktionsmuster (zytoplasmatisch / membranös oder nukleär) positiv ausfiel. Außerdem wurde die Intensität der Färbung und der Anteil positiver Zellen durch den sogenannten immunreaktiven Score erfasst, der im Folgendem genauer erklärt wird.

#### 3.5.1 Immunreaktiver Score (IRS)

Die Auswertung aller Färbungen erfolgte mit Hilfe des immunreaktiven Scores. Der immunreaktive Score wurde 1987 von Remmele und Stegner für die Ermittlung des Hormonrezeptorstatus bei Mammakarzinomen eingeführt. Der immunreaktive Score hat sich allgemein bewährt und wird mittlerweile auch als Bewertungsgrundlage für andere immunhistochemische Färbungen verwendet [97, 98].

Der Score beruht auf semiquantitativen Bewertungen: der immunreaktive Score (IRS) ist das Produkt aus der Färbeintensität (staining intensity = SI) und dem prozentualen Anteil positiver Zellen an der gesamten Tumormasse (positive cells = PC), siehe Tabelle 14. Das Ergebnis kann Werte zwischen 0 und 12 annehmen [98].

Färbeintensität (SI)	Score	Anteil positiver Zellen (PC)	Score
Keine Färbung nachweisbar	0	Negativ	0
Schwache Färbeintensität	1	Weniger als 10% positive Zellen	1
Mäßige Färbeintensität	2	10-50% positive Zellen	2
Starke Färbeintensität	3	51-80% positive Zellen	3
		Mehr als 81% positive Zellen	4

Tabelle 14: Definition Färbeintensität und Anzahl positiver Zellen für den immunreaktiven Score [97, 98]

#### 3.5.2 Auswertung

Für jede immunhistochemische Färbung wurde entsprechend klinischen Erfahrungen und Literatur festgelegt, ab welchem Wert des immunreaktiven Scores die Färbung als positiv zu werten ist (Tabelle 15).

	Auswertung Expression	
	Negativ	Positiv
<b>PAX8</b>	IRS ≤ 1 IRS= 2, wenn PC<10%	IRS >2, IRS=2 bei PC ≥10%
<b>PR</b>	IRS =0	IRS ≥1
<b>ER</b>		
<b>CK7</b>	IRS ≤ 1	IRS>1
<b>CK20</b>	IRS ≤ 1	IRS>1
<b>CDX2</b>	IRS ≤ 1	IRS>1
<b>SATB2</b>	IRS=0	IRS ≥1
<b>MUC1</b>	IRS=0	IRS ≥1
<b>MUC5</b>	IRS=0	IRS ≥1
<b>REG4</b>	IRS=0	IRS ≥1

Tabelle 15: Cut-offs für die Auswertung der verwendeten Färbungen [39, 77]

### 3.6 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Statistik-Programm SPSS Version 25.

Die deskriptiven Daten wurden unter anderem mittels absoluter und relativer Häufigkeit sowie Mittelwert, Median, Varianz und Standardabweichung dargestellt.

Generell wurde zweiseitig getestet und ein P-Wert von < 0,05 als statistisch signifikant gewertet. Signifikante Ergebnisse wurden in den Tabellen des Ergebnisteils gelb markiert.

Durch Kontingenzanalysen mittels dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson und dem exakten Fisher-Test, welcher bei einer erwarteten Häufigkeit <5 durchgeführt wird, werden zwei oder mehrere kategorial skalierte Variablen auf signifikante Zusammenhänge hin untersucht.

Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman (Spearman's-Rho) wurde angewendet, um die Stärke eines Zusammenhangs zwischen zwei mindestens ordinalskalierten Variablen aufzuzeigen.

Mit Hilfe von Kaplan-Meier Kurven wurden Überlebenszeitanalysen durchgeführt. Der Log-Rank-Test diente hierbei dem Vergleich des Einflusses unterschiedlicher Faktoren bezüglich deren Einfluss auf die Überlebensraten.

Um zu untersuchen, ob vermutete Einflussgrößen auch unter Berücksichtigung anderer Einflussfaktoren einen prognostischen Wert für die Überlebensverteilung besitzen, wurden Cox-Regressionsanalysen (proportionales Hazard-Modell) als multivariate Überlebenszeitanalyse angewendet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Deskriptive Statistik

#### 4.1.1 Ergebnisse der Färbungen

##### 4.1.1.1 Ergebnisse etablierter Färbungen (CK20, CK7, CDX2, ER, PR, PAX8, SATB2)

In Tabelle 16 wurden die Ergebnisse der Auswertung der konventionellen immunhistochemischen Färbungen sowohl in absoluten als auch in relativen Zahlen angegeben. In Abbildung 3 wurden jeweils Färbebeispiele gezeigt.

		Adenom		Borderlinetumor		Ovarialkarzinom		Karzinom anderen Ursprungs	
		Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv
CK20	Absolut	entfällt		Entfällt		12	34	0	10
	Relativ					26,1%	73,9%	0,0%	100,0%
CK7	Absolut					3	43	4	6
	Relativ					6,5%	93,5%	40,0%	60,0%
CDX2	Absolut					13	33	0	10
	Relativ					28,3%	71,7%	0,0%	100,0%
ER	Absolut	17	9	18	8	37	9	8	2
	Relativ	65,4%	34,6%	69,2%	30,8%	80,4%	19,6%	80,0%	20,0%
PR	Absolut	12	14	16	10	33	13	8	2
	Relativ	46,2%	53,8%	61,5%	38,5%	71,7%	28,3%	80,0%	20,0%
Pax8	Absolut	10	16	12	14	25	21	8	2
	Relativ	38,5%	61,5%	46,2%	53,8%	54,3%	45,7%	80,0%	20,0%
SATB2	Absolut	26	0	26	0	39	7	2	8
	Relativ	100,0%	0,0%	100,0%	0,0%	84,8%	15,2%	20,0%	80,0%

Tabelle 16: Relative und absolute Verteilung der konventionellen immunhistochemischen Färbungen im untersuchten Kollektiv nach Dignität bzw. Ursprung



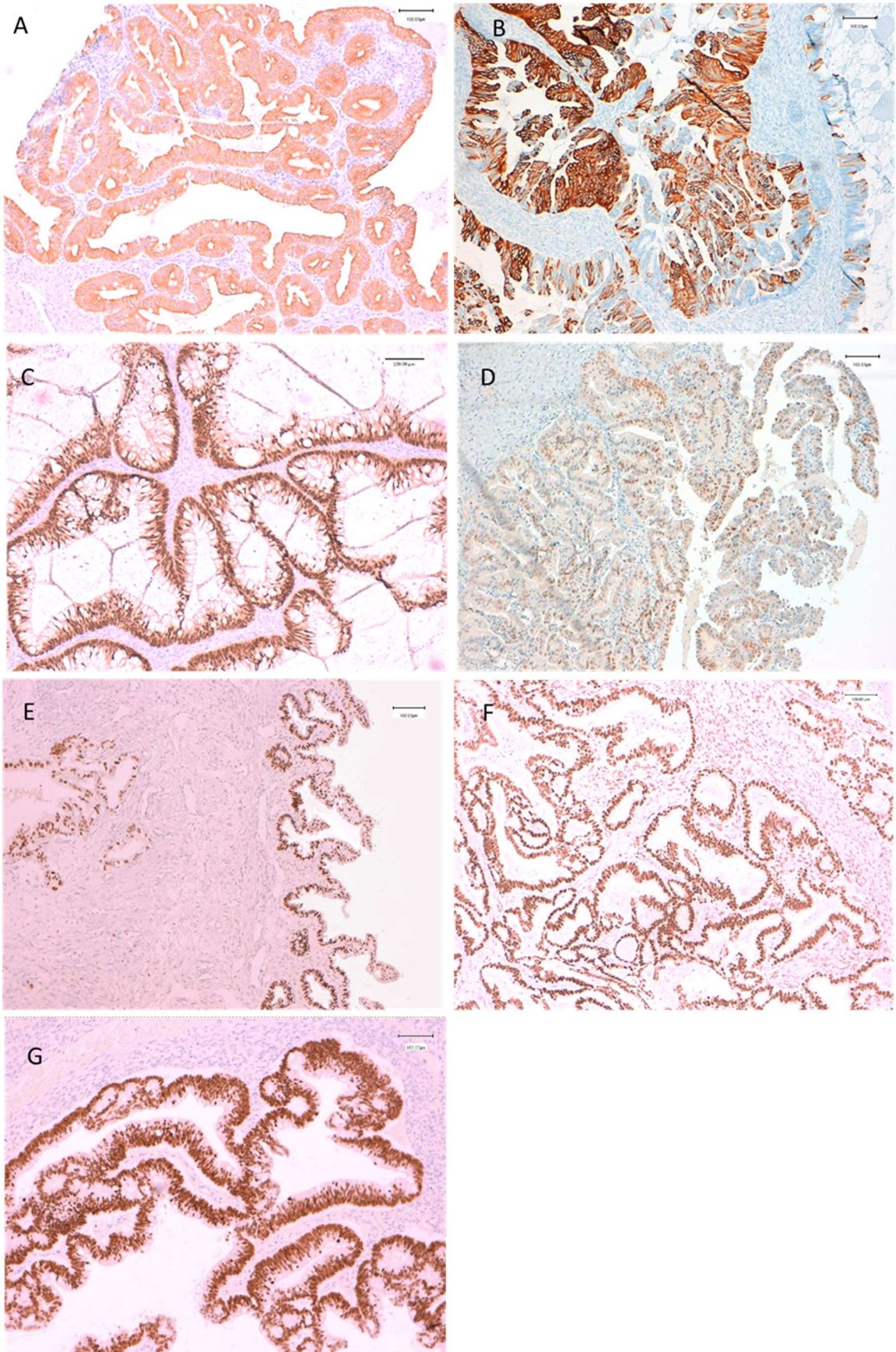


Abbildung 3: A: Beispiel CK7-Expression (Fall 328) , B: Beispiel CK20-Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 321) , C: Beispiel CDX2-Expression (Fall 309) , D: Beispiel PAX8-Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 326) E: Beispiel ER $\alpha$  -Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 341) F: Beispiel PR-Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 305), G: Beispiel SATB2-Expression ( Fall 312)

#### 4.1.1.2 Ergebnisse neuer Färbungen (MUC1, MUC5AC, REG4)

Auch die Ergebnisse der Auswertung der neuen immunhistochemischen Färbungen MUC1, MUC5AC und REG4 wurden in absoluten und relativen Zahlen angegeben (Tabelle 17). In Abbildung 4 werden jeweils Färbebeispiele gezeigt.

Dignität		MUC1		MUC5AC		REG4	
		Absolut	Relativ	Absolut	Relativ	Absolut	Relativ
Adenom	Negativ	1	3,8%	3	11,5%	0	0,0%
	Positiv	25	96,2%	23	88,5%	26	100,0%
Borderline-tumor	Negativ	3	11,5%	8	30,8%	0	0,0%
	Positiv	23	88,5%	18	69,2%	26	100,0%
Ovarialkarzinom	Negativ	2	4,3%	29	63,0%	4	8,7%
	Positiv	44	95,7%	17	37,0%	42	91,3%
Karzinom anderen Ursprungs	Negativ	3	30,0%	8	80,0%	0	0,0%
	Positiv	7	70,0%	2	20,0%	10	100,0%

Tabelle 17: prozentuale und absolute Verteilung der neuen immunhistochemischen Färbungen nach Dignität bzw. Ursprung

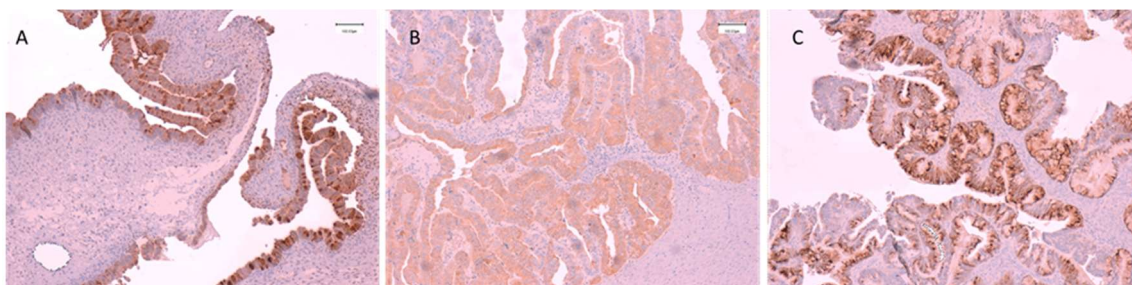


Abbildung 4: Beispiel REG4-Expression bei einem muzinösen Karzinom unklarer Genese (Fall 402), B: Beispiel MUC1-Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 326) C: Beispiel MUC5 Expression bei einem muzinösen Karzinom unklarer Genese (Fall 322)

#### 4.1.2 Nachträgliche Untersuchung auf seromuzinöse Differenzierung

Als nächstes wurden alle CDX2-negativen Tumoren auf seromuzinöse Differenzierung hin mikroskopisch untersucht. Dies war notwendig, da die Gruppe der seromuzinösen Tumoren im Jahr 2014 durch die WHO-Klassifikation definiert wurde, die Fälle aus dem Kollektiv jedoch bis ins Jahr 1985 zurück gehen.

In 5 Fällen wurde eine seromuzinöse Differenzierung nachgewiesen. Bei zwei Fällen handelte es sich um seromuzinöse Adenome (Fallnummer 104 und 124), bei zwei weiteren Fällen um seromuzinöse Borderlinetumoren (Fallnummer 212 und 219) und in einem Fall um ein endometrioides (nach der alten WHO-Klassifikation seromuzinöses) Ovarialkarzinom (Fallnummer 345). In den folgenden Analysen wurden die



seromuzinösen Tumoren aus den Berechnungen genommen und nur Tumoren mit muzinöser Differenzierung einbezogen. Die Zusammensetzung des Kollektivs ändert sich dadurch im Vergleich zum ursprünglichen Kollektiv (vgl. Tabelle 18) wie folgt:

<b>Ursprüngliche Diagnose</b>	<b>Fälle</b>
Muzinöses Zystadenom	24
Muzinöser Borderlinetumor	24
Muzinöses Ovariakarzinom	45
Muzinöses Karzinom unklaren Ursprungs	10
Gesamt	<b>103</b>

*Tabelle 18: Zusammensetzung Kollektiv ohne seromuzinöse Tumoren*

## 4.2 Re-Evaluation Diagnosen

In den letzten Jahren haben sich durch die Etablierung von neuen immunhistochemischen Markern wie SATB2 die Möglichkeiten der Unterscheidung von primären Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen deutlich verbessert. SATB2 positive Ovarialkarzinome sind hoch suspekt und weisen auf einen Ursprung aus dem Gastrointestinaltrakt hin. Die Verwendung des Markers wurde jedoch erst mit der S3-Leitlinie „Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren“ aus dem Jahr 2018 diagnostischer Standard. Da die ältesten Fälle des Kollektivs aus dem Jahr 1985 stammen, war nach Fertigstellung aller immunhistochemischen Färbungen eine Re-Evaluation nach heutigen Standards nötig. Überprüft wurden alle SATB2 positiven Ovarialkarzinome sowie alle Karzinome unklarer Herkunft aus Kategorie vier. Dabei wurden Informationen aus Patientenakten, Expressionsmuster aller durchgeführten immunhistochemischen Färbungen und die Histomorphologie anhand der originalen HE-Schnitte einbezogen. In Zusammenschau aller vorliegenden Daten ergaben sich folgende Änderungen der Diagnosen, die in Tabelle 19 dargestellt werden:

Endgültige Diagnose nach Re-Evaluation der initialen Diagnose muzinöses OVCA	N=45	Fälle 300-344	Datum Diagnose
Endgültige Diagnose: muzinöses OVCA	39		
Endgültige Diagnose: unklar	2	308 (eher oberer GIT)	04.11.2010
		334 (eher Colon)	17.02.2006
Endgültige Diagnose: Kolonkarzinom	4	309	04.09.2008
		312	13.01.2011
		328	10.05.2010
		338	24.04.1991

Tabelle 19: Änderungen der Diagnose in der Kategorie Ovarialkarzinome

Endgültige Diagnose nach Re-Evaluation der initialen Diagnose muz. Karzinom unklaren Ursprungs	N=10	Fälle 400-409	Datum Diagnose
Endgültige Diagnose: weiterhin unklar	2	402	14.04.2003
		408	22.02.2002
Endgültige Diagnose: muzinöses OVCA	1	406	28.11.2013
Endgültige Diagnose: Dickdarmkarzinom	6	400	23.01.2004
		403	24.11.2004
		404	09.05.2008
		405	14.08.2014
		407	23.09.2011
		409	16.05.2003
Endgültige Diagnose: Endometriumkarzinom	1	401	13.02.2004

Tabelle 20: Änderungen in der Kategorie „muzinöses Karzinom unklaren Ursprungs“

In Tabelle 21 wurden klinische Daten zu den untersuchten Fällen zusammengetragen, welche wichtige Informationen zum Krankheitsverlauf geben.

Fall	initiale DX	DX nach Re-Evaluation	Zeitlicher Verlauf Diagnosen	Alter bei ED	Datum ED	Letztes Follow-up	Follow-up Status
308	1	2	2008 DX Dickdarmkarzinom, KRAS+ 2010 DX muzinöses OVCA	53	04.11.2010	09.05.2015	B
309	1	3	2007 KRAS positives Zökumkarzinom 2008 ED muz. Ovarialkarzinom 2010 Rezidiv Zökumkarzinom 2012 Rezidiv Zökumkarzinom	53	04.09.2008	18.02.2016	A
312	1	3	2011 muzinöses OVCA	71	13.01.2011	18.01.2011	B
328	1	3	2010 muzinöses OVCA 2011 Rezidiv OVCA 2012 Rezidiv OVCA 2014 Metastase OVCA in Mamma (li)	61	10.05.2010	09.09.2013	B
334	1	2	2004 met. Gallenblasenkarzinom 2006 muzinöses OVCA	69	17.02.2006	04.01.2007	A
338	1	3	1991 muzinöses OVCA mit Pseudomyxoma peritonei	87	24.04.1991	23.07.1993	A
400	2	3	2004 Infiltration Weichgewebe durch CA, vereinbar mit muz. OVCA/CA GIT	66	23.01.2004	29.11.2004	A
401	2	4.	2004 muz. Korpuskarzinom des Uterus, simultan Adnex li: muzinöses/ serös-papilläres Karzinom	44	13.02.2004	30.03.2017	B
402	2	2	2003 muz. Adenokarzinom (Adnexe, Netz), Ursprung Pankreas/ OVCA	69	14.04.2003	12.02.2004	A
403	2	3	2004 muz. Adenokarzinom	82	24.11.2004	11.01.2005	A
404	2	3	Bekanntes OVCA 2008 muzinöses Adenokarzinom Leber Metastase OVCA oder Colon-CA	64	09.05.2008	12.03.2009	A
405	2	3	2004 muz. Adenokarzinom (Adnexe, Weichgewebe), Herkunft Ovar / GIT	60	14.08.2014	15.08.2014	B
406	2	1	Zustand nach „Zervix- oder OVCA“ 2013 muz. Adenokarzinom (Rektum), Ausgang Ovar/ Uterus/ Endozervix 2016 Mammakarzinom	52	28.11.2013	12.06.2018	C
407	2	3	2011 muz. Adenokarzinom (Omentum) OVCA oder Appendixkarzinom	63	23.09.2011	20.09.2011	B
408	2	2	2002 muz. Colon-CA 2002 Änderung DX zu muz Ovarial- karzinom aufgrund Makroskopie (Infiltration Uterus, Netz)	59	22.02.2002	17.05.2003	A
409	2	3	2003 muz. Adenokarzinom (Adnex re) Herkunft Ovar oder Colon	64	16.05.2003	14.02.2004	A

Tabelle 21: Relevante Daten der reevaluierten Fälle (1: muz. OVCA, 2: muz. Karzinom unklaren Ursprungs, 3: Kolonkarzinom, 4: Endometriumkarzinom, A: verstorben, B: lebt, lost to follow up, C: lebt)

Die vier fälschlicherweise als muzinöse Ovarialkarzinome diagnostizierten Dickdarmkarzinome stammen aus den Jahren 1991-2011.

Tabelle 22 zeigt die Zusammensetzung des Kollektivs nach der Re-Evaluation:

Tatsächliche Diagnose	Fälle
Adenom	24
Borderlinetumor	24
Ovarialkarzinom	40
Dickdarmkarzinom	10
Karzinom unklaren Ursprungs	4
Endometriumkarzinom	1
<b>Gesamt</b>	<b>103</b>

Tabelle 22: Zusammensetzung Kollektiv nach Re-Evaluation

### 4.3 Weitere Untersuchungen am reevaluierten Kollektiv

#### 4.3.1 Erhebung Wachstumsmuster

Das Wachstumsmuster ist eine wichtige Information, anhand welcher die Prognose von Patientinnen mit muzinösen Ovarialkarzinom besser abgeschätzt werden kann. In Abbildung 6 werden Beispiele für das invasive/destruktive sowie für das expansive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom dargestellt. Es wurde nach den in der Einleitung genannten Kriterien durch mikroskopische Untersuchung bestimmt. Die Erhebung des Wachstumsmusters wurde nach der Re-Evaluation durchgeführt. Bei 55,0% aller 40 muzinösen Ovarialkarzinome lag ein expansives Wachstumsmuster vor, in 37,5% ein destruktives.

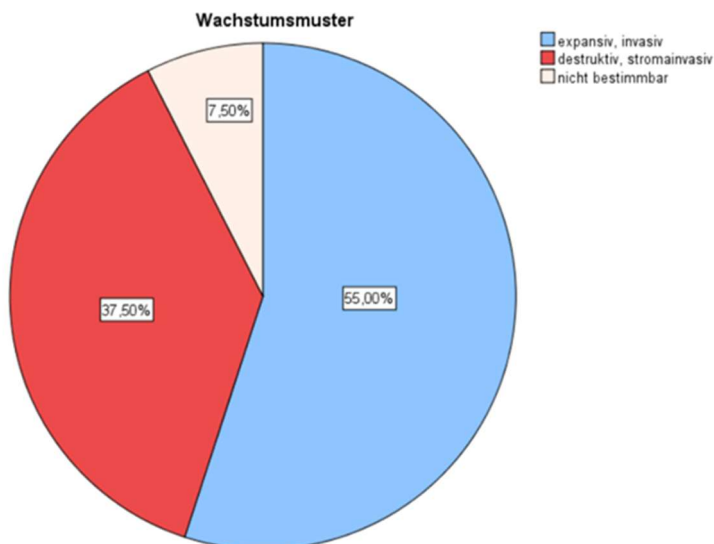


Abbildung 5: Wachstumsmuster muzinöser Ovarialkarzinome (n =40)

Bei den 7,5% der muzinösen Ovarialkarzinome, bei denen kein Wachstumsmuster bestimmbar ist, handelt es sich um 3 Karzinome (Fälle 323, 336, 406), bei denen kein Material des Primärtumors, sondern nur Metastasengewebe im Pathologischen Institut vorhanden war. Bei den zugehörigen wurden diese drei Fälle daher ausgeschlossen.

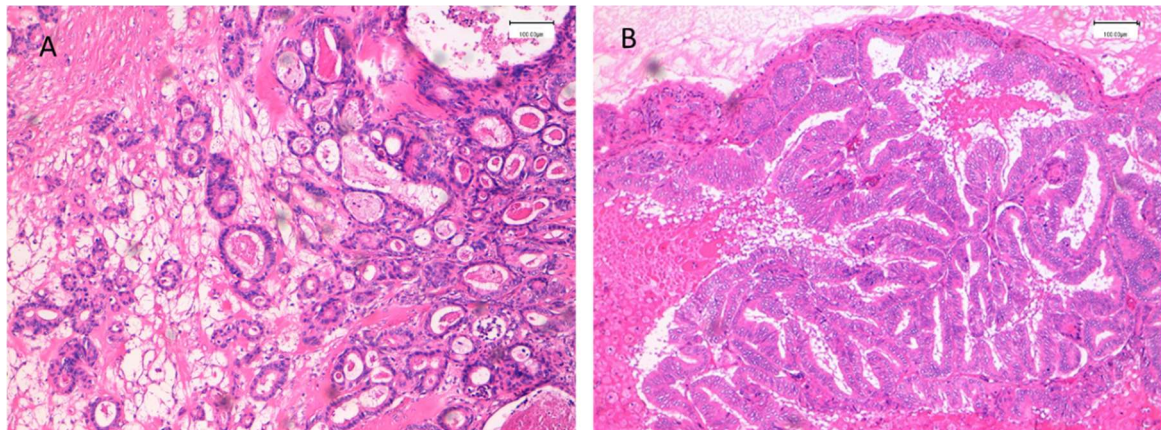


Abbildung 6: A: Beispiel für das invasive/destruktive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 305, Färbung: HE), B: Beispiel für das expansive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 300, Färbung: HE)

#### 4.3.2 Gegenüberstellung der immunreaktiven Scores von muzinösen Ovarial- und Dickdarmkarzinomen

In Tabelle 23 wurden die Werte der beobachteten immunreaktiven Scores (IRS) von Dickdarmkarzinomen und muzinösen Ovarialkarzinomen einander gegenübergestellt.

	IRS Dickdarmkarzinome	IRS muzinöse Ovarialkarzinome
<b>SATB2</b>	6-12	0-4
<b>MUC1</b>	0-6	2-9
<b>MUC5</b>	0-4	0-9
<b>REG4</b>	3-12	0-12
<b>PAX8</b>	0-1	0-9
<b>PR</b>	0-2	0-9
<b>ER</b>	0	0-6
<b>CK7</b>	0-4	2-9
<b>CK20</b>	6-12	0-9
<b>CDX2</b>	3-12	0-9

Tabelle 23: Werte aller immunreaktiven Scores von Ovarialkarzinomen und Dickdarmkarzinomen

## 4.4 Induktive Statistik

### 4.4.1 Differentialdiagnostik muzinöser Ovarial- und Dickdarmkarzinome

Um organspezifische Expressionsmuster zu identifizieren, wurden die Expressionsmuster der immunhistochemischen Färbungen von muzinösen Ovarialkarzinomen und Kolonkarzinomen bezüglich des Ursprungs durch Kontingenzanalysen verglichen (Tabelle 24).

	Kontingenzanalyse Expressionsmuster Färbung/ Herkunft (Colon oder Ovar)
	Exakter Test nach Fisher (1-seitig)
	P-Wert
CK7	0,000
CK20	0,062
CDX2	0,062
ER	0,109
PR	0,421
PAX8	0,003
MUC1	0,001
MUC5AC	0,055
REG4	0,397
SATB2	0,000

Tabelle 24: Ergebnisse Kontingenzanalyse Expressionsmuster immunhistochemische Färbung/ Herkunft Karzinom

Bei den immunhistochemischen Färbungen SATB2, CK7, PAX8 und MUC1 unterscheidet sich das Expressionsmuster signifikant in Bezug auf die Herkunft des Karzinoms (P-Werte: 0,000; 0,000; 0,003; 0,001). Bei den Färbungen CK20, CDX2 und MUC5AC zeigt sich ein Trend zur Signifikanz. Die Kreuztabellen zu den signifikanten Färbungen werden im Folgenden aufgeführt.

		SATB2		Gesamt
		Negativ	Positiv	
OVCA	Absolut	37	3	40
	Relativ	92,5%	7,5%	
Colon-CA	Absolut	0	10	10
	Relativ	0,0%	100,0%	
		37	13	50

Tabelle 25: Kreuztabelle Expression SATB2/ Herkunft Karzinom

Insgesamt exprimieren 100% aller Dickdarmkarzinome SATB2. Bei Ovarialkarzinomen wird SATB2 in 92,5% aller Fälle nicht exprimiert.

		CK7		Gesamt
		Negativ	Positiv	
<b>OVCA</b>	Absolut	0	40	40
	Relativ	0,0%	100,0%	
<b>Colon-CA</b>	Absolut	6	4	10
	Relativ	60,0%	40,0%	
		6	44	50

Tabelle 26: Kreuztabelle Expression CK7/ Herkunft Karzinom

Die immunhistochemische Färbung CK7 wird von 100% aller Ovarialkarzinome exprimiert, bei Dickdarmkarzinomen beträgt die Expression von CK7 dagegen 40%.

		PAX8		Gesamt
		Negativ	Positiv	
<b>OVCA</b>	Absolut	20	20	40
	Relativ	50,0%	50,0%	
<b>Colon-CA</b>	Absolut	10	0	10
	Relativ	100,0%	0,0%	
		30	20	50

Tabelle 27: Kreuztabelle Expression PAX8/ Herkunft Karzinom

Die Färbung PAX8 wird von 50,0% aller Ovarialkarzinome exprimiert. Im untersuchten Kollektiv wird PAX8 von Dickdarmkarzinomen nicht exprimiert.

		MUC1		Gesamt
		Negativ	Positiv	
<b>OVCA</b>	Absolut	0	40	40
	Relativ	0,0%	100,0%	
<b>Dickdarm</b>	Absolut	4	6	10
	Relativ	40,0%	60,0%	
		4	46	50

Tabelle 28: Kreuztabelle Expression MUC1/ Herkunft Karzinom

Im untersuchten Kollektiv exprimieren 100% aller Ovarialkarzinome MUC1, die Expression bei Dickdarmkarzinomen beträgt 60%.

#### 4.4.2 Untersuchungen zur Graduierung von muzinösen Ovarialkarzinomen

##### 4.4.2.1 Untersuchung der Graduierung nach den Regeln für endometrioiden Karzinome

Die muzinösen Karzinome werden analog der endometrioiden Karzinome graduiert [5]. Generell kann eine höhere Graduierung bei Ovarialkarzinomen ein kürzeres Überleben bedingen [105]. Um die Qualität dieses Graduierungssystems beurteilen zu können, wurde der Einfluss der Graduierung auf das Überleben durch Kaplan-Meier Überlebenskurven dargestellt (Abbildung 7). Diese wurden durch den Log-Rank-Test verglichen und auf statistische Signifikanz überprüft.

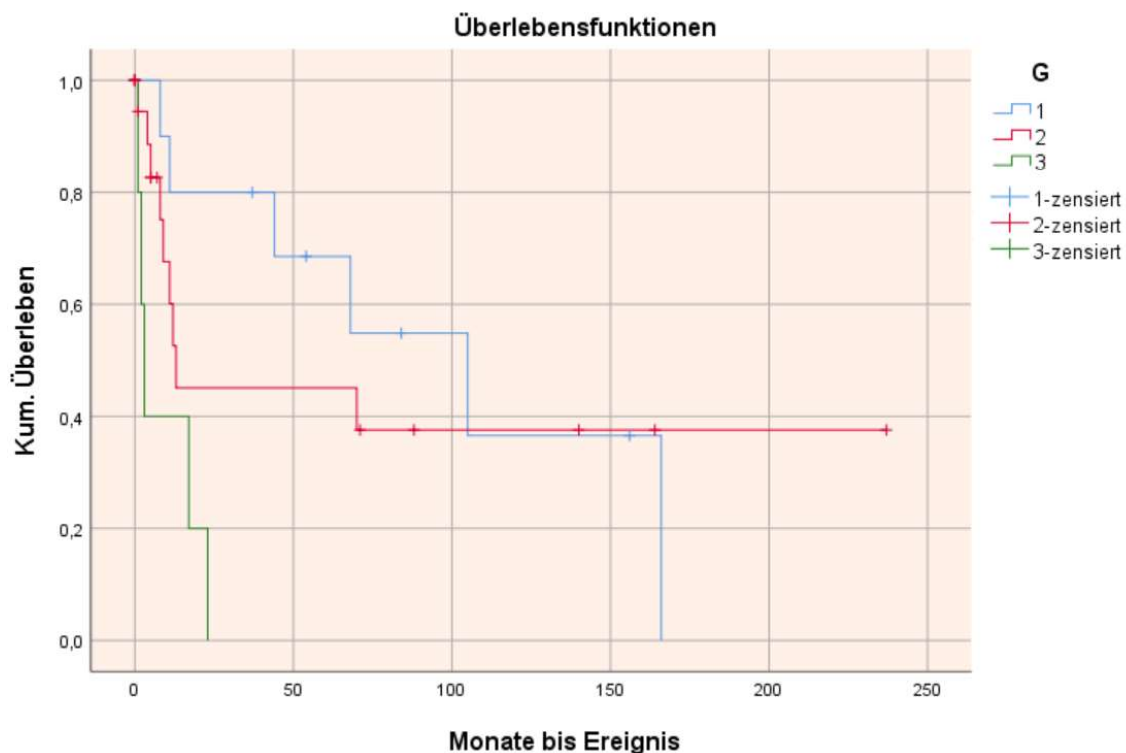


Abbildung 7: Kaplan-Meier Überlebenskurven stratifiziert nach der Graduierung nach den Regeln für endometrioiden Karzinome (P-Wert Gesamtvergleich: 0,013)

Das Modell der Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit von der Graduierung zeigte sich im Gesamtvergleich durch den Log-Rank-Test signifikant (P-Wert: 0,013).

Gesamtvergleich			
	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Sig.
Log-Rank (Mantel Cox)	8,758	2	0,013
Test auf Gleichheit der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Stufen von G			

Tabelle 29: Gesamtvergleich Überlebenszeiten in Bezug auf Graduierung



Bei genauerer Analyse der Überlebenszeiten untereinander durch den Log-Rank-Test ergab sich, dass sich nur die Überlebenszeiten von G1 und G3 statistisch signifikant unterscheiden (P-Wert: 0,001).

G		1		2		3	
		Chi-Quadrat	Sig.	Chi-Quadrat	Sig.	Chi-Quadrat	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	1	-	-	0,272	0,602	10,593	0,001
	2	0,272	0,602	-	-	3,765	0,052
	3	10,593	0,001	3,765	0,052	-	-

Tabelle 30: Paarweiser Vergleich Überlebenszeiten in Bezug auf die Graduierung

#### 4.4.2.2 Zusammenhang zwischen den immunhistochemischen Expressionsprofilen und der Tumordifferenzierung

Bei den Untersuchungen bezüglich des Zusammenhangs zwischen immunhistochemischen Expressionsprofilen und der Tumordifferenzierung zeigte sich für PAX8 eine statistisch signifikante Korrelation mit der Graduierung (P-Wert Chi-Quadrat Test: 0,016; P-Wert Spearman-Rho: 0,004). Auch für das Wachstumsmuster zeigte sich eine signifikante Korrelation mit der Graduierung (P-Wert Chi-Quadrat Test: 0,026; P-Wert Spearman-Rho: 0,006).

	Graduierung/ Expression immunhistochemischer Färbungen, Wachstumsmuster		
	Kontingenzanalyse		Korrelationsanalyse
	Chi-Quadrat-Test		Spearman-Rho
	P-Wert	P-Wert	Korrelationskoeffizient
SATB2	0,793	0,690	-0,065
CK20	0,141	0,235	-0,192
ER	0,322	0,161	-0,226
PR	0,729	0,909	0,019
PAX8	0,016	0,004	-0,446
REG4	0,193	0,482	-0,114
MUC5AC	0,305	0,131	-0,243
CDX2	0,200	0,093	-0,269
WM	0,026	0,006	0,444
MUC1	entfällt, da ausschließlich positiv		
CK7	entfällt, da ausschließlich positiv		

Tabelle 31: Kontingenzanalyse und Korrelationsanalyse bezüglich Graduierung und Expressionsmuster immunhistochemische Färbungen/Wachstumsmuster

#### 4.4.2.3 Überlebenszeitanalysen stratifiziert nach immunhistochemischen Färbungen und Wachstumsmuster

Daher wurde durch Kaplan-Meier-Analysen der Einfluss aller immunhistochemischen Färbungen und des Wachstumsmusters auf die Überlebenskurven untersucht und mittels Log-Rank-Test die statistische Signifikanz der Ergebnisse ermittelt.

	Kaplan-Meier-Analyse
	Log-Rank-Test
	P-Werte
SATB2	0,367
CK20	0,124
<b>ER</b>	<b>0,026</b>
PR	0,299
<b>PAX8</b>	<b>0,009</b>
REG4	0,842
MUC5AC	0,618
CDX2	0,758
<b>Wachstumsmuster</b>	<b>0,006</b>
MUC1	entfällt, da ausschließlich positiv
CK7	entfällt, da ausschließlich positiv

Tabelle 32: Ergebnisse Log-Rank Test stratifiziert nach Expressionsmuster immunhistochemischer Färbungen/Wachstumsmuster

Die immunhistochemischen Färbungen ER und PAX8 sowie das Wachstumsmuster zeigten im Log-Rank Test einen signifikanten Einfluss auf das relative Überleben (P-Werte: 0,026; 0,009; 0,006). Im Folgendem werden die Kaplan-Meier Kurven zu den im Log-Rank-Test signifikanten Färbungen aufgeführt (Abbildungen 8, 9, 10).

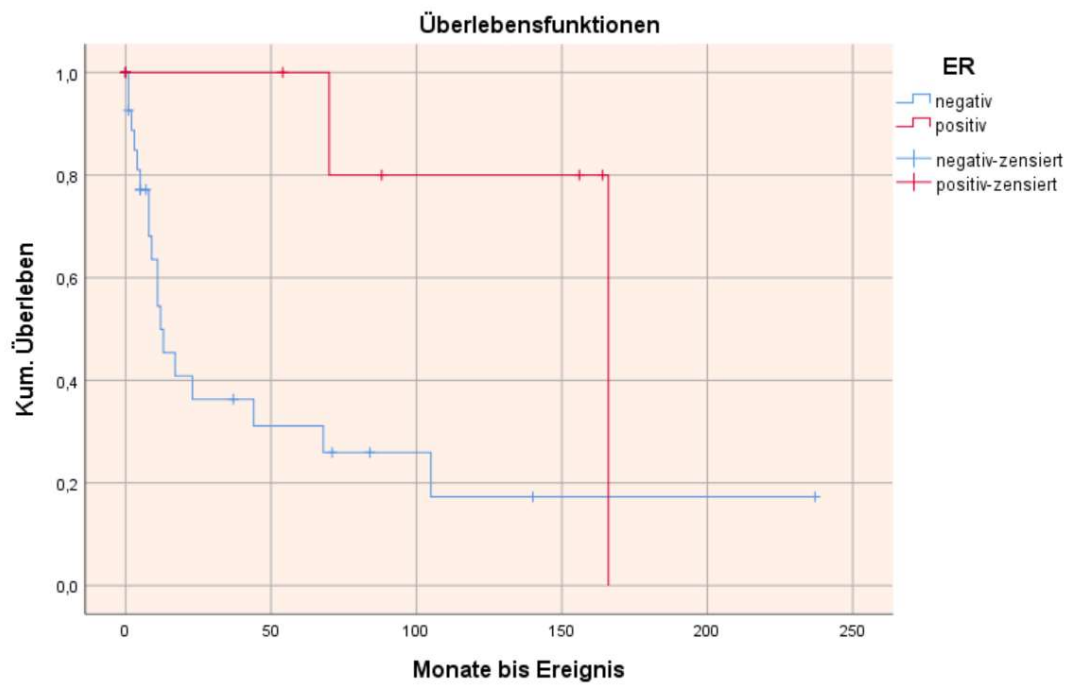


Abbildung 8: Kaplan-Meier Überlebenskurven stratifiziert nach ER-Expression (P-Wert: 0,026)

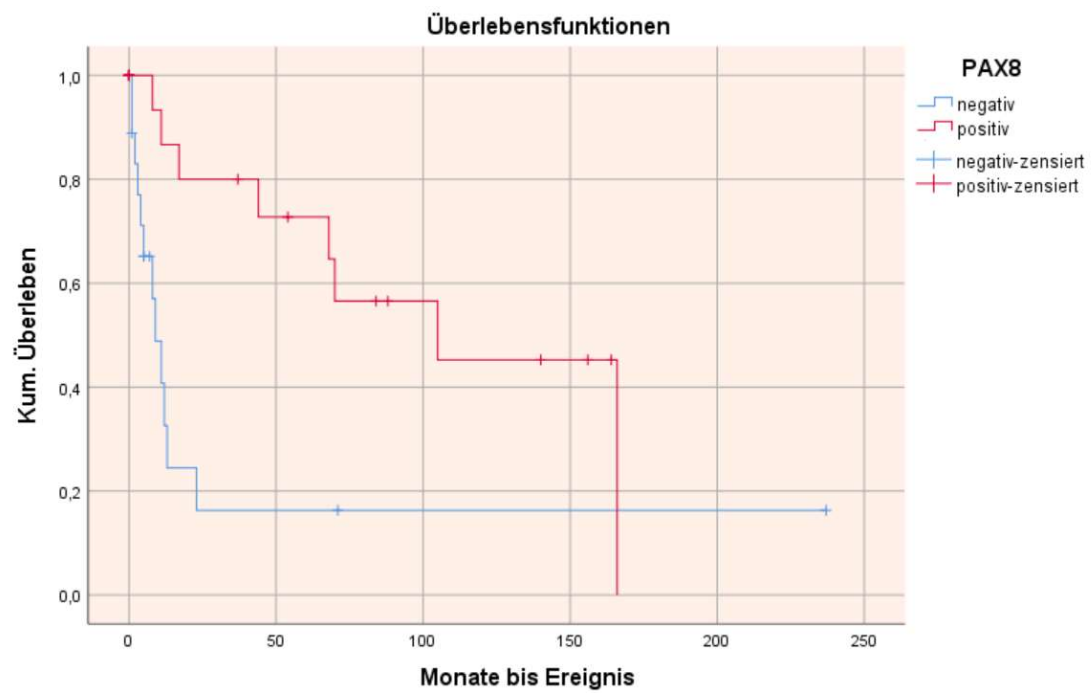


Abbildung 9: Kaplan-Meier Überlebenskurven stratifiziert nach PAX8-Expression (P-Wert: 0,009)

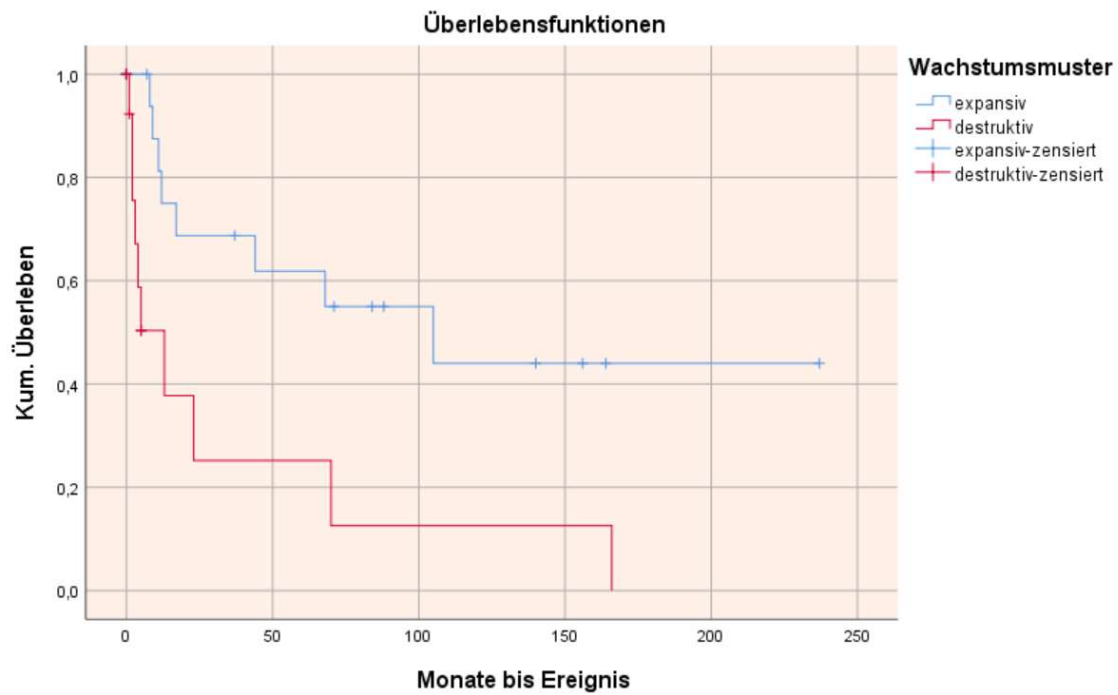


Abbildung 10: Kaplan-Meier Überlebenskurven stratifiziert nach dem Wachstumsmuster (P-Wert: 0,006)

Es zeigte sich, dass eine negative Expression von ER und PAX8 sowie ein destruktives Wachstumsmuster signifikant mit einem kürzeren Überleben assoziiert sind.

#### 4.4.2.4 Zusammenhang der immunhistochemischen Färbungen mit dem Wachstumsmuster

Da sich ein destruktives Wachstumsmuster nachweislich negativ auf die Prognose auswirkt [10], wurde im nächsten Schritt durch Kontingenzanalysen überprüft, ob ein Zusammenhang zwischen dem Wachstumsmuster und dem Expressionsmuster der untersuchten immunhistochemischen Färbungen vorliegt. Zur Ermittlung der statistischen Signifikanz wurden der Chi-Quadrat Test verwendet.

<b>Kontingenzanalyse Wachstumsmuster/ Expressionsmuster immunhistochemischer Färbungen</b>	
<b>Chi-Quadrat Test</b>	
<b>P-Werte</b>	
<b>SATB2</b>	1,000
<b>CK20</b>	0,295
<b>ER</b>	1,000
<b>PR</b>	0,724
<b>PAX8</b>	<b>0,007</b>
<b>REG4</b>	1,000
<b>MUC5AC</b>	<b>0,041</b>
<b>CDX2</b>	0,258
<b>MUC1</b>	entfällt, da ausschließlich positiv
<b>CK7</b>	entfällt, da ausschließlich positiv

Tabelle 33: Ergebnisse Kontingenzanalyse Wachstumsmuster/ Expressionsmuster immunhistochemischer Färbungen

Im Chi-Quadrat-Test zeigen PAX8 und MUC5AC eine signifikante Korrelation zum Wachstumsmuster (P-Werte: 0,007; 0,041). Bei expansivem Wachstumsmuster fiel die PAX8-Expression meist positiv aus (68,2%), bei destruktiven Wachstumsmuster meist negativ (80,0%), siehe Tabelle 34. Die MUC5AC-Expression fiel bei expansivem Wachstumsmuster meist positiv aus (59,1%), bei destruktiven Wachstumsmuster meist negativ (80,0%), siehe Tabelle 35.

		<b>PAX8</b>		<b>Gesamt</b>
		<b>Negativ</b>	<b>Positiv</b>	
<b>Wachstumsmuster expansiv</b>	<b>Absolute Anzahl</b>	7	15	22
	<b>Anteil an muz OVCA's</b>	18,9%	40,5%	59,4%
	<b>Anteil innerhalb von expansivem WM</b>	31,8%	68,2%	100%
<b>Wachstumsmuster Destruktiv</b>	<b>Absolute Anzahl</b>	12	3	15
	<b>Anteil an muz OVCA's</b>	32,4%	8,2%	40,6%
	<b>Anteil innerhalb von destruktivem WM</b>	80,0%	20,0%	100%
<b>Gesamt</b>	<b>Absolute Anzahl</b>	19	18	37
	<b>Relativer Anteil</b>	51,3%	48,7%	100,0%

Tabelle 34: Kreuztabelle PAX8-Expression/Wachstumsmuster

		<b>MUC5AC</b>		<b>Gesamt</b>
		<b>Negativ</b>	<b>Positiv</b>	
<b>Wachstumsmuster expansiv</b>	<b>Absolute Anzahl</b>	9	13	22
	<b>Anteil an muz OVCA's</b>	24,3%	35,1%	59,4%
	<b>Anteil innerhalb von expansivem WM</b>	40,9%	59,1%	100%
<b>Wachstumsmuster Destruktiv</b>	<b>Absolute Anzahl</b>	12	3	15
	<b>Anteil an muz OVCA's</b>	32,4%	8,2%	40,6%
	<b>Anteil innerhalb von destruktivem</b>	80,0%	20,0%	100%
<b>Gesamt</b>	<b>Absolute Anzahl</b>	21	16	37
	<b>Relativer Anteil</b>	56,8%	43,2%	100%

Tabelle 35: Kreuztabelle MUC5AC-Expression/Wachstumsmuster

4.4.2.5 Untersuchung des Einflusses der potenziellen Variablen eines zweistufigen Graduierungssystems auf die Überlebenszeit durch Cox-Regressionsanalysen

Anhand von Cox-Regressionsanalysen wurde untersucht, wie groß der Effekt der potenziellen Einflussgrößen unter Berücksichtigung von T-Stadium und Alter auf die Zielvariable, die zensierte Überlebenszeit ist (Tabelle 36). Für die Berechnung wurden das T-Stadium und das Alter in 2 Gruppen aufgeteilt. Bezüglich des Alters wurden Patientinnen bis einschließlich des 55. Lebensjahres als Gruppe zusammengefasst, da das Senium nach dem 55. Lebensjahr beginnt [99]. Bei Betrachtung des T-Stadiums wurden Patientinnen im Stadium T1 gemeinsam betrachtet, als zweite Gruppe wurde ein T-Stadium von mindestens T2 definiert, da Patientinnen im Stadium T1/FIGO1 generell eine bessere Prognose aufweisen und seltener Rezidive erleiden [36, 100]. Bei der Berechnung des Effekts des Wachstumsmusters auf die Überlebenszeit wurden die Fälle 323, 336 und 406 ausgeschlossen, da zu diesen kein Wachstumsmuster bestimmt werden konnte.

Ergebnisse Cox-Regressionsanalysen unter Berücksichtigung von Alter und T-Stadium									
		B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)	95,0% KI für Exp(B)	
								Untere	Obere
CK20	Negativ	-1,879	0,760	6,118	1	0,013	0,153	0,034	0,677
	Positiv	1,879	0,760	6,118	1	0,013	6,546	1,477	29,008
SATB2	Negativ	1,006	1,039	0,938	1	0,333	2,735	0,357	20,960
	Positiv	-1,006	1,039	0,938	1	0,333	0,366	0,048	2,802
CDX2	Negativ	-0,908	0,574	2,499	1	0,114	0,403	0,131	1,243
	Positiv	0,908	0,574	2,499	1	0,114	2,479	0,804	7,641
ER	Negativ	1,470	0,775	3,596	1	0,058	4,350	0,952	19,885
	Positiv	-1,470	0,775	3,596	1	0,058	0,230	0,050	1,051
PR	Negativ	0,376	0,584	0,415	1	0,519	1,457	0,464	4,573
	Positiv	-0,376	0,584	0,415	1	0,519	0,686	0,219	2,155
PAX8	Negativ	1,418	0,539	6,931	1	0,008	4,131	1,437	11,876
	Positiv	-1,418	0,539	6,931	1	0,008	0,242	0,084	0,696
MUC5AC	Negativ	-0,398	0,531	0,563	1	0,453	0,671	0,237	1,901
	Positiv	0,398	0,531	0,563	1	0,453	1,489	0,526	4,217
REG4	Negativ	0,122	0,770	0,025	1	0,874	1,130	0,250	5,109
	Positiv	-0,122	0,770	0,025	1	0,874	0,885	0,196	4,003
WM	Expansiv	-1,223	0,508	5,799	1	0,016	0,294	0,109	0,797
	Destruktiv	1,223	0,508	5,799	1	0,016	3,396	1,255	9,185
MUC1	Pos/Neg	--	--	--	0	--	--	--	--
CK7	Pos/Neg	--	--	--	0	--	--	--	--

Tabelle 36: Ergebnisse der Cox-Regressionsanalysen der potenziellen Einflussfaktoren unter Berücksichtigung von Alter und T-Stadium

Die Berechnung des Cox Proportional-Hazard-Modells zeigte, dass unter Berücksichtigung von T-Stadium und Alter die PAX8-Expression, die CK20-Expression und das Wachstumsmuster einen signifikanten Einfluss auf die Hazard-Ratio darstellen (P-Werte: 0,008; 0,013; 0,016). Bei positiver CK20-Expression zeigte sich ein 6,55-fach erhöhtes Sterberisiko. Bei einem expansiven Wachstumsmuster war das Sterberisiko 0,29-fach vermindert, bei positiver PAX8-Expression 0,24-fach.

Aus den errechneten Faktoren ergeben sich somit 7 potenzielle Kombinationsmöglichkeiten, nach denen ein zweistufiges Graduierungssystem definiert werden könnte (Tabelle 37):

Graduierungssystem	Graduierung	Anzahl	Summe Fälle high-grade/low-grade	Anteil an OVCA's
CK20+	high-grade	29	40	100%
CK20-	low-grade	11		
PAX8-	high-grade	20	40	100%
PAX8+	low-grade	20		
WM infiltrativ	high-grade	15	37	92,5%
WM expansiv	low-grade	22		
CK20+/PAX8-	high-grade	15	21	52,5%
CK20-/PAX8+	low-grade	6		
CK20+/ WM infiltrativ	high-grade	9	15	37,5%
CK20-/ WM expansiv	low-grade	6		
PAX8-/WM infiltrativ	high-grade	12	27	67,5%
PAX8+/WM expansiv	low-grade	15		
CK20+/PAX8-/WM infiltrativ	high-grade	8	12	30,0%
CK20-/PAX8+/WM expansiv	low-grade	4		

Tabelle 37: Potenzielle zweistufige Graduierungssysteme, die sich aus den Faktoren CK20-Expression, Wachstumsmuster und PAX8-Expression ergeben

Da die PAX8-Expression, die CK20-Expression und das Wachstumsmuster einzeln oder in Kombination für die Definition eines zweistufigen Graduierungssystems herangezogen werden könnten, wurde die Signifikanz der Kombinationen in weiteren Cox-Regressionsanalysen überprüft. Dabei wurden wie zuvor das Alter und das T-Stadium berücksichtigt.

Cox-Regressionsanalyse (T-Stadium/Alter/PAX8/CK20)								
	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)	95,0% KI für Exp(B)	
							Untere Grenze	Obere Grenze
<b>T-Stadium</b>	-1,675	0,662	6,407	1	0,011	0,187	0,051	0,685
<b>Alter</b>	-1,434	0,628	5,213	1	0,022	0,238	0,070	0,816
<b>PAX8</b>	0,877	0,560	2,452	1	0,117	2,405	0,802	7,211
<b>CK20</b>	-1,433	0,820	3,053	1	0,081	0,238	0,048	1,190

Tabelle 38: Cox-Regressionsanalyse unter Berücksichtigung von T-Stadium, Alter, PAX8- und CK20-Expression

In der Cox-Regressionsanalyse, die neben T-Stadium und Alter die PAX8- und die CK20-Expression berücksichtigt zeigte sich, dass in dieser Kombination nur Alter und T-Stadium einen signifikanten Einfluss auf das Überleben zeigen (Tabelle 38).

Cox-Regressionsanalyse (T-Stadium/Alter/PAX8/WM)								
	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)	95,0% KI für Exp(B)	
							Untere Grenze	Obere Grenze
<b>T-Stadium</b>	-1,218	0,625	3,799	1	0,051	0,296	0,087	1,007
<b>Alter</b>	-0,905	0,636	2,028	1	0,154	0,404	0,116	1,406
<b>PAX8</b>	1,173	0,658	3,179	1	0,075	3,230	0,890	11,722
<b>WM</b>	-0,921	0,526	3,065	1	0,080	0,398	0,142	1,116

Tabelle 39: Cox-Regressionsanalyse unter Berücksichtigung von T-Stadium, Alter, PAX8-Expression und Wachstumsmuster

Die Untersuchung der Auswirkung von T-Stadium, Alter, PAX8-Expression und Wachstumsmuster auf die Überlebenszeit durch eine Cox-Regressionsanalyse ergab, dass keiner der Faktoren in dieser Kombination einen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit zeigt (Tabelle 39).

Cox-Regressionsanalyse (T-Stadium/Alter/CK20/WM)								
	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)	95,0% KI für Exp(B)	
							Untere Grenze	Obere Grenze
<b>T-Stadium</b>	-1,635	0,721	5,146	1	0,023	0,195	0,048	0,801
<b>Alter</b>	-1,082	0,626	2,987	1	0,084	0,339	0,099	1,156
<b>WM</b>	-1,432	0,559	6,577	1	0,010	0,239	0,080	0,713
<b>CK20</b>	-2,061	0,791	6,791	1	0,009	0,127	0,027	0,600

Tabelle 40: Cox-Regressionsanalyse unter Berücksichtigung von T-Stadium, Alter, CK20-Expression und Wachstumsmuster

Die Cox-Regressionsanalyse, die neben T-Stadium und Alter das Wachstumsmuster und die CK20-Expression berücksichtigt zeigte, dass sich in dieser Kombination die Faktoren



T-Stadium, Wachstumsmuster und CK20-Expression signifikant auf die Überlebenszeit auswirken.

Cox-Regressionsanalyse (T-Stadium/Alter/CK20/WM/PAX8)								
	B	SE	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)	95,0% KI für	
							Untere Grenze	Obere Grenze
<b>T-Stadium</b>	-1,642	0,756	4,716	1	<b>0,030</b>	<b>0,194</b>	0,044	0,852
<b>Alter</b>	-1,077	0,644	2,795	1	0,095	0,341	0,096	1,204
<b>WM</b>	-1,443	0,648	4,968	1	<b>0,026</b>	<b>0,236</b>	0,066	0,840
<b>CK20</b>	-2,077	0,929	5,002	1	<b>0,025</b>	<b>0,125</b>	0,020	0,774
<b>PAX8</b>	-0,028	0,813	0,001	1	0,973	0,973	0,198	4,787

Tabelle 41: Cox-Regressionsanalyse unter Berücksichtigung von T-Stadium, Alter, CK20- und PAX8-Expression und Wachstumsmuster

Die gemeinsame Untersuchung der Auswirkung von T-Stadium, Alter, PAX8- und CK20-Expression sowie Wachstumsmuster auf die Überlebenszeit durch eine Cox-Regressionsanalyse ergab, dass in dieser Kombination die Faktoren T-Stadium, Wachstumsmuster und CK20-Expression einen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit zeigen.

#### 4.4.3 Statistische Untersuchungen bezüglich der Karzinogenese

Um zu klären, ob einzelne oder kombinierte immunhistochemische Reaktionen die Entartung von muzinösen Ovarialtumoren von Adenomen über Borderlinetumoren zu Karzinomen widerspiegeln, wurden Rangkorrelationsanalysen nach Spearman und Kontingenzanalysen mittels Chi-Quadrat-Test durchgeführt. In Abbildung 11 wurden die unterschiedlichen Dignitäten sowie die unterschiedlichen Wachstumsmuster beim Ovarialkarzinom beispielhaft dargestellt.

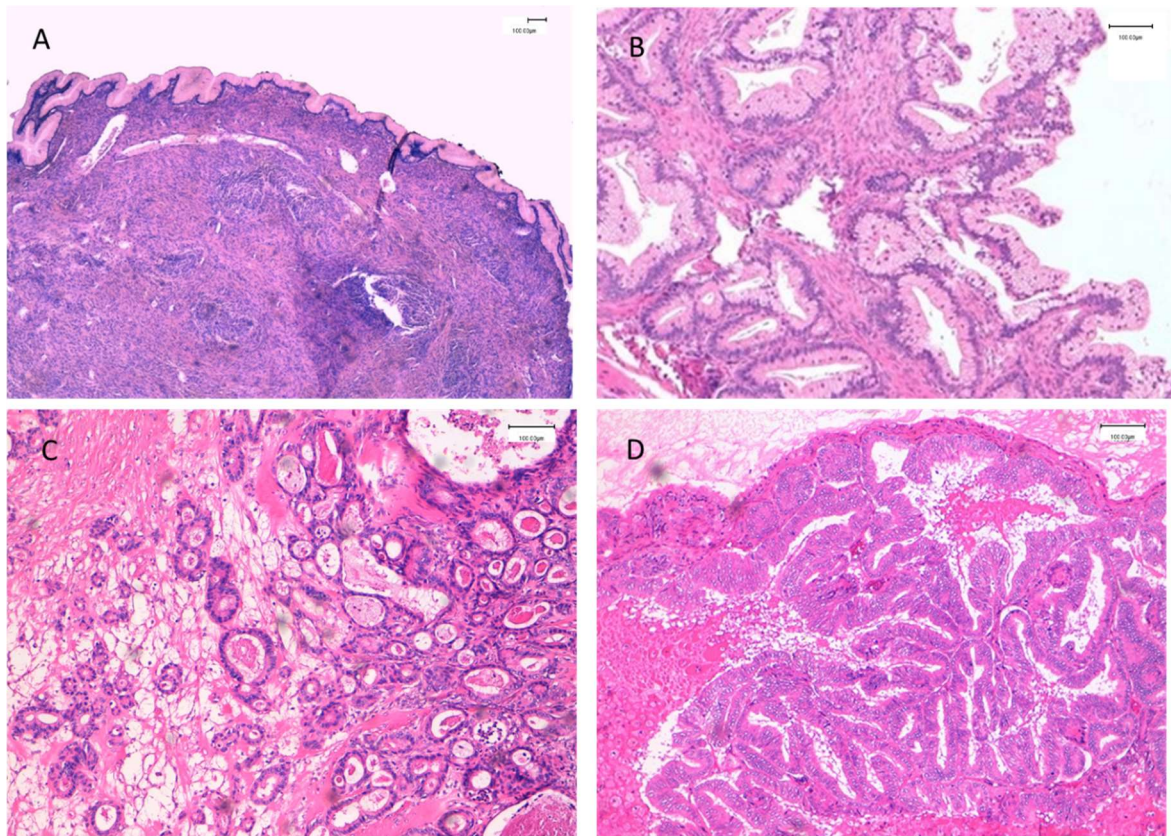


Abbildung 11: A: Beispiel für ein muzinöses Zystadenom (Fall 113, Färbung: HE), B: Beispiel für einen muzinösen Borderlinetumor (Fall 221, Färbung: HE), C: Beispiel für das invasive/destruktive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom, (Fall 305, Färbung: HE), D: Beispiel für das expansive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 300, Färbung: HE)

Die Dignität (Adenom, Borderlinetumor, Ovarialkarzinom) wurde dazu mit der Expression der jeweiligen immunhistochemischen Färbung korreliert (Tabelle 42). Diese Untersuchungen entfallen für CK7, CK20 und CDX2, da diese Färbungen für Adenome und Borderlinetumoren nicht angewendet wurden.

	Dignität (Adenom, Borderlinetumor, Ovarialkarzinom)		
	Kontingenzanalyse mit Chi-Quadrat	Korrelationsanalyse durch Spearman-Rho	
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Korrelations-Koeffizient
	P-Wert	P-Wert	
ER	0,837	0,565	-0,062
PR	0,137	0,075	-0,191
PAX8	0,784	0,569	-0,062
MUC1	0,067	0,230	0,129
<b>MUC5AC</b>	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	<b>-0,408</b>
<b>REG4</b>	0,081	<b>0,038</b>	<b>-0,222</b>
SATB2	0,155	0,075	0,191

Tabelle 42: Korrelationsanalyse und Kontingenzanalyse zu Färbung/ Dignität

Im Folgenden wurden die relativen Häufigkeiten der in der Korrelationsanalyse bzw. in der Kontingenzanalyse signifikanten Färbungen MUC5AC und REG4 bezüglich der Dignität durch Kreuztabellen und Balkendiagramme genauer dargestellt.

#### 4.4.3.1 MUC5AC

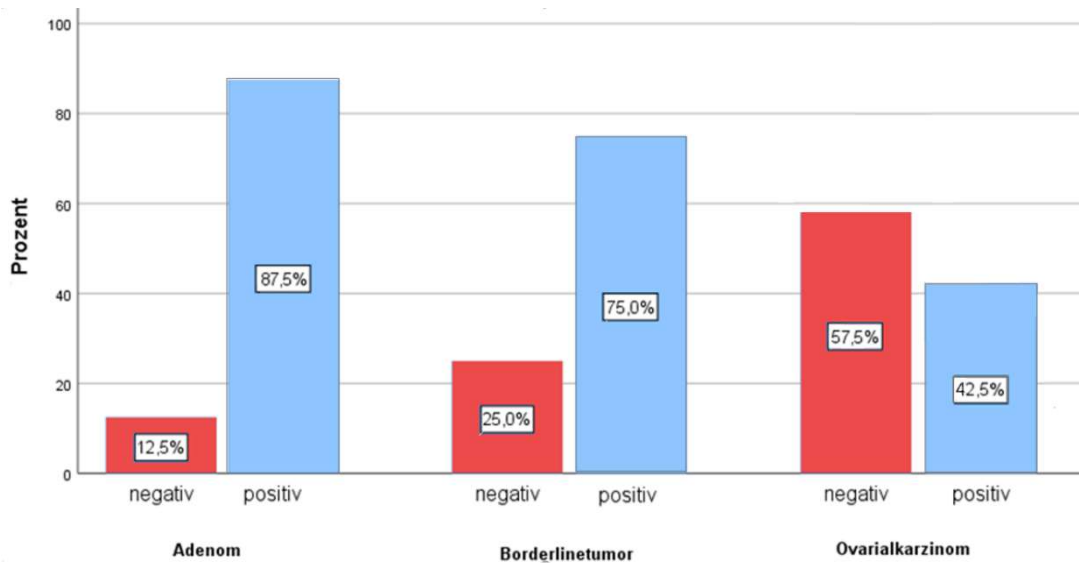


Abbildung 12: Expression MUC5AC nach Dignität

Bei der Färbung MUC5AC zeigte sich mit steigender Malignität ein zunehmender Verlust der MUC5AC-Expression (Abbildung 12/ Tabelle 43).

		MUC5AC	
		Absolut	Relativ
Adenom	Negativ	3	12,5%
	Positiv	21	87,5%
Borderlinetumor	Negativ	6	25,0%
	Positiv	18	75,0%
OVCA	Negativ	23	57,5%
	Positiv	17	42,5%

Tabelle 43: Kreuztabelle MUC5AC/Dignität

#### 4.4.3.2 REG4

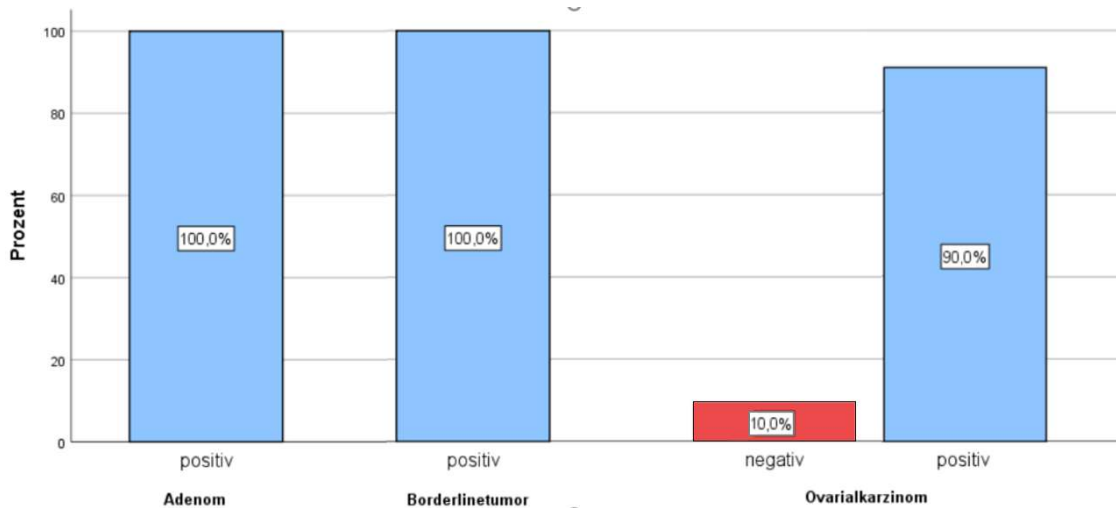


Abbildung 13: Expression REG4 nach Dignität

Bei der Färbung REG4 zeigte sich nur bei Ovarialkarzinomen ein geringer Verlust der REG4-Expression (Abbildung 13/Tabelle 44).

		REG4	
		Absolut	Relativ
Adenom	Positiv	24	100%
	Negativ	0	0%
Borderlinetumor	Positiv	24	100%
	Negativ	0	0%
Ovarialkarzinom	Positiv	36	90,0%
	Negativ	4	10,0%

Tabelle 44: Kreuztabelle REG4/Dignität

#### 4.4.3.3 Nachweis durch Zusammenhang mit FIGO-Stadium, T-Stadium und Überlebensdaten

Um nachzuweisen, ob die als signifikant ermittelten Färbungen REG4 und MUC5AC die Entartung von muzinösen Zystadenomen über Borderlinetumoren zu Ovarialkarzinomen widerspiegeln, wurden mit diesen Färbungen weitere statistische Untersuchungen durchgeführt. Es wurde jeweils eine Korrelation mit den vereinfachten FIGO-Stadien, T-Stadien und Überlebensstatus durchgeführt, durch Kaplan-Meier-Kurven wurde der Einfluss auf das Überleben getestet und es wurden Kreuztabellen bezüglich FIGO-Stadien, T-Stadien und Überlebensstatus erstellt. Diese Untersuchungen wurden bei MUC5AC und REG4 jeweils für muzinöse Ovarialkarzinome und muzinöse Borderlinetumoren sowie ausschließlich für muzinöse Ovarialkarzinome durchgeführt (Tabelle 45 und 46).

Muzinöse OVCAs			
Methode	Variablen	Berechnung Signifikanz	P-Wert
Kontingenzanalyse	MUC5AC/FIGO-Stadium	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	0,236
Korrelation	MUC5A/FIGO-Stadium	Spearman-Rho	0,565
Kontingenzanalyse	MUC5AC/T-Stadium	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	0,470
Korrelation	MUC5AC/T-Stadium	Spearman-Rho	0,354
Kontingenzanalyse	MUC5AC/gestorben	Exakter Test n. Fisher (2-seitig)	0,500
Kaplan-Meier	MUC5AC	Log-Rank-Test	0,603
Muzinöse OVCAs und Borderlinetumoren			
Methode	Variablen	Berechnung Signifikanz	P-Wert
Kontingenzanalyse	MUC5AC/FIGO-Stadium	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	0,043
Korrelation	MUC5AC/FIGO-Stadium	Spearman-Rho	0,043
Kontingenzanalyse	MUC5AC/T-Stadium	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	0,052
Korrelation	MUC5AC/T-Stadium	Spearman-Rho	0,022
Kontingenzanalyse	MUC5AC/gestorben	Exakter Test n. Fisher (2-seitig)	0,286
Kaplan-Meier	MUC5AC	Log-Rank-Test	0,312

Tabelle 45: Untersuchung MUC5AC bzgl. Überlebensdauer, -status und FIGO-/T-Stadium

Bei gemeinsamer Betrachtung von Borderlinetumoren und Ovarialkarzinomen zeigte sich eine signifikante Korrelation der MUC5AC-Expression mit dem FIGO-Stadium in der Korrelationsanalyse nach Spearman und im Chi-Quadrat Test nach Pearson. Mit dem T-Stadium zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang in der Korrelationsanalyse nach Spearman, der Chi-Quadrat Test nach Pearson zeigte einen Trend zur Signifikanz.

Muzinöse OVCAs			
Methode	Variablen	Berechnung Signifikanz	P-Wert
Kontingenzanalyse	REG4/FIGO	Chi-Quadrat nach Pearson	0,095
Korrelation	REG4/FIGO	Spearman-Rho	0,026
Kontingenzanalyse	REG4/T	Chi-Quadrat nach Pearson	0,479
Korrelation	REG4/T	Spearman-Rho	0,324
Kontingenzanalyse	REG4/gestorben	Exakter Test n. Fisher (2-seitig)	0,698
Kaplan-Meier	REG4	Log-Rank	0,843
Muzinöse OVCAs und Borderlinetumoren			
Methode	Werte	Berechnung Signifikanz	P-Wert
Kontingenzanalyse	REG4/FIGO-Stadium	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	0,006
Korrelation	REG4/FIGO-Stadium	Spearman-Rho	0,002
Kontingenzanalyse	REG4/T-Stadium	Chi-Quadrat-Test nach Pearson	0,120
Korrelation	REG4/T-Stadium	Spearman-Rho	0,065
Kontingenzanalyse	REG4/gestorben	Exakter Test n. Fisher (2-seitig)	0,614
Kaplan-Meier	REG4	Log-Rank	0,382

Tabelle 46: Untersuchung REG4 bzgl. Überlebensdauer/- status und FIGO-/T-Stadium

Bei ausschließlicher Betrachtung von Ovarialkarzinomen zeigte sich im Spearman-Test eine signifikante Korrelation von REG4-Expression und FIGO-Stadium. Die gemeinsame Betrachtung von Borderlinetumoren und Ovarialkarzinomen zeigte eine signifikante Korrelation von REG4-Expression zu FIGO-Stadium in der Korrelationsanalyse nach Spearman und im Chi-Quadrat Test nach Pearson.

## 5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, zunächst die ursprünglichen Diagnosen aus dem verwendeten Kollektiv aus den Jahren 1985-2015 zu überprüfen und ein Panel von möglichst spezifischen immunhistochemischen Färbungen für eine bessere Differentialdiagnostik von primären muzinösen Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen zu definieren.

Ferner wurden Untersuchungen zu möglichen prognostischen Faktoren an Zystadenomen und Borderlinetumoren durchgeführt.

Außerdem sollte für muzinöse Karzinome ein zweistufiges Graduierungssystem anhand von immunhistochemischen Färbungen zur besseren Einschätzung der Prognose entwickelt werden. Ferner sollte untersucht werden, ob sich anhand der Expressionsmuster von immunhistochemischen Färbungen neue Erkenntnisse über Karzinogenese und Pathogenese ergeben.

### 5.1 Re-Evaluation Diagnosen

Um die ursprünglichen Diagnosen zu reevaluieren wurden die Expressionsmuster der immunhistochemischen Färbungen SATB2, CK7, CK20, CDX2, ER, PR und PAX8, klinische Daten aus den Patientenakten und die Histomorphologie anhand von HE-Schnitten evaluiert und in ihrer Zusammenschau für jeden Fall einzeln bewertet.

Von ursprünglich 46 muzinösen Ovarialkarzinomen stellte sich in einem Fall heraus, dass es sich um ein seromuzinöses (heute endometrioides) Ovarialkarzinom handelte. Vier weitere Fälle wurden jetzt als Metastasen von Dickdarmkarzinomen klassifiziert. Zwei Fälle aus den Jahren 2010 und 2006 ließen sich keinem eindeutigen Ursprung zuordnen. Die vier fälschlicherweise als muzinöse Ovarialkarzinome diagnostizierten Fälle stammen aus den Jahren 1991-2011, die beiden als unklar eingeordneten Fälle stammen aus den Jahren 2006 und 2008, alle Fälle somit aus einer Zeit, in der die immunhistochemischen Profile noch nicht für die Diagnostik zur Verfügung standen.

Bei den 10 Karzinomen unklarer Herkunft aus Kategorie 4 waren sich die Erstuntersucher von vorneherein bezüglich der tatsächlichen Diagnose nicht eindeutig sicher. Aus dieser Kategorie verbleiben zwei Fälle aus den Jahren 2002 und 2003 auch weiterhin unklar, ein Fall aus dem Jahr 2013 wurde als muzinöses Ovarialkarzinom

eingordnet, ein Fall aus dem Jahr 2004 als Endometriumkarzinom. Die restlichen 6 Fälle wurden als Kolonkarzinome eingeordnet, auch sie stammten aus den frühen 2000-Jahren.

Anhand der Ergebnisse der Re-Evaluation wird deutlich, dass es im untersuchten Kollektiv bis zum Jahr 2014 zu diagnostischen Problemen und bis zum Jahr 2011 auch zu Fehlinterpretationen kam.

Innerhalb der Gruppe der falsch diagnostizierten Ovarialkarzinome wurden in einem Fall aus dem Jahr 1991, damals üblich, keine immunhistochemischen Untersuchungen durchgeführt bei vier weiteren Fällen (Fälle 308, 334, 309, 328) wurden in unterschiedlicher Kombination nur die damals zur Verfügung stehenden Färbungen CK20, CK7, CDX2 und CA12.5 durchgeführt. Die Überbewertung des makroskopischen Befunds war bei den Fällen 308 und 309 ein Grund für die Fehldiagnose, bei Fall 328 wurde aufgrund eines vermeintlich simultan vorliegenden Borderlinetumors fälschlicherweise auf ein Ovarialkarzinom geschlossen.

Bei den Fällen 400-409 erkannten die Untersucher das differentialdiagnostische Problem, konnten aber mit den damals zur Verfügung stehenden Methoden die Diagnose nicht eindeutig festlegen.

Ein gutes Beispiel für die Entwicklung von diagnostischen Markern im Laufe der Zeit ist SATB2. Die Verwendung von SATB2 als Marker für die Differentialdiagnostik von primären Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen mit Ursprung im Gastrointestinaltrakt wurde erstmals 2011 erwähnt [66] und 2015 erstmals ausführlich in einer Arbeit speziell zu diesem Thema beschrieben [68]. Bis zur Aufnahme von SATB2 als Marker zur Abgrenzung von Dickdarmkarzinomen in der S3-Leitlinie im Jahr 2018 folgten weitere Arbeiten zu diesem Thema [67, 69, 101].

Ab dem Jahr 2018 wurde von der S3-Leitlinie die Kombination der Färbungen CK7, CK20, CDX2, SATB2 und p16 für die Differentialdiagnostik von muzinösen Ovarialkarzinomen empfohlen. Die Verwendung von SATB2 wurde darin zur Differentialdiagnostik von primären muzinösen Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen mit Ursprung im Kolorektum oder oberen Gastrointestinaltrakt beschrieben [5].

Davor wurden von der S3-Leitlinie 2016 für die Differentialdiagnostik zwischen primären und ovariellen Metastasen erstmals die Marker PAX8, CK7, CK20, CDX2 empfohlen [102,



103]. In der S3-Leitlinie aus dem Jahr 2013 bestand diese Empfehlung noch nicht. Die WHO-Klassifikation von 2014 nannte in diesem Zusammenhang die Färbungen CK7, CK20, DPC4, p16, PAX8, ER und PR [10].

Am Beispiel der Färbung SATB2 wird deutlich, wie sich diagnostische Vorgehensweisen durch neue Forschungserkenntnisse stets weiterentwickeln. Dies kann durch die Entdeckung neuer Methoden oder neuer Antikörper geschehen. Die Fälle des hier untersuchten Kollektivs stammen aus den Jahren 1985-2015. Neue diagnostische Möglichkeiten und wissenschaftliche Erkenntnisse sowie die Etablierung dieser Neuerungen durch Aufnahme in anerkannte Leitlinien und Standardwerke haben die Differentialdiagnostik primärer und ovarieller Metastasen seit 2014 deutlich verbessert. Einige Fehlinterpretationen sind auf den zum damaligen Zeitpunkt vorliegenden Wissensstand und andere diagnostische Standards zurückzuführen.

## 5.2 Differentialdiagnostik von primär muzinösen Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen

### 5.2.1 Unterscheidung mittels immunhistochemischer Färbungen

Die Differentialdiagnostik von primären muzinösen Ovarialtumoren und Metastasen stellt in der pathologischen Diagnostik aufgrund von ähnlicher Histomorphologie und teils überlappenden immunhistochemischen Expressionsmustern ein Problem dar. Sekundäre Ovarialkarzinome stammen meist aus dem Kolorektum, seltener aber auch aus Magen, Pankreas, Galle oder Endozervix. Die aktuelle S3-Leitlinie empfiehlt die immunhistochemischen Färbungen CK7, CK20, CDX2, SATB2 und p16 für die Differentialdiagnostik.

Da es sich bei den ovariellen Metastasen in diesem Kollektiv fast ausschließlich um Kolonkarzinome handelt (Vgl. Tabelle 21), konnten hier nur die Unterschiede im immunhistochemischen Färbeverhalten von muzinösen Ovarialkarzinomen und Kolonkarzinomen untersucht werden. Dies war zu erwarten, da Dickdarmkarzinome die häufigsten ovariellen Metastasen darstellen [10].

Mithilfe von Kontingenzanalysen wurde getestet, ob sich die Expressionsmuster der verwendeten immunhistochemischen Färbungen bezüglich des Ursprungs des Karzinoms im Ovar oder im Dickdarm unterscheiden.



Laut unseren Untersuchungen unterschieden sich die Expressionsmuster der Färbungen CK7, SATB2, PAX8, und MUC1 bezüglich eines Karzinomursprungs im Ovar oder im Dickdarm signifikant.

In der Literatur ist eine starke Spezifität von SATB2 für kolorektale Karzinome beschrieben [66-68, 70]. Die SATB2 Expression scheint bei kolorektalen Karzinomen stärker auszufallen als bei Karzinomen anderen Ursprungs, die ebenfalls SATB2 exprimieren können [61, 66, 104]. Generell fällt die Expression bei Karzinomen nicht-kolorektalen Ursprungs meist spärlich oder diffus aus [65].

Eine positive SATB2 Expression weist auch in dieser Arbeit statistisch signifikant auf einen Ursprung des Karzinoms im Dickdarm hin (P-Wert: 0,000). Durch den Vergleich der immunreaktiven Scores von muzinösen Ovarialkarzinomen und Dickdarmkarzinomen im untersuchten Kollektiv zeigte sich, dass ein Ursprung im Dickdarm vor allem bei einem hohen immunreaktiven Score von mindestens 6 anzunehmen ist.

Im untersuchten Kollektiv exprimierten 7,5% der Ovarialkarzinome SATB2 (3 von 40). Die drei SATB2 positiven Ovarialkarzinome wiesen einen geringen IRS mit Werten zwischen eins und vier auf. Muzinöse Ovarialkarzinome exprimieren meist kein SATB2 [65-67], in der Literatur wird von einem positiven Expressionsmuster bei weniger als fünf Prozent aller Fälle berichtet [66, 67, 69]. Eine negative bzw. geringe Expression spricht eher für einen Ursprung im Ovar, allerdings muss bei SATB2 positiven Ovarialkarzinomen ein zystisches Teratom ausgeschlossen werden [67-69]. Bei einer negativen SATB2-Expression kann bei fraglicher Differentialdiagnostik jedoch nicht automatisch auf ein muzinöses Ovarialkarzinom geschlossen werden, da SATB2 in Karzinomen aus Pankreas, Gallenblase, Magen, Endozervix, Ösophagus nicht bzw. gering exprimiert wird [5, 67, 69, 70].

Im untersuchten Kollektiv exprimierten 100% der Ovarialkarzinome und 40% der Kolonkarzinome CK7. In der Literatur wurden CK7-Expressionsraten von 8-27% bei Dickdarmkarzinomen und von bis zu 70% bei rektalen Adenokarzinomen beschrieben [10, 39, 105, 106]. Allerdings können auch muzinöse Ovarialkarzinome CK7 negativ sein, dies konnte im untersuchten Kollektiv nur bei einem Fall beobachtet werden [105, 106]. CK7 negative Karzinome deuten also in Kombination mit anderen Proteinexpressionen

auf einen Ursprung im Kolon hin, während man bei einer positiven CK7 Expression einen Ursprung im Kolon nicht ausschließen kann.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen deutlich, dass bei einer positiven PAX8-Expression mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Ovarialkarzinom anzunehmen ist. Kolonkarzinome exprimierten im untersuchten Kollektiv kein PAX8, dagegen 50,0 % aller muzinösen Ovarialkarzinome. Bei einer negativen Expression kann sowohl ein Ovarial- als auch ein Kolonkarzinom vorliegen. Auch die Literatur bestätigt, dass Kolonkarzinome typischerweise kein PAX8 exprimieren [39, 107]. Eine positive PAX8-Expression kann bei entsprechender Fragestellung als Hinweis auf ein Ovarialkarzinom gewertet werden, allerdings exprimieren auch Nierenzell-, Zervix-, Endometrium- und Schilddrüsenkarzinome PAX8 [39, 107]. Der Anteil der PAX8 positiven Ovarialkarzinome wird in der Literatur mit Werten von 6,9 % [108] bis maximal 50 % [109] beschrieben [107, 110-112]. Die beobachtete Expression von PAX8 bei 50,0 % aller muzinösen Ovarialkarzinome ist also eher hoch, aber plausibel.

Ein fehlende MUC1 Expression deutet laut den Ergebnissen dieser Arbeit auf einen Ursprung im Dickdarm hin, eine positive Expression auf einen Ursprung im Ovar oder im Dickdarm. Im untersuchten Kollektiv wurde bei 60 % der Kolonkarzinome MUC1 exprimiert, während in der Literatur Expressionsraten von 46 % [113] bis 83,6 % [114] berichtet wurde. Bei den muzinösen Ovarialkarzinome exprimierten in unserem Kollektiv 100 % MUC1, in der Literatur gibt Berichte über Expressionsraten von 19,4 % [84] bis zu 83,33 % [115]. Weitere Expressionsraten von MUC1 bei Ovarialkarzinomen lagen bei 31,6 % [96], 58 % [116] und 62 % [117] Ein Grund für den deutlich erhöhten Anteil an MUC1 positiven Ovarialkarzinomen in unserem Kollektiv könnte sein, dass bereits ein geringer IRS von 2 als positive Expression gewertet wurde.

#### 5.2.2 Spezifität der immunhistochemischen Färbungen bezüglich des Karzinomursprungs

Ovarielle Metastasen stammen am häufigsten aus dem Dickdarm, weitere mögliche Ursprünge sind beispielsweise die Zervix, das pankreatikobiliäre System und der Magen [118].

Die Proteine MUC1, CDX2, CK20 und CK7 können sowohl von muzinösen Ovarialkarzinomen als auch von Dickdarmkarzinomen exprimiert werden und sind

folglich unspezifisch. Zusätzlich werden MUC1, CDX2 und CK7 von Zervix- und Magenkarzinomen sowie Karzinomen des pankreatikobiliären Systems exprimiert [77-79, 119-122]. CK20 wird von Magenkarzinomen und Karzinomen des pankreatikobiliären Systems exprimiert, nicht aber von Zervixkarzinomen [77, 119, 120].

SATB2 fällt bei einem Ursprung im Dickdarm typischerweise stark positiv aus, bei einem Ursprung in Ovar, Zervix oder Magen dagegen negativ. Bei Karzinomen des gastroösophagealen Übergangs sowie bei Karzinomen des pankreatikobiliären Systems ist jedoch eine positive Reaktion und somit eine Verwechslung mit Dickdarmkarzinomen möglich [5, 65-67, 123].

PAX8 fällt bei Karzinomen mit Ursprung in Dickdarm, Magen und pankreatikobiliären System negativ aus. Schilddrüsen-, Nierenzell-, Zervix- und Endometriumkarzinome können PAX8 exprimieren. Vor allem bei Zervixkarzinomen und Endometriumkarzinomen kann es zu einer Verwechslung mit muzinösen Ovarialkarzinomen kommen [107, 124, 125].

Eine genaue Differentialdiagnostik unter alleiniger Verwendung der Expressionsmuster der genannten Färbungen ist also oft problematisch. Daher sollten differenzialdiagnostische Überlegungen bei einer positiven Expression dieser Marker stets auch die Morphologie des Tumors, den klinischen Befund und eventuell weitere immunhistochemische Färbungen miteinbeziehen.

### 5.2.3 Immunhistochemisches Panel zur besseren Differentialdiagnostik

Von der aktuellen S3-Leitlinie werden für die Differentialdiagnostik von muzinösen Ovarialkarzinomen und sekundären Ovarialkarzinomen aus Dickdarm, Zervix und oberem GI-Trakt die immunhistochemische Färbungen CK7, CK20, CDX2, SATB2 und p16 empfohlen. Die statistischen Berechnungen dieser Arbeit und die Literaturrecherche ergaben, dass die immunhistochemischen Färbungen SATB2, CK7, PAX8, MUC1 für die Differentialdiagnostik zwischen primären muzinösen Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen mit Ursprung im Dickdarm zu empfehlen sind. Die Färbung CK20 (P-Wert: 0,062) sowie die Färbungen CDX2 (P-Wert: 0,062) und MUC5AC (P-Wert: 0,055) zeigten einen Trend zur Signifikanz. Die Färbung p16 wird verwendet, um Metastasen aus der

Zervix auszuschließen, was in der vorliegenden Arbeit nicht weiter untersucht wurde. Auf Grundlage der im vorherigen Absatz diskutierten Ergebnisse wäre es sinnvoll, das bisher empfohlene Panel CK7, CK20, CDX2, SATB2 und p16 um die Färbungen MUC1 und PAX8 zu ergänzen um die Differentialdiagnostik zwischen muzinösen Ovarialkarzinomen und Dickdarmkarzinomen zu verbessern (Tabelle 47).

Primärtumor	CK7	CK20	CDX2	SATB2	p16	PAX8	MUC1
Ovar	+	(+)	+	-	+/-	+/-	+
Dickdarm	(+)	+	+	+	-	-	+/-

Tabelle 47: Erweitertes Panel (rot) zur Differenzialdiagnostik primärer muzinöser OVCA's und ovarieller Metastasen mit Ursprung im Dickdarm auf Grundlage der Leitlinie (schwarz)

### 5.3 Graduierung

Für muzinöse Ovarialkarzinome besteht laut der WHO-Klassifikation von 2014 kein einheitliches Graduierungssystem. In der Praxis werden sie jedoch oft nach den Regeln für endometrioiden Karzinome graduiert [5, 10].

Ein valides Graduierungssystem ist für die Abschätzung der Prognose sowie für therapeutische Entscheidungen wichtig [22].

#### 5.3.1 Konventionelle Graduierung nach Regeln für Endometriumkarzinome

Um zu überprüfen, ob das Graduierungssystem nach den Regeln für endometrioiden Karzinome für muzinöse Ovarialkarzinome sinnvoll ist, wurden Kaplan-Meier Überlebenskurven zu den verschiedenen Stufen der Graduierung (G1-G3) erstellt.

Es zeigte sich bei gemeinsamer Betrachtung eine signifikante Korrelation der Graduierung mit dem Überleben der Patientinnen (P-Wert 0,013). Bei genauerer Analyse der Überlebenszeiten in Abhängigkeit von G1-G3 untereinander ergab sich jedoch, dass sich nur die Überlebenszeiten von G1 und G3 statistisch signifikant unterschieden (P-Wert: 0,001).

Dies legt nahe, dass das dreistufige Graduierungssystem nach den Regeln für endometrioiden Karzinome nicht für die Unterscheidung zwischen gut und mittelmäßig

bzw. mittelmäßig und schlecht differenzierten muzinösen Ovarialkarzinomen geeignet ist. Daraus ergibt sich die Überlegung, ein binäres Graduierungssystem zu entwickeln.

### 5.3.2 Eignung signifikanten Faktoren ER $\alpha$ , PAX8, Wachstumsmuster und CK20 für die Entwicklung eines Gradierungssystems

#### 5.3.2.1 ER $\alpha$

ER $\alpha$ -negative Karzinome waren in dieser Arbeit signifikant mit einem kürzeren Überleben assoziiert (P-Wert: 0,026). Bei gemeinsamer Betrachtung mit T-Stadium und Alter durch eine multivariate Analyse ließ sich ein signifikanter Einfluss auf das Überleben jedoch nicht bestätigen. Daher kann ER $\alpha$  nicht für das Grading von muzinösen Ovarialkarzinomen herangezogen werden.

Generell wird ER $\alpha$  sowohl nukleär als auch zytoplasmatisch in fortgeschrittenen Ovarialkarzinomen exprimiert. Eine positive zytoplasmatische ER $\alpha$ -Expression ist signifikant mit einem längeren und krankheitsfreien Überleben assoziiert [126]. Dies entspricht den Beobachtungen dieser Arbeit bezüglich des Überlebens und der ER-Expression. Dagegen berichten Sieh et al., dass eine Östrogenrezeptorexpression keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Überleben bei muzinösen Ovarialkarzinomen zeigt [127].

#### 5.3.2.2 PAX8

Eine positive PAX8-Expression korrelierte sowohl signifikant mit einem niedrigen Grading nach den Regeln für Endometriumkarzinome (P-Wert: 0,016), als auch mit längerem Überleben (P-Wert: 0,009) und expansivem Wachstumsmuster (P-Wert: 0,007).

Zur genauen, molekularen Funktion von PAX8 bei muzinösen Ovarialkarzinomen gibt es bislang keine ausreichenden Untersuchungen. Ähnliche Korrelationen wie beim muzinösen Ovarialkarzinom wurden bei Medulloblastomen beobachtet, bei denen laut Harter et al. eine hohe PAX8-Expression mit einer besseren Prognose assoziiert ist, da beispielsweise Proliferation und Zellmigration unterdrückt werden [132].

Interessanterweise verhält sich die Prognose von Endometrium- und high-grade serösen Ovarialkarzinomen im Zusammenhang mit der PAX8 Expression entgegengesetzt und die Überexpression von PAX8 ist mit einer schlechteren Prognose verbunden [128]. Beim high-grade serösen Ovarialkarzinom ist PAX8 durch gesteigerte Proliferation und Zellmigration sowie eine Hemmung von Apoptose für Wachstumsvorteile der Karzinomzellen verantwortlich [129-131]. Diese gegensätzliche Auswirkung einer PAX8 Überexpression bei muzinösen und serösen Ovarialkarzinomen auf die Prognose ist bislang in der Literatur nicht vorbeschrieben. Endometrioiden Tumoren und die epithelialen Ovarialkarzinome (außer dem muzinösen Ovarialkarzinom), welche vom Müllergang abstammen, sind im Gegensatz zu muzinösen Ovarialkarzinomen typischerweise PAX8 positiv [107, 132, 133]. PAX8 wird als Marker mit hoher Spezifität für einen Karzinomsprung aus Zellen des Müllergangs bewertet [134, 135]. Kakun et al stellt aufgrund dieser Fakten die Hypothese auf, dass muzinöse Ovarialkarzinome einen anderen embryonalen Ursprung als zum Beispiel seröse Ovarialkarzinome haben könnten [133]. Das unterschiedliche Expressionsmuster und der gegensätzliche Einfluss einer PAX8 Überexpression auf die Prognose, welche in dieser Arbeit festgestellt wurden, könnte ein weiteres Argument für diese Hypothese eines anderen embryonalen Ursprungs darstellen. Dieser unterschiedliche embryonale Ursprung könnte bestimmen, welche Rolle PAX8 übernimmt.

Bei gemeinsamer Betrachtung mit den Einflussfaktoren T-Stadium und Alter durch eine multivariate Analyse ließ sich ein signifikanter Einfluss auf das Überleben bestätigen (P-Wert: 0,008). Es handelt sich bei der PAX8-Expression also um einen unabhängigen Prognosefaktor, dessen Expression mit einer signifikant besseren Prognose verbunden ist (Hazard Ratio 0,24).

#### 5.3.2.3 Wachstumsmuster

Es ist bekannt, dass ein destruktives Wachstumsmuster mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist. Ein rein expansives Wachstumsmuster geht dagegen mit einer besseren Prognose einher [10, 36, 136-138]. Dieser Zusammenhang wurde in dieser Arbeit durch eine Überlebenszeitanalyse bestätigt (P-Wert: 0,006). Auch unter Berücksichtigung von Alter und T-Stadium durch multivariate Analysen zeigte sich ein signifikanter Einfluss des Wachstumsmusters auf die Überlebensdauer (P-Wert: 0,016).

Muyldermans et al. stellten fest, dass der expansive Typ meist in Stadium 1 diagnostiziert wurde und im Gegensatz zum destruktiven Typ nicht mit Lymphknotenmetastasen assoziiert war [137]. Khunamornpong et al. stellten fest, dass die Patientinnen mit expansiven Wachstumsmuster im Durchschnitt jünger waren als Patientinnen mit destruktiven Wachstumsmuster. Diese Erkenntnisse geben Rückschlüsse darauf, warum ein destruktives Wachstumsmuster das Überleben negativ beeinflusst.

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen, dass es sich beim Wachstumsmuster um einen unabhängigen Prognosefaktor handelt und ein destruktives Wachstumsmuster eine signifikant schlechtere Prognose (Hazard Ratio: 3,40) bedingt.

#### 5.3.2.4 CK20

In den multivariaten Analysen zeigt sich unter Einbeziehung der potenziellen Einflussfaktoren Alter und T-Stadium ein signifikanter Einfluss auf das Überleben (P-Wert 0,013). Eine CK20-Expression stellt einen unabhängigen Prognosefaktor für ein schlechteres Überleben (Hazard Ratio: 6,55) dar.

Literatur zur Auswirkung der CK20-Expression auf die Prognose von muzinösen Ovarialkarzinomen ist nicht vorhanden. Allerdings geht eine positive CK20-Expression auch bei Urothelkarzinomen mit einer schlechteren Prognose bzw. einer höheren Rezidivrate einher [139-141]. In unterschiedlichen Studien wurde gezeigt, dass bei einem kolorektalem Karzinom eine positive CK20-Expression im Tumor, im Serum oder in zirkulierenden Tumorzellen mit einem kürzeren Überleben assoziiert ist [142-144]. Dagegen zeigte sich in der Studie von Kim et al, dass bei kolorektalen Karzinomen eine negative Expression von CK20/CDX2 mit einer ungünstigeren Prognose einhergeht [145].

Beim Urothelkarzinom kann CK20 zur Unterscheidung von high-grade und low-grade Karzinomen verwendet werden. Eine CK20 Expression weist eher auf ein high-grade Urothelkarzinom hin [146, 147].

### 5.3.3 Überlegungen für ein zweistufiges Graduierungssystem

Durch Berechnungen wie Überlebenszeitanalysen wurden folgende Faktoren als aussichtsreiche Parameter für ein zweistufiges Graduierungssystem ermittelt: PAX8, CK20 und das Wachstumsmuster. In multivariaten Analysen zeigte sich, dass unter Berücksichtigung der potenziellen Einflussfaktoren Alter und T-Stadium nur die PAX8-Expression, die CK20-Expression und das Wachstumsmuster einen signifikanten Einfluss auf die Hazard-Ratio besitzen. Bei positiver CK20-Expression zeigte sich ein 6,55-fach erhöhtes Sterberisiko. Bei expansivem Wachstumsmuster war das Sterberisiko 0,29-fach vermindert, bei positiver PAX8-Expression 0,24-fach. Die CK20-Expression, PAX8-Expression und das Wachstumsmuster sind folglich unabhängige Prognosefaktoren.

PAX8, CK20 und das Wachstumsmuster können einzeln oder in Kombination für die Definition eines neuen, zweistufigen Graduierungssystems herangezogen werden. Aus diesen Markern ergeben sich sieben Kombinationsmöglichkeiten.

In multivariaten Analysen zeigte sich unter Berücksichtigung von Alter und T-Stadium, dass bei Kombination von zwei oder allen drei Merkmalen nur die Kombination CK20/Wachstumsmuster sinnvoll wäre. Hier bleibt sowohl der Einfluss der CK20-Expression als auch des Wachstumsmusters unabhängig voneinander signifikant. Allerdings kann ein System, in dem die Kombination *CK20+/infiltratives Wachstumsmuster* high-grade Karzinome und die Kombination *CK20-/expansives Wachstumsmuster* low-grade Karzinome definiert nur 37,5% aller Fälle einordnen und ist daher alleinig nicht ausreichend.

Eine weitere Möglichkeit eines zweistufigen Graduierungssystems ist die Einteilung nach einem der beiden unabhängigen Prognosefaktoren PAX8, CK20 und Wachstumsmuster. Da sich die Expression von CK20 am stärksten auf die Hazard Ratio auswirkt (Faktor 6,57), könnte eine zweistufige Graduierung nach CK20 sinnvoll sein. High-grade Karzinome wären in diesem System durch Expression von CK20 definiert, low-grade Karzinome durch negative Expression von CK20. Durch ein Graduierungssystem nach CK20 lassen sich alle untersuchten Ovarialkarzinome erfassen.

Auch für Urothelkarzinome wurde in Studien eine Einteilung anhand der CK20-Expression in high-grade (CK20 positiv) und low-grade (CK20 negativ) Karzinome vorgeschlagen [146, 147]. Auch wenn dies bis dato das einzige Beispiel für die



Verwendung der CK20-Expression zur Einteilung eines zweistufigen Graduierungssystems darstellt, untermauert dies die Ergebnisse dieser Arbeit bezüglich eines Gradings für muzinöse Ovarialkarzinome nach der CK20-Expression.

Wittekind et al stellte 2016 in „Der Pathologe“ folgende Forderungen an ein gutes Graduierungssystem auf: Das System solle einfach, leicht anzuwenden, zuverlässig und reproduzierbar sein [22].

In der WHO-Klassifikation von 2020 wird das expansive / konfluierende Wachstumsmuster als eindeutiger Faktor für eine bessere Prognose beschrieben [31, 137, 148]. Eine Graduierung nach dem Wachstumsmuster würde die von Wittekind genannten Forderungen für ein einfaches und reproduzierbares Graduierungssystem erfüllen.

## 5.4 Pathogenese/Karzinogenese

### 5.4.1 Spiegeln immunhistochemische Reaktionen die Progression einer muzinösen ovariellen Neoplasie wider?

Die Karzinogenese beschreibt den Prozess verschiedener Ereignisse oder Faktoren, der zur Entstehung einer malignen Tumorerkrankung führt. Zu erwarten wäre, dass tumorfördernde Gene im Zuge der malignen Progression von muzinösen Zystadenomen über muzinöse Borderlinetumoren zu Ovarialkarzinomen verstärkt exprimiert, tumorhemmende Gene dagegen herunterreguliert werden. Bis dato ist die Aktivierung der *KRAS*-Mutation als frühes Ereignis in der Karzinogenese von Ovarialkarzinomen bekannt. Für Codon 12/13 *KRAS*-Mutationen wurde eine steigende Häufigkeit von muzinösen Adenomen über Borderlinetumoren zu Karzinomen festgestellt [10, 31, 32]. Da diese Arbeit auf immunhistochemischen Untersuchungen basiert, wurde getestet, ob sich die Expression bestimmter immunhistochemischer Merkmale in Bezug auf die Dignität der Tumoren statistisch signifikant verändert.

Interessanterweise zeigte sich im untersuchten Kollektiv ein signifikanter Zusammenhang zwischen der REG4- und MUC5AC-Expression mit der Tumordignität.

#### 5.4.1.1 REG4

Im untersuchten Kollektiv waren 90,0% der muzinösen Ovarialkarzinome und 100% der muzinösen Borderlinetumoren und Zystadenome REG4-positiv. Ein Zusammenhang zwischen REG4 und Letalität bzw. Überleben konnte in den statistischen Berechnungen dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden. Allerdings zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mit dem FIGO-Stadium sowohl bei Berechnungen, die sowohl Borderlinetumoren zusammen mit Ovarialkarzinomen (P-Wert Spearman: 0,002; P-Wert Chi-Quadrat: 0,006), als auch ausschließlich Ovarialkarzinome (P-Wert Spearman: 0,026) einbezogen.

REG4 wird stärker in gutartigen und moderat differenzierten muzinösen Ovarialtumoren (Borderlinetumoren und muzinösen Zystadenomen) exprimiert als in schlecht differenzierten [72, 75]. Die REG4-Expression wird also mit Fortschreiten der malignen Transformation herunterreguliert. Dies ähnelt dem REG4 Expressionsmuster bei kolorektalen Karzinomen [74]. Eine gain-of-function REG4-Mutation könnte also ähnlich wie beim kolorektalen Karzinom als frühes Ereignis in der malignen Transformation an der Adenom-Karzinom-Sequenz von muzinösen Ovarialkarzinomen beteiligt sein. Wie von Chen et al. und Huang et al. beschrieben, wird auch im untersuchten Kollektiv die REG4-Expression mit Fortschreiten der malignen Transformation herunterreguliert (P-Wert Spearman: 0,038).

Dagegen wird REG4 in der Studie von Lehtinen et al. in muzinösen Zystadenomen nicht exprimiert, in muzinösen Borderlinetumoren nur gering und in muzinösen Karzinomen dagegen stark [76]. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von Chen et al., Huang et al. und dieser Studie.

REG4 spielt durch Modulation von Proliferation, Apoptose, Migration und Invasion von Ovarialkarzinomzellen eine wichtige Rolle in der frühen Karzinogenese von Ovarialkarzinomen [75], ähnlich wie bei kolorektalen Karzinomen [149]. Eine verstärkte REG4-Expression scheint ein aggressives Verhalten von Ovarialkarzinomen durch transkriptionelle Regulierung zu fördern [75]. Dies könnte ähnlich wie beim Kolonkarzinom an der Hemmung der Apoptose durch verstärkte Expression von Bcl-2, Bcl-xl und Survivin liegen [75, 149]. Die Expression von REG4 ist ein unabhängiger, prognostisch ungünstiger Indikator für das Gesamtüberleben von Patientinnen mit

Ovarialkarzinom. Das Verhältnis von REG4-Expression zu kumulativem und rückfallfreiem Überleben ist umgekehrt proportional [75].

Insgesamt unterstützen diese Ergebnisse die Hypothese, dass eine REG4-Überexpression ein frühes Ereignis in der Adenom-Karzinom-Sequenz von muzinösen Ovarialkarzinomen darstellt und anschließend herunterreguliert wird.

#### 5.4.1.2 MUC5AC

Im untersuchten Kollektiv ging die Expression von MUC5AC im Zuge der malignen Transformation von muzinösen Zystadenomen über Borderlinetumoren zu Ovarialkarzinomen verloren. Dieser Zusammenhang zeigte sich sowohl in der Korrelationsanalyse nach Spearman (P-Wert: 0,000) als auch im Chi-Quadrat Test (P-Wert: 0,001) signifikant. Dieser Zusammenhang wurde für muzinöse Ovarialkarzinome bisher in den Arbeiten von Hirabayashi et al. und Wang et al. beschrieben [95, 96].

In Studien betrug die MUC5AC-Expression bei muzinösen Zystadenomen und muzinösen Borderlinetumoren 100 % [88, 95, 96]. Bei muzinösen Ovarialkarzinomen wird von MUC5AC-Expressionsraten von 100 % berichtet [88, 89], allerdings auch von einem Verlust der MUC5AC-Expression [95, 96]. Bei Wang et al. beträgt die MUC5AC-Expression bei muzinösen Ovarialkarzinomen 94,8 %, bei Hirabayashi et al. wird ein signifikanter MUC5AC-Expressionsverlust im Vergleich zu Zystadenomen und Borderlinetumoren festgestellt.

Im Vergleich dazu verringerte sich in unserem Kollektiv die MUC5AC-Expression von 87,5% bei Zystadenomen über 75,0 % bei Borderlinetumoren zu 42,5 % bei muzinösen Ovarialkarzinomen. Bei Hirabayashi et ist die MUC5AC Expression bei muzinösen Ovarialkarzinomen signifikant geringer als bei Zystadenomen und Borderlinetumoren.

Ein Zusammenhang zwischen MUC5AC-Expression und Letalität bzw. Überleben konnte in den statistischen Berechnungen dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden. Auch bei Hirabayashi et al. konnte kein Zusammenhang zwischen MUC5AC-Expression und Überleben festgestellt werden [95]. Dagegen ist eine MUC5AC-Expression bei Magenkarzinomen mit einer schlechteren Prognose und einem beschleunigten Krankheitsverlauf assoziiert [90].

Allerdings zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang von MUC5AC-Expression und dem FIGO-Stadium bei Berechnungen, die Borderlinetumoren und Ovarialkarzinome einbezogen (P-Wert Spearman: 0,043; P-Wert Chi-Quadrat: 0,043). Auch zwischen der MUC5AC-Expression und dem T-Stadium zeigte sich bei gemeinsamer Betrachtung von Borderlinetumoren und Ovarialkarzinomen ein statistisch signifikanter Zusammenhang (P-Wert Spearman: 0,022).

Beim Pankreaskarzinom wurde nachgewiesen, dass MUC5AC durch verstärkte Invasivität der Karzinomzellen, immunsuppressive Wirkung und Hemmung der Apoptose zur Progression des Pankreaskarzinoms beiträgt [91-93]. Auch bei muzinösen Ovarialkarzinomen könnte die maligne Transformation durch ähnliche Mechanismen bedingt sein.

In der Gesamtschau erscheint ein Verlust der MUC5AC-Expression als Ausdruck der Karzinogenese aufgrund der starken statistischen Signifikanz und Studien, die zu ähnlichen Ergebnissen kamen plausibel.

#### 5.4.2 Welche diagnostische Relevanz haben diese Ergebnisse?

Die Ergebnisse dieser Arbeit und der untersuchten Literatur deuten darauf hin, dass ein Verlust der REG4-Expression und ein Verlust der MUC5AC-Expression wichtige Ereignisse in der Adenom-Karzinom-Sequenz darstellen. Aus diesen Erkenntnissen können auch klinische Schlussfolgerungen gezogen werden.

Da die MUC5AC-Expression von Adenomen über Borderlinetumoren zu Karzinomen signifikant sinkt, kann eine negative MUC5AC-Färbung bei fraglicher Differentialdiagnostik zwischen Adenom/ Borderlinetumor bzw. Borderlinetumor/ Karzinom als Hinweis auf eine fortgeschrittene maligne Transformation gewertet werden.

Aufgrund des möglichen Verlusts der REG4-Expression bei Ovarialkarzinomen kann bei fraglicher Differentialdiagnostik zwischen Borderlinetumor und Ovarialkarzinom eine negative REG4-Färbung als Hinweis auf ein Ovarialkarzinom gewertet werden.

Allerdings wirken sich die REG4- und MUC5AC-Expression bei muzinösen Ovarialkarzinomen nicht negativ aufs Überleben aus (P-Wert REG4: 0,843; P-Wert MUC5AC: 0,603).

Die Schnittmenge REG4 und MUC5AC negativer Fälle aus dem untersuchten Kollektiv beinhaltet die drei Fälle 336,325 und 306.

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Ovarialkarzinom sowohl REG4 als auch MUC5AC nicht exprimierte betrug im untersuchten Kollektiv also 7,5 %. Bei diesen Ovarialtumoren, die sowohl MUC5AC als auch REG4 nicht exprimieren, ist die Wahrscheinlichkeit einer fortgeschrittenen malignen Transformation somit theoretisch erhöht.

## **6 Zusammenfassung**

In der pathologischen Diagnostik ist eine Abgrenzung zwischen primären muzinösen Ovarialkarzinomen und ovariellen Metastasen mit Ursprung in Kolon, Zervix, Pankreas und Gallenblase immer noch problematisch [5, 10], da diese Karzinome eine ähnliche Histomorphologie und überlappende immunhistochemische Expressionsmuster aufweisen können. Die richtige Differentialdiagnostik ist jedoch eine grundlegende Voraussetzung für die leitliniengemäße Behandlung der betroffenen Patientinnen.

Für muzinöse Ovarialkarzinome gibt es bis heute kein einheitliches Graduierungssystem, in der Praxis werden sie häufig analog endometrioider Karzinome graduiert [5, 10]. Auch eine genaue Erforschung der Mechanismen, die zur Tumorentstehung und Progression bei muzinösen Ovarialkarzinomen beitragen ist wichtig, da so Ansatzpunkte für neue diagnostische Ansätze oder Therapiemöglichkeiten entdeckt werden können.

Ziel dieser Arbeit war es, zunächst die bisherigen Diagnosen aus dem Kollektiv zu überprüfen und ein Panel von möglichst spezifischen immunhistochemischen Färbungen für eine bessere Differentialdiagnostik von primären muzinösen Ovarialkarzinomen und sekundären Karzinomen im Ovar zu definieren. Außerdem sollte ein zweistufiges Graduierungssystem anhand von immunhistochemischen Färbungen entwickelt werden. Weiterhin sollte untersucht werden, ob sich anhand der Expressionsmuster von immunhistochemischen Färbungen neue Erkenntnisse über Karzinogenese / Pathogenese von muzinösen Zystadenomen über Borderlinetumoren zu Karzinomen ergeben.

Das Kollektiv bestand aus 26 muzinösen Zystadenomen, 26 muzinösen Borderlinetumoren, 46 muzinösen Ovarialkarzinomen sowie 10 muzinösen Karzinomen unklarer

Herkunft. Immunhistochemische Färbungen für CK7, CK20, CDX2, ER, PR, PAX8, SATB2, REG4, MUC1 und MUC5AC wurden durchgeführt. Die Expression wurde mit Hilfe des immunreaktiven Scores nach Remmele und Stegner ermittelt.

Anhand der Histomorphologie, des Expressionsmusters der immunhistochemischen Färbungen sowie klinischer Daten wurden die Fälle nach der aktuellen WHO-Klassifikation reevaluiert. Dabei stellte sich bei 2 Zystadenomen, 2 Borderlinetumoren und einem Ovarialkarzinom heraus, dass es sich um seromuzinöse Tumoren bzw. um ein endometrioides Ovarialkarzinom handelte. Von den verbliebenen 45 muzinösen Ovarialkarzinomen entpuppten sich 4 Fällen als Metastasen von Dickdarmkarzinomen, zwei Karzinome ließen sich keinem eindeutigen Ursprung zuordnen. Bei den zehn muzinösen Karzinomen unklarer Herkunft waren sich die Erstuntersucher von vorneherein bezüglich der Diagnose unsicher. Aus dieser Kategorie verbleiben zwei Fälle unklar, ein Fall wurde als muzinöses Ovarialkarzinom eingeordnet, ein weiterer Fall als Endometriumkarzinom. Die weiteren 6 Fälle konnten als Kolonkarzinommetastasen eingeordnet werden. Anhand der Re-Evaluation wird deutlich, dass es bis zum Jahr 2014 zu diagnostischen Problemen und bis zum Jahr 2011 auch zu Fehlinterpretationen durch mangelnde technische Möglichkeiten kam.

Da sich nach der Re-Evaluation zeigte, dass es sich bei den Karzinomen anderen Ursprungs in diesem Kollektiv fast ausschließlich um Kolonkarzinome handelt, konnten hier nur die Unterschiede im immunhistochemischen Färbeverhalten von muzinösen Ovarialkarzinomen und Kolonkarzinomen durch Kontingenzanalysen statistisch untersucht werden. Im exakten Test nach Fisher zeigten sich die Färbungen CK7, SATB2, PAX8, und MUC1 signifikant und für diese Differentialdiagnostik geeignet (P-Werte: 0,000; 0,000; 0,003; 0,001). Eine positive PAX8-Expression spricht für einen Ursprung des Karzinoms im Ovar. Im untersuchten Kollektiv betrug die PAX8-Expression innerhalb der Ovarialkarzinome 50,0%. Bei einer fehlenden Expression kann sowohl ein Ovarial- als auch ein Kolonkarzinom vorliegen. Eine fehlende MUC1-Expression deutet laut den Ergebnissen dieser Arbeit auf einen Ursprung im Dickdarm hin (40% aller Dickdarmkarzinome), eine positive Expression auf einen Ursprung im Ovar oder im Dickdarm (100% aller Ovarialkarzinome und 60% aller Dickdarmkarzinome).

Da die Färbungen MUC1, CK20, CK7 und CDX2 jedoch unspezifisch sind, ist eine genaue Differentialdiagnostik anhand des Expressionsmusters dieser Färbungen problematisch

[39]. Bei SATB2 ist in seltenen Fällen eine Verwechslung zu Karzinomen des gastroösophagealen Übergangs und des pankreatikobiliären Systems möglich, da SATB2 hier ebenfalls exprimiert werden kann [65-67, 123]. Bei einer positiven PAX8-Expression ist vor allem eine Verwechslung mit Zervix- oder Endometriumkarzinomen möglich, da PAX8 hier ebenfalls exprimiert wird [107, 124]. Die statistischen Untersuchungen dieser Arbeit legen nahe, zur besseren Differentialdiagnostik zwischen muzinösen Ovarialkarzinomen und Dickdarmkarzinomen das bisher empfohlene Panel CK7, CK20, CDX2, SATB2 und p16 um die Färbungen MUC1 und PAX8 zu ergänzen.

Muzinöse Ovarialkarzinome werden in der Praxis oft nach den Regeln für endometrioides Karzinome graduiert. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass dieses Graduierungssystem nicht für die Unterscheidung zwischen gut und mittelmäßig differenzierten muzinösen Ovarialkarzinomen geeignet ist. Durch statistische Untersuchungen wurden die Färbungen CK20, ER, PAX8 und das Wachstumsmuster als Kandidaten für ein neues, zweistufiges Graduierungssystem identifiziert. Anhand von Cox-Regressionsanalysen wurde untersucht, wie groß der Effekt der vermuteten Einflussgrößen unter Berücksichtigung von T-Stadium und Alter auf die zensierte Überlebenszeit ist. In der Cox-Regressionsanalyse zeigte sich, dass die Expression von PAX8 und CK20 sowie das Wachstumsmuster einen signifikanten Einfluss auf die Hazard-Ratio besitzen und somit unabhängige Prognosefaktoren darstellten (PAX8: P-Wert: 0,008; HR: 0,242; CK20: P-Wert: 0,013; HR: 6,546; WM: 0,016; HR: 0,294). In der WHO-Klassifikation von 2020 wird das expansive Wachstumsmuster als Faktor für eine bessere Prognose beschrieben. Um ein einfaches, zuverlässiges und reproduzierbares Graduierungssystem zu schaffen empfehlen wir daher die Graduierung nach dem Wachstumsmuster.

Die Färbungen REG4 und MUC5AC zeigten bezüglich der Tumordignität eine signifikante Korrelation (P-Werte Spearman-Rho: 0,038; 0,000), bei der Analyse durch Kontingenzanalyse durch den Chi-Quadrat Test zeigte sich nur MUC5AC signifikant (P-Wert: 0,001). In der Literatur und in weiteren statistischen Untersuchungen fanden sich jedoch keine Anhaltspunkte für die Hypothese, dass SATB2 zur Karzinogenese von Ovarialtumoren beiträgt. Im untersuchten Kollektiv wird die REG4-Expression mit Fortschreiten der malignen Transformation herunterreguliert. Insgesamt unterstützen die Ergebnisse dieser Arbeit die Hypothese, dass eine REG4-Überexpression ein frühes Ereignis in der

Adenom-Karzinom Sequenz von muzinösen Ovarialkarzinomen darstellt und anschließend herunterreguliert wird [72, 74, 75]. Im untersuchten Kollektiv ging auch die Expression von MUC5AC im Zuge der malignen Transformation von muzinösen Zystadenomen zu Ovarialkarzinomen verloren. Insgesamt erscheint ein Verlust der MUC5AC-Expression als Ausdruck der fortgeschrittenen Karzinogenese aufgrund der starken Signifikanz in zwei verschiedenen statistischen Testverfahren und ähnlicher Ergebnisse in anderen Studien plausibel. Aufgrund dieser Ergebnisse kann bei fraglicher Differentialdiagnostik zwischen Adenom / Borderlinetumor bzw. Borderlinetumor / Karzinom eine negative MUC5AC- oder REG4-Expression als Hinweis auf eine fortgeschrittene maligne Transformation gewertet werden.

Weitere Studien mit größeren Patientenkollektiven und molekularen Untersuchungen wären wünschenswert, um den MUC5AC/ REG4-Verlust im Zuge der Karzinogenese sowie die Validität eines binären Graduierungssystems unter Einschluss des Wachstumsmusters und immunhistochemischer Färbungen wie CK20 und PAX8 zu beurteilen. Außerdem sollten zur besseren Unterscheidung von seltenen Differentialdiagnosen des muzinösen Ovarialkarzinoms wie Pankreas-, Magen- oder Gallenblasenkarzinomen weitere Studien zu immunhistochemischen Markern durchgeführt werden.



## 7 Anhang

### 7.1 Verzeichnisse

#### 7.1.1 Abkürzungsverzeichnis

CA	Karzinom
Colon-CA	Kolonkarzinom
destr.	destruktiv
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DX	Diagnose
ED	Erstdiagnose
ELISA	Enzyme linked immuno absorbent assay
exp	expansiv
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
GI	Gastrointestinal
GIT	Gastrointestinaltrakt
HE	Hämatoxilin-Eosin = Standardfärbung
HR	Hazard-Ratio
IHC	Immunhistochemie
KI	Konfidenzintervall
LAMN	low-grade muzinöse Neoplasie der Appendix
li	links
LK	Lymphknoten
LMP	Low malignant potential = Borderline-Tumor
muz	muzinös
neg	negativ
OVCA	Ovarialkarzinom
PE	Probeexzision
pos	positiv
re	rechts
UICC	Union Internationale Contre Cancer
WHO	World Health Organisation
WM	Wachstumsmuster

## 7.1.2 Literaturverzeichnis . . . . .

1. Barnett, R., *Ovarian cancer*. Lancet, 2016. **387**(10025): p. 1265.
2. Hart, W.R., *Mucinous tumors of the ovary: a review*. Int J Gynecol Pathol, 2005. **24**(1): p. 4-25.
3. Pfannenstiel, H., *Handbuch der Gynakologie, Die Erkrankungen des Eierstocks und Nebeneierstocks*. Vol. 3. 1898, Wiesbaden Bergmann.
4. Wittekind, C., *TNM-Klassifikation maligner Tumoren. 8. Auflage*. Vol. 8. 2017: Wittekind, C
5. Deutsche Krebsgesellschaft and D. Krebshilfe, *S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren Version 5.0-2021*, in *Leitlinienprogramm Onkologie*. 2021.
6. ZfKD im Robert Koch-Institut and G.d.e.K. e.V., *Krebs in Deutschland-Eierstöcke (C56)*. 2013/14.
7. Perren, T.J., *Mucinous epithelial ovarian carcinoma*. Ann Oncol, 2016. **27 Suppl 1**: p. i53-i57.
8. Kobel, M., et al., *Differences in tumor type in low-stage versus high-stage ovarian carcinomas*. Int J Gynecol Pathol, 2010. **29**(3): p. 203-11.
9. Seidman, J.D., et al., *The histologic type and stage distribution of ovarian carcinomas of surface epithelial origin*. Int J Gynecol Pathol, 2004. **23**(1): p. 41-4.
10. Kurman, R.J., et al., *WHO Classification of Tumors of Female Reproductive Organs*. Vol. 4. 2014: IARC.
11. *Ovarialtumoren in der Übersicht*. 2017 [cited 2019 31.01]; Available from: <https://www.amboss.com/de/wissen/Ovarialtumoren>.
12. Webb, P.M. and S.J. Jordan, *Epidemiology of epithelial ovarian cancer*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017. **41**: p. 3-14.
13. Shih Ie, M. and R.J. Kurman, *Ovarian tumorigenesis: a proposed model based on morphological and molecular genetic analysis*. Am J Pathol, 2004. **164**(5): p. 1511-8.
14. Kurman, R.J. and M. Shih Ie, *The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded*. Am J Pathol, 2016. **186**(4): p. 733-47.
15. du Bois, A. and N. Ewald-Riegler, *Borderline-Tumoren des Ovars – eine systematische Übersicht*, in *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2009. p. 807-833.
16. Morice, P. and D. Denschlag, *Recommendations of the Fertility Task Force of the European Society of Gynecologic Oncology About the Conservative Management of Ovarian Malignant Tumors*. International Journal of Gynecological Cancer, 2011: p. 951-63.
17. Faluyi, O., et al., *Interventions for the treatment of borderline ovarian tumours*. Cochrane Database Syst Rev, 2010(9): p. CD007696.
18. Zaino, R.J., et al., *Advanced stage mucinous adenocarcinoma of the ovary is both rare and highly lethal: a Gynecologic Oncology Group study*. Cancer, 2011. **117**(3): p. 554-62.
19. Taylor, J. and W.G. McCluggage, *Ovarian seromucinous carcinoma: report of a series of a newly categorized and uncommon neoplasm*. Am J Surg Pathol, 2015. **39**(7): p. 983-92.
20. Kobel, M., et al., *An Immunohistochemical Algorithm for Ovarian Carcinoma Typing*. Int J Gynecol Pathol, 2016. **35**(5): p. 430-41.
21. Wittekind, C. and A. Tannapfel, *Prinzipien der Pathologie in der Onkologie*. Kompendium internistische Onkologie. 2006: Springer Verlag.
22. Wittekind, C., *[General aspects of tumor grading]*. Pathologe, 2016. **37**(4): p. 283-4.
23. Haber, D., *Prophylactic oophorectomy to reduce the risk of ovarian and breast cancer in carriers of BRCA mutations*. N Engl J Med, 2002. **346**(21): p. 1660-2.

24. IARC, W.a., *Hormonal Contraception and Post-menopausal Hormonal Therapy*. 1999. **72**.
25. Collaborative Group on Epidemiological Studies of Ovarian, C., et al., *Ovarian cancer and oral contraceptives: collaborative reanalysis of data from 45 epidemiological studies including 23,257 women with ovarian cancer and 87,303 controls*. *Lancet*, 2008. **371**(9609): p. 303-14.
26. Cibula, D., et al., *Tubal ligation and the risk of ovarian cancer: review and meta-analysis*. *Hum Reprod Update*, 2011. **17**(1): p. 55-67.
27. Cetin, I., V. Cozzi, and P. Antonazzo, *Infertility as a cancer risk factor - a review*. *Placenta*, 2008. **29 Suppl B**: p. 169-77.
28. Olsen, C.M., et al., *Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis*. *Eur J Cancer*, 2007. **43**(4): p. 690-709.
29. McCluggage, W.G., *The pathology of and controversial aspects of ovarian borderline tumours*. *Curr Opin Oncol*, 2010. **22**(5): p. 462-72.
30. McCluggage, W.G., *My approach to and thoughts on the typing of ovarian carcinomas*. *J Clin Pathol*, 2008. **61**(2): p. 152-63.
31. Rodriguez, I.M. and J. Prat, *Mucinous tumors of the ovary: a clinicopathologic analysis of 75 borderline tumors (of intestinal type) and carcinomas*. *Am J Surg Pathol*, 2002. **26**(2): p. 139-52.
32. Cuatrecasas, M., et al., *K-ras mutations in mucinous ovarian tumors: a clinicopathologic and molecular study of 95 cases*. *Cancer*, 1997. **79**(8): p. 1581-6.
33. Weyerstahl, T. and M. Stauber, *Duale Reihe Gynäkologie und Geburtshilfe*. Vol. 4. 2013: Georg Thieme Verlag.
34. du Bois, A., et al., *Role of surgical outcome as prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer: a combined exploratory analysis of 3 prospectively randomized phase 3 multicenter trials: by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Studiengruppe Ovariakarzinom (AGO-OVAR) and the Groupe d'Investigateurs Nationaux Pour les Etudes des Cancers de l'Ovaire (GINECO)*. *Cancer*, 2009. **115**(6): p. 1234-44.
35. Chan, J.K., et al., *The potential benefit of 6 vs. 3 cycles of chemotherapy in subsets of women with early-stage high-risk epithelial ovarian cancer: an exploratory analysis of a Gynecologic Oncology Group study*. *Gynecol Oncol*, 2010. **116**(3): p. 301-6.
36. Lax, S. and A. Staebler, *[Mucinous ovarian neoplasms. Prognostically mostly excellent, infrequently a wolf in sheep's clothing]*. *Pathologe*, 2014. **35**(4): p. 327-35.
37. Li, J., et al., *The prognostic value of tumor-infiltrating T lymphocytes in ovarian cancer*. *Oncotarget*, 2017. **8**(9): p. 15621-15631.
38. Waldron, L., et al., *Comparative meta-analysis of prognostic gene signatures for late-stage ovarian cancer*. *J Natl Cancer Inst*, 2014. **106**(5).
39. Rekhman, N. and J. Bishop, *Quick Reference Handbook for Surgical Pathologists*. 2011: Springer Verlag Berlin Heidelberg.
40. Xiang, L. and B. Kong, *PAX8 is a novel marker for differentiating between various types of tumor, particularly ovarian epithelial carcinomas*. *Oncol Lett*, 2013. **5**(3): p. 735-738.
41. Olsen, J., et al., *CDX2 downregulation is associated with poor differentiation and MMR deficiency in colon cancer*. *Exp Mol Pathol*, 2016. **100**(1): p. 59-66.
42. Chu, P.G., et al., *Determining the site of origin of mucinous adenocarcinoma: an immunohistochemical study of 175 cases*. *Am J Surg Pathol*, 2011. **35**(12): p. 1830-6.
43. Werling, R.W., et al., *CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas*. *Am J Surg Pathol*, 2003. **27**(3): p. 303-10.
44. Rossi, G., et al., *Primary mucinous (so-called colloid) carcinomas of the lung: a clinicopathologic and immunohistochemical study with special reference to CDX-2 homeobox gene and MUC2 expression*. *Am J Surg Pathol*, 2004. **28**(4): p. 442-52.
45. Bayrak, R., H. Haltas, and S. Yenidunya, *The value of CDX2 and cytokeratins 7 and 20 expression in differentiating colorectal adenocarcinomas from extraintestinal*

- gastrointestinal adenocarcinomas: cytokeratin 7-/20+ phenotype is more specific than CDX2 antibody.* Diagn Pathol, 2012. **7**: p. 9.
46. Willcocks, D., et al., *Estrogen and progesterone receptors in human ovarian tumors.* Gynecol Oncol, 1983. **16**(2): p. 246-53.
  47. Liu, C., et al., *Expression of estrogen receptors, androgen receptor and steroid receptor coactivator-3 is negatively correlated to the differentiation of astrocytic tumors.* Cancer Epidemiol, 2014. **38**(3): p. 291-7.
  48. Vang, R., et al., *Immunohistochemistry for estrogen and progesterone receptors in the distinction of primary and metastatic mucinous tumors in the ovary: an analysis of 124 cases.* Mod Pathol, 2006. **19**(1): p. 97-105.
  49. Dionigi, A., et al., *Ovarian metastases from colorectal carcinoma. Clinicopathologic profile, immunophenotype, and karyotype analysis.* Am J Clin Pathol, 2000. **114**(1): p. 111-22.
  50. Cameron, B.L., et al., *Immunohistochemical determination of the estrogen receptor content of gastrointestinal adenocarcinomas.* Am Surg, 1992. **58**(12): p. 758-60.
  51. Chu, P.G. and L.M. Weiss, *Immunohistochemical characterization of signet-ring cell carcinomas of the stomach, breast, and colon.* Am J Clin Pathol, 2004. **121**(6): p. 884-92.
  52. Xin, Y., et al., *Relationship between phenotypes of cell-function differentiation and pathobiological behavior of gastric carcinomas.* World J Gastroenterol, 2001. **7**(1): p. 53-9.
  53. Koullias, G.J., et al., *Increased estrogen receptor and epidermal growth factor receptor gene product co-expression in surgically resected gastric adenocarcinomas.* J Surg Oncol, 1996. **63**(3): p. 166-71.
  54. Baskaran, V., et al., *Do the progesterone receptors have a role to play in gallbladder cancer?* Int J Gastrointest Cancer, 2005. **35**(1): p. 61-8.
  55. Ko, C.Y., et al., *Estrogen receptors in gallbladder cancer: detection by an improved immunohistochemical assay.* Am Surg, 1995. **61**(10): p. 930-3.
  56. Malik, I.A., et al., *Immuno-histochemical analysis of estrogen receptors on the malignant gallbladder tissue.* J Pak Med Assoc, 1998. **48**(5): p. 123-6.
  57. Bassiouny, D., et al., *Comprehensive Clinicopathologic and Updated Immunohistochemical Characterization of Primary Ovarian Mucinous Carcinoma.* Int J Surg Pathol, 2018. **26**(4): p. 306-317.
  58. Ajani, M.A., et al., *Hormone-receptor expression status of epithelial ovarian cancer in Ibadan, South-western Nigeria.* Pan Afr Med J, 2017. **27**: p. 259.
  59. Tkalia, I.G., et al., *Clinical significance of hormonal receptor status of malignant ovarian tumors.* Exp Oncol, 2014. **36**(2): p. 125-33.
  60. Gomora, M.J., et al., *Sexual steroid hormone receptors profiles of ovarian carcinoma in Mexican women.* Endocr Connect, 2018. **7**(9): p. 1006-1012.
  61. Schmoeckel, E., T. Kirchner, and D. Mayr, *SATB2 is a supportive marker for the differentiation of a primary mucinous tumor of the ovary and an ovarian metastasis of a low-grade appendiceal mucinous neoplasm (LAMN): A series of seven cases.* Pathol Res Pract, 2018. **214**(3): p. 426-430.
  62. Dobрева, G., et al., *SATB2 is a multifunctional determinant of craniofacial patterning and osteoblast differentiation.* Cell, 2006. **125**(5): p. 971-86.
  63. Britanova, O., et al., *Satb2 is a postmitotic determinant for upper-layer neuron specification in the neocortex.* Neuron, 2008. **57**(3): p. 378-92.
  64. Alcamo, E.A., et al., *Satb2 regulates callosal projection neuron identity in the developing cerebral cortex.* Neuron, 2008. **57**(3): p. 364-77.
  65. Dragomir, A., et al., *The role of SATB2 as a diagnostic marker for tumors of colorectal origin: Results of a pathology-based clinical prospective study.* Am J Clin Pathol, 2014. **141**(5): p. 630-8.
  66. Magnusson, K., et al., *SATB2 in combination with cytokeratin 20 identifies over 95% of all colorectal carcinomas.* Am J Surg Pathol, 2011. **35**(7): p. 937-48.

67. Moh, M., et al., *SATB2 Expression Distinguishes Ovarian Metastases of Colorectal and Appendiceal Origin From Primary Ovarian Tumors of Mucinous or Endometrioid Type*. *Am J Surg Pathol*, 2016. **40**(3): p. 419-32.
68. Perez Montiel, D., et al., *The value of SATB2 in the differential diagnosis of intestinal-type mucinous tumors of the ovary: primary vs metastatic*. *Ann Diagn Pathol*, 2015. **19**(4): p. 249-52.
69. Strickland, S., et al., *Immunohistochemistry in the Diagnosis of Mucinous Neoplasms Involving the Ovary: The Added Value of SATB2 and Biomarker Discovery Through Protein Expression Database Mining*. *Int J Gynecol Pathol*, 2016. **35**(3): p. 191-208.
70. Wang, H.L., et al., *Practical Immunohistochemistry in Neoplastic Pathology of the Gastrointestinal Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas*. *Arch Pathol Lab Med*, 2017. **141**(9): p. 1155-1180.
71. Zhang, Y.W., L.S. Ding, and M.D. Lai, *Reg gene family and human diseases*. *World J Gastroenterol*, 2003. **9**(12): p. 2635-41.
72. Huang, Q., et al., *Expression of REG4 in ovarian mucinous tumors*. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2014. **22**(4): p. 295-301.
73. Hartupée, J.C., et al., *Isolation and characterization of a cDNA encoding a novel member of the human regenerating protein family: Reg IV*. *Biochim Biophys Acta*, 2001. **1518**(3): p. 287-93.
74. Li, X.H., et al., *REG IV overexpression in an early stage of colorectal carcinogenesis: an immunohistochemical study*. *Histol Histopathol*, 2010. **25**(4): p. 473-84.
75. Chen, S., et al., *The role of the REG4 gene and its encoding product in ovarian epithelial carcinoma*. *BMC Cancer*, 2015. **15**: p. 471.
76. Lehtinen, L., et al., *REG4 Is Highly Expressed in Mucinous Ovarian Cancer: A Potential Novel Serum Biomarker*. *PLoS One*, 2016. **11**(3): p. e0151590.
77. Ponten, F. and C. Lindskog. *The Human Protein Atlas*. Available from: <https://www.proteinatlas.org/>.
78. Wang, X.T., et al., *MUC1 Immunohistochemical Expression as a Prognostic Factor in Gastric Cancer: Meta-Analysis*. *Dis Markers*, 2016. **2016**: p. 9421571.
79. Togami, S., et al., *Expression of mucin antigens (MUC1 and MUC16) as a prognostic factor for mucinous adenocarcinoma of the uterine cervix*. *J Obstet Gynaecol Res*, 2010. **36**(3): p. 588-97.
80. Sagara, M., et al., *Expression of mucin 1 (MUC1) in esophageal squamous-cell carcinoma: its relationship with prognosis*. *Int J Cancer*, 1999. **84**(3): p. 251-7.
81. McGuckin, M.A., et al., *Prognostic significance of MUC1 epithelial mucin expression in breast cancer*. *Hum Pathol*, 1995. **26**(4): p. 432-9.
82. Van Elssen, C.H., et al., *Expression of aberrantly glycosylated Mucin-1 in ovarian cancer*. *Histopathology*, 2010. **57**(4): p. 597-606.
83. Wang, L., et al., *Expression of MUC1 in primary and metastatic human epithelial ovarian cancer and its therapeutic significance*. *Gynecol Oncol*, 2007. **105**(3): p. 695-702.
84. Wang, J. and M.A. El-Bahrawy, *Expression profile of mucins in ovarian mucinous tumors: distinguishing primary ovarian from metastatic tumors*. *Int J Gynecol Pathol*, 2014. **33**(2): p. 166-75.
85. Evans, C.M. and J.S. Koo, *Airway mucus: the good, the bad, the sticky*. *Pharmacol Ther*, 2009. **121**(3): p. 332-48.
86. Lau, S.K., L.M. Weiss, and P.G. Chu, *Differential expression of MUC1, MUC2, and MUC5AC in carcinomas of various sites: an immunohistochemical study*. *Am J Clin Pathol*, 2004. **122**(1): p. 61-9.
87. Lee, M.J., et al., *Expression of mucins and cytokeratins in primary carcinomas of the digestive system*. *Mod Pathol*, 2003. **16**(5): p. 403-10.
88. Albarracin, C.T., et al., *Differential expression of MUC2 and MUC5AC mucin genes in primary ovarian and metastatic colonic carcinoma*. *Hum Pathol*, 2000. **31**(6): p. 672-7.

89. Ji, H., et al., *Cytokeratins 7 and 20, Dpc4, and MUC5AC in the distinction of metastatic mucinous carcinomas in the ovary from primary ovarian mucinous tumors: Dpc4 assists in identifying metastatic pancreatic carcinomas*. *Int J Gynecol Pathol*, 2002. **21**(4): p. 391-400.
90. Baldus, S.E., et al., *Correlation of MUC5AC immunoreactivity with histopathological subtypes and prognosis of gastric carcinoma*. *Ann Surg Oncol*, 2002. **9**(9): p. 887-93.
91. Hoshi, H., et al., *Tumor-associated MUC5AC stimulates in vivo tumorigenicity of human pancreatic cancer*. *Int J Oncol*, 2011. **38**(3): p. 619-27.
92. Hoshi, H., et al., *MUC5AC protects pancreatic cancer cells from TRAIL-induced death pathways*. *Int J Oncol*, 2013. **42**(3): p. 887-93.
93. Yamazoe, S., et al., *RNA interference suppression of mucin 5AC (MUC5AC) reduces the adhesive and invasive capacity of human pancreatic cancer cells*. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010. **29**: p. 53.
94. Musrap, N., et al., *Proteomic analysis of cancer and mesothelial cells reveals an increase in Mucin 5AC during ovarian cancer and peritoneal interaction*. *J Proteomics*, 2014. **103**: p. 204-15.
95. Hirabayashi, K., et al., *Alterations in mucin expression in ovarian mucinous tumors: immunohistochemical analysis of MUC2, MUC5AC, MUC6, and CD10 expression*. *Acta Histochem Cytochem*, 2008. **41**(2): p. 15-21.
96. Wang, J. and M. El-Bahrawy, *Expression profile of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) in ovarian mucinous tumours: changes in expression from benign to malignant tumours*. *Histopathology*, 2015. **66**(4): p. 529-35.
97. Remmele, W., *Pathologie 4*. Vol. 2. 1997, Springer: Remmele, W.
98. Remmele, W. and H. Stegner, *Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue*. *Pathologie*, 1987.
99. Müller, M., P. Haag, and N. Hanhart, *Gynäkologie und Urologie für Studium und Praxis*. Vol. 8. 2016: Medizinische Verlags- und Informationsdienste.
100. Crane, E.K. and J. Brown, *Early stage mucinous ovarian cancer: A review*. *Gynecol Oncol*, 2018. **149**(3): p. 598-604.
101. Strickland, S. and C. Parra-Herran, *Immunohistochemical characterization of appendiceal mucinous neoplasms and the value of special AT-rich sequence-binding protein 2 in their distinction from primary ovarian mucinous tumours*. *Histopathology*, 2016. **68**(7): p. 977-87.
102. Krebsgesellschaft, D. and D. Krebshilfe, *S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren*, in *Leitlinienprogramm Onkologie*. 2013.
103. Krebsgesellschaft, D. and D. Krebshilfe, *S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge maligner Ovarialtumoren*, in *Leitlinienprogramm Onkologie*. 2021.
104. Kim, C.J., et al., *Value of SATB2 immunostaining in the distinction between small intestinal and colorectal adenocarcinomas*. *J Clin Pathol*, 2016. **69**(12): p. 1046-1050.
105. Shin, J.H., et al., *CK7, CK20, CDX2 and MUC2 Immunohistochemical staining used to distinguish metastatic colorectal carcinoma involving ovary from primary ovarian mucinous adenocarcinoma*. *Jpn J Clin Oncol*, 2010. **40**(3): p. 208-13.
106. Vang, R., et al., *Cytokeratins 7 and 20 in primary and secondary mucinous tumors of the ovary: analysis of coordinate immunohistochemical expression profiles and staining distribution in 179 cases*. *Am J Surg Pathol*, 2006. **30**(9): p. 1130-9.
107. Laury, A.R., et al., *A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors*. *Am J Surg Pathol*, 2011. **35**(6): p. 816-26.
108. Kobel, M., et al., *Ovarian carcinoma subtypes are different diseases: implications for biomarker studies*. *PLoS Med*, 2008. **5**(12): p. e232.
109. Tacha, D., D. Zhou, and L. Cheng, *Expression of PAX8 in normal and neoplastic tissues: a comprehensive immunohistochemical study*. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2011. **19**(4): p. 293-9.

110. Ates Ozdemir, D. and A. Usubutun, *PAX2, PAX8 and CDX2 Expression in Metastatic Mucinous, Primary Ovarian Mucinous and Seromucinous Tumors and Review of the Literature*. *Pathol Oncol Res*, 2016. **22**(3): p. 593-9.
111. Wang, M., et al., *PAX2 and PAX8 reliably distinguishes ovarian serous tumors from mucinous tumors*. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2015. **23**(4): p. 280-7.
112. Liliac, L., et al., *The value of PAX8 and WT1 molecules in ovarian cancer diagnosis*. *Rom J Morphol Embryol*, 2013. **54**(1): p. 17-27.
113. Diaz Del Arco, C., et al., *MUC1 expression in colorectal carcinoma: Clinicopathological correlation and prognostic significance*. *Rev Esp Patol*, 2018. **51**(4): p. 204-209.
114. Cascio, S. and O.J. Finn, *Complex of MUC1, CIN85 and Cbl in Colon Cancer Progression and Metastasis*. *Cancers (Basel)*, 2015. **7**(1): p. 342-52.
115. Hou, R., et al., *Lewis(y) antigen promotes the progression of epithelial ovarian cancer by stimulating MUC1 expression*. *Int J Mol Med*, 2017. **40**(2): p. 293-302.
116. Dian, D., et al., *Staining of MUC1 in ovarian cancer tissues with PankoMab-GEX detecting the tumour-associated epitope, TA-MUC1, as compared to antibodies HMFG-1 and 115D8*. *Histol Histopathol*, 2013. **28**(2): p. 239-44.
117. Feng, H., et al., *Expression of MUC1 and MUC2 mucin gene products in human ovarian carcinomas*. *Jpn J Clin Oncol*, 2002. **32**(12): p. 525-9.
118. Kurman, R., M. Carcangiu, and C. Herrington, *WHO Classification of Tumours of the Female Genital Tract*. Vol. 4. 2014: IARC Press: Lyon.
119. Perysinakis, I., et al., *Differential Expression of beta-Catenin, EGFR, CK7, CK20, MUC1, MUC2, and CDX2 in Intestinal and Pancreatobiliary-Type Ampullary Carcinomas*. *Int J Surg Pathol*, 2017. **25**(1): p. 31-40.
120. Park, K.J., et al., *Immunoprofile of adenocarcinomas of the endometrium, endocervix, and ovary with mucinous differentiation*. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2009. **17**(1): p. 8-11.
121. Moschovis, D., G. Bamias, and I. Delladetsima, *Mucins in neoplasms of pancreas, ampulla of Vater and biliary system*. *World J Gastrointest Oncol*, 2016. **8**(10): p. 725-734.
122. Flucke, U., et al., *Immunoreactivity of cytokeratins (CK7, CK20) and mucin peptide core antigens (MUC1, MUC2, MUC5AC) in adenocarcinomas, normal and metaplastic tissues of the distal oesophagus, oesophago-gastric junction and proximal stomach*. *Histopathology*, 2003. **43**(2): p. 127-34.
123. Lin, F., et al., *Cadherin-17 and SATB2 are sensitive and specific immunomarkers for medullary carcinoma of the large intestine*. *Arch Pathol Lab Med*, 2014. **138**(8): p. 1015-26.
124. Wong, S., et al., *Comprehensive Analysis of PAX8 Expression in Epithelial Malignancies of the Uterine Cervix*. *Int J Gynecol Pathol*, 2017. **36**(2): p. 101-106.
125. Woodard, A.H., et al., *NY-BR-1 and PAX8 immunoreactivity in breast, gynecologic tract, and other CK7+ carcinomas: potential use for determining site of origin*. *Am J Clin Pathol*, 2011. **136**(3): p. 428-35.
126. Chan, K.K.L., et al., *Differential expression of estrogen receptor subtypes and variants in ovarian cancer: effects on cell invasion, proliferation and prognosis*. *BMC Cancer*, 2017. **17**(1): p. 606.
127. Sieh, W., et al., *Hormone-receptor expression and ovarian cancer survival: an Ovarian Tumor Tissue Analysis consortium study*. *Lancet Oncol*, 2013. **14**(9): p. 853-62.
128. Mhawech-Fauceglia, P., et al., *Pair-Box (PAX8) protein-positive expression is associated with poor disease outcome in women with endometrial cancer*. *Br J Cancer*, 2012. **107**(2): p. 370-4.
129. Ghannam-Shahbari, D., et al., *PAX8 activates a p53-p21-dependent pro-proliferative effect in high grade serous ovarian carcinoma*. *Oncogene*, 2018. **37**(17): p. 2213-2224.
130. Hardy, L.R., A. Salvi, and J.E. Burdette, *UnPAXing the Divergent Roles of PAX2 and PAX8 in High-Grade Serous Ovarian Cancer*. *Cancers (Basel)*, 2018. **10**(8).

131. Rodgers, L.H., et al., *Loss of PAX8 in high-grade serous ovarian cancer reduces cell survival despite unique modes of action in the fallopian tube and ovarian surface epithelium*. *Oncotarget*, 2016. **7**(22): p. 32785-95.
132. Chai, H.J., et al., *PAX8 is a potential marker for the diagnosis of primary epithelial ovarian cancer*. *Oncol Lett*, 2017. **14**(5): p. 5871-5875.
133. Kakun, R.R., Z. Melamed, and R. Perets, *PAX8 in the Junction between Development and Tumorigenesis*. *Int J Mol Sci*, 2022. **23**(13).
134. Tong, G.X., et al., *Pax8: a marker for carcinoma of Mullerian origin in serous effusions*. *Diagn Cytopathol*, 2011. **39**(8): p. 567-74.
135. Ozcan, A., et al., *PAX2 and PAX8 expression in primary and metastatic mullerian epithelial tumors: a comprehensive comparison*. *Am J Surg Pathol*, 2011. **35**(12): p. 1837-47.
136. Tabrizi, A.D., et al., *Primary ovarian mucinous carcinoma of intestinal type: significance of pattern of invasion and immunohistochemical expression profile in a series of 31 cases*. *Int J Gynecol Pathol*, 2010. **29**(2): p. 99-107.
137. Muyldermans, K., et al., *Primary invasive mucinous ovarian carcinoma of the intestinal type: importance of the expansile versus infiltrative type in predicting recurrence and lymph node metastases*. *Eur J Cancer*, 2013. **49**(7): p. 1600-8.
138. Kim, S.K. and N.H. Cho, *HER2-positive mucinous adenocarcinomas of the ovary have an expansile invasive pattern associated with a favorable prognosis*. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014. **7**(7): p. 4222-30.
139. Sikic, D., et al., *Immunohistochemical subtyping using CK20 and CK5 can identify urothelial carcinomas of the upper urinary tract with a poor prognosis*. *PLoS One*, 2017. **12**(6): p. e0179602.
140. Bertz, S., et al., *Combination of CK20 and Ki-67 immunostaining analysis predicts recurrence, progression, and cancer-specific survival in pT1 urothelial bladder cancer*. *Eur Urol*, 2014. **65**(1): p. 218-26.
141. Jung, M., B. Kim, and K.C. Moon, *Immunohistochemistry of cytokeratin (CK) 5/6, CD44 and CK20 as prognostic biomarkers of non-muscle-invasive papillary upper tract urothelial carcinoma*. *Histopathology*, 2019. **74**(3): p. 483-493.
142. Hinz, S., et al., *Detection of circulating tumor cells with CK20 RT-PCR is an independent negative prognostic marker in colon cancer patients - a prospective study*. *BMC Cancer*, 2017. **17**(1): p. 53.
143. Li, W.X., et al., *Predictive value of CK20 in evaluating the efficacy of treatment and prognosis after surgery for colorectal cancer*. *Genet Mol Res*, 2015. **14**(2): p. 5823-9.
144. Tunca, B., et al., *Overexpression of CK20, MAP3K8 and EIF5A correlates with poor prognosis in early-onset colorectal cancer patients*. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013. **139**(4): p. 691-702.
145. Kim, J.H., et al., *Loss of CDX2/CK20 expression is associated with poorly differentiated carcinoma, the CpG island methylator phenotype, and adverse prognosis in microsatellite-unstable colorectal cancer*. *Am J Surg Pathol*, 2013. **37**(10): p. 1532-41.
146. Mumtaz, S., et al., *Diagnostic utility of p53 and CK20 immunohistochemical expression grading urothelial malignancies*. *Int Arch Med*, 2014. **7**: p. 36.
147. Ogata, D.C., et al., *Superficial papillary urothelial neoplasms of the bladder (PTA E PT1): correlation of expression of P53, KI-67 and CK20 with histologic grade, recurrence and tumor progression*. *Rev Col Bras Cir*, 2012. **39**(5): p. 394-400.
148. Khunamornpong, S., et al., *Primary ovarian mucinous adenocarcinoma of intestinal type: a clinicopathologic study of 46 cases*. *Int J Gynecol Pathol*, 2014. **33**(2): p. 176-85.
149. Bishnupuri, K.S., et al., *Reg IV activates the epidermal growth factor receptor/Akt/AP-1 signaling pathway in colon adenocarcinomas*. *Gastroenterology*, 2006. **130**(1): p. 137-49.



### 7.1.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Grading für muzinöse Ovarialkarzinome .....	34
Abbildung 2: FIGO-Klassifikation für muzinöse Ovarialkarzinome.....	35
Abbildung 3: A: Beispiel CK7-Expression (Fall 328) , B: Beispiel CK20-Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 321), C: Beispiel CDx2-Expression (Fall 309), D: Beispiel PAX8-Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 326) E: Beispiel ER $\alpha$ -Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 341) F: Beispiel PR-Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 305), G: Beispiel SATB2-Expression ( Fall 312).....	47
Abbildung 4: Beispiel REG4-Expression bei einem muzinösen Karzinom unklarer Genese (Fall 402), B: Beispiel MUC1-Expression bei einem muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 326) C: Beispiel MUC5 Expression bei einem muzinösen Karzinom unklarer Genese (Fall 322) .....	48
Abbildung 5: Wachstumsmuster muzinöser Ovarialkarzinome (n =40) .....	52
Abbildung 6: A: Beispiel für das invasive/destruktive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 305, Färbung: HE), B: Beispiel für das expansive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 300, Färbung: HE) .....	53
Abbildung 7: Kaplan-Meier Überlebenskurven stratifiziert nach der Graduierung nach den Regeln für endometrioide Karzinome (P-Wert Gesamtvergleich: 0,013).....	56
Abbildung 8: Kaplan-Meier Überlebenskurven stratifiziert nach ER-Expression (P-Wert: 0,026) .....	59
Abbildung 9: Kaplan-Meier Überlebenskurven stratifiziert nach PAX8-Expression (P-Wert: 0,009) .....	59
Abbildung 10: Kaplan-Meier Überlebenskurven stratifiziert nach dem Wachstumsmuster (P-Wert: 0,006) .....	60
Abbildung 11: A: Beispiel für ein muzinöses Zystadenom (Fall 113, Färbung: HE), B: Beispiel für einen muzinösen Borderlinetumor (Fall 221 , Färbung: HE), C: Beispiel für das invasive/destruktive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom, (Fall 305, Färbung: HE), D: Beispiel für das expansive Wachstumsmuster beim muzinösen Ovarialkarzinom (Fall 300, Färbung: HE).....	66
Abbildung 12: Expression MUC5AC nach Dignität .....	67
Abbildung 13: Expression REG4 nach Dignität .....	68

#### 7.1.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: immunhistochemische Expressionsmuster nach Ursprung laut WHO-Klassifikation [10]	15
Tabelle 2: immunhistochemische Expressionsmuster der histologischen Subtypen des Ovarialkarzinoms [5]	16
Tabelle 3: Empfohlenes Panel zur Differenzialdiagnostik von primären muzinösen OVCAs [5]	16
Tabelle 4: TNM- und FIGO Klassifikation [4]	17
Tabelle 5: Zusammenfassung der Graduierung der Ovarialkarzinome [5, 10]	18
Tabelle 6: Grading für endometrioides Ovarialkarzinome [10]	19
Tabelle 7: Expressionsprofile CK7 und CK20 [39]	24
Tabelle 8: Zusammensetzung Kollektiv	34
Tabelle 9: Alter bei Erstdiagnose	34
Tabelle 10: Verteilung der Todesdaten des Tumorregisters	35
Tabelle 11: Verwendete Färbungen nach Dignität	36
Tabelle 12: Mit dem Färbemodul Ventana Benchmark Ultra verwendete Antikörper	41
Tabelle 13: Daten zu dem Antikörper REG4	42
Tabelle 14: Definition Färbeintensität und Anzahl positiver Zellen für den immunreaktiven Score [97, 98]	43
Tabelle 15: Cut-offs für die Auswertung der verwendeten Färbungen [39, 77]	44
Tabelle 16: Relative und absolute Verteilung der konventionellen immunhistochemischen Färbungen im untersuchten Kollektiv nach Dignität bzw. Ursprung	46
Tabelle 17: prozentuale und absolute Verteilung der neuen immunhistochemischen Färbungen nach Dignität bzw. Ursprung	48
Tabelle 18: Zusammensetzung Kollektiv ohne seromuzinöse Tumoren	49
Tabelle 19: Änderungen der Diagnose in der Kategorie Ovarialkarzinome	50
Tabelle 20: Änderungen in der Kategorie „muzinöses Karzinom unklaren Ursprungs“	50
Tabelle 21: Relevante Daten der reevaluierten Fälle (1: muz. OVCA, 2. muz. Karzinom unklaren Ursprungs, 3. Kolonkarzinom, 4. Endometriumkarzinom, A: verstorben, B: lebt, lost to follow up, C: lebt)	51
Tabelle 22: Zusammensetzung Kollektiv nach Re-Evaluation	52
Tabelle 23: Werte aller immunreaktiven Scores von Ovarialkarzinomen und Dickdarmkarzinomen	53
Tabelle 24: Ergebnisse Kontingenzanalyse Expressionsmuster immunhistochemische Färbung/ Herkunft Karzinom	54
Tabelle 25: Kreuztabelle Expression SATB2/ Herkunft Karzinom	54
Tabelle 26: Kreuztabelle Expression CK7/ Herkunft Karzinom	55
Tabelle 27: Kreuztabelle Expression PAX8/ Herkunft Karzinom	55
Tabelle 28: Kreuztabelle Expression MUC1/ Herkunft Karzinom	55
Tabelle 29: Gesamtvergleich Überlebenszeiten in Bezug auf Graduierung	56
Tabelle 30: Paarweiser Vergleich Überlebenszeiten in Bezug auf die Graduierung	57
Tabelle 31: Kontingenzanalyse und Korrelationsanalyse bezüglich Graduierung und Expressionsmuster immunhistochemische Färbungen/Wachstumsmuster	57
Tabelle 32: Ergebnisse Log-Rank Test stratifiziert nach Expressionsmuster immunhistochemischer Färbungen/ Wachstumsmuster	58
Tabelle 33: Ergebnisse Kontingenzanalyse Wachstumsmuster/ Expressionsmuster immunhistochemischer Färbungen	61
Tabelle 34: Kreuztabelle PAX8-Expression/Wachstumsmuster	61
Tabelle 35: Kreuztabelle MUC5AC-Expression/Wachstumsmuster	61

Tabelle 36: Ergebnisse der Cox-Regressionsanalysen der potenziellen Einflussfaktoren unter Berücksichtigung von Alter und T-Stadium.....	62
Tabelle 37: Potenzielle zweistufige Graduierungssysteme, die sich aus den Faktoren CK20-Expression, Wachstumsmuster und PAX8-Expression ergeben .....	63
Tabelle 38: Cox-Regressionsanalyse unter Berücksichtigung von T-Stadium, Alter, PAX8- und CK20-Expression.....	64
Tabelle 39: Cox-Regressionsanalyse unter Berücksichtigung von T-Stadium, Alter, PAX8-Expression und Wachstumsmuster.....	64
Tabelle 40: Cox-Regressionsanalyse unter Berücksichtigung von T-Stadium, Alter, CK20-Expression und Wachstumsmuster.....	64
Tabelle 41: Cox-Regressionsanalyse unter Berücksichtigung von T-Stadium, Alter, CK20- und PAX8-Expression und Wachstumsmuster .....	65
Tabelle 42: Korrelationsanalyse und Kontingenzanalyse zu Färbung/ Dignität.....	66
Tabelle 43: Kreuztabelle MUC5AC/Dignität .....	67
Tabelle 44: Kreuztabelle REG4/Dignität.....	68
Tabelle 45: Untersuchung MUC5AC bzgl. Überlebensdauer, -status und FIGO-/T-Stadium .....	69
Tabelle 46: Untersuchung REG4 bzgl. Überlebensdauer/- status und FIGO-/T-Stadium .....	69
Tabelle 47: Erweitertes Panel (rot) zur Differenzialdiagnostik primärer muzinöser OVCA und ovarieller Metastasen mit Ursprung im Dickdarm auf Grundlage der Leitlinie (schwarz).....	76

## 7.2 Danksagung

Bei **Herrn Prof. Dr. Thomas Kirchner und Herrn Prof. Dr. Frederick Klauschen** bedanke ich mich für die Möglichkeit, diese Arbeit unter Ihrer Direktion am Pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität durchzuführen.

Mein besonderer Dank gilt **Frau Prof. Dr. Doris Mayr** für die Aufnahme in Ihre Arbeitsgruppe und für die Betreuung dieser Dissertation als Doktormutter. Vielen Dank für die stetige Hilfe und Anleitung von den ersten Grundsatzüberlegungen bis hin zur fertigen Arbeit. Sie war jederzeit ansprechbar und nahm sich Zeit für alle Fragen und Herausforderungen.

**Frau PD. Dr. med. Elisa Schmoeckel** danke ich für ihre stets geduldige Unterstützung während jeder Phase dieser Arbeit.

Für die Beratung bei der statistischen Auswertung bedanke ich mich herzlich bei **Frau Dr. rer. biol. hum. Christine Adrion**.

Bei den Medizinisch-Technischen Angestellten des Pathologischen Instituts bedanke ich mich für das immer zeitnahe Erstellen der Schnitte und Färbungen, insbesondere bei **Fr. Anja Heier** und **Fr. Jessica Kövi**.

Auch allen weiteren Mitarbeitern des pathologischen Instituts, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben, aber hier nicht namentlich genannt wurden, gilt mein Dank.

Zu guter Letzt bedanke ich mich bei **meiner Familie und meinem Freund** für ihre Unterstützung während des ganzen Studiums und der Durchführung dieser Doktorarbeit.

### 7.3 Eidesstattliche Versicherung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

**„Etablierung und Überprüfung eines Biomarkerpanels zum besseren Karzinogeneseverständnis, sichereren Diagnostik und möglichen Graduierung der muzinösen Ovarialtumoren: Immunhistochemische Untersuchungen mit Korrelation zu klinischen, pathologischen und Überlebensdaten“**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Eva-Maria Holley

München, den 30.05.2023