

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Strahlentherapie  
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Komm.Direktorin: Frau PD Dr. med. Gabriele Hänsgen)



**Untersuchungen zur Zytokinexpression von Patienten mit  
fortgeschrittenen gynäkologischen Tumoren und Tumoren im  
Kopf-Hals-Bereich**

Dissertation

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

vorgelegt

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

von: Frank Peter Sieker

geboren am: 27.02.1973            in: Bielefeld

Gutachter:

1. Frau PD Dr. med. G. Hänsgen
2. Herr Prof. Dr. med. C. Rube (Homburg)

Eröffnungsdatum: 25.06.07

Verteidigungsdatum: 07.01.08

**urn:nbn:de:gbv:3-000012975**

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000012975>]

## Referat

In der vorliegenden Arbeit wurde die Expression von verschiedenen Zytokinen (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , VEGF) sowie von Entzündungs- und Anämieparametern (CRP, Leukozyten, Hämoglobin) bei Patienten mit fortgeschrittenen gynäkologischen- und Kopf-Hals-Tumoren untersucht. Es wurden Serumproben zu Beginn, während und am Ende der Radio-bzw. Radiochemotherapie entnommen. Die Zytokinbestimmung erfolgte mittels kommerzieller Immuno-Assays. Insgesamt wurden 52 Patienten untersucht, 30 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren und 22 Patienten mit gynäkologischen Tumoren. 45 Patienten befanden sich davon in den Tumorstadien III und IV. Nach Therapieende schloss sich eine Nachbeobachtung bis zu 28 Monaten an. Eine wesentliche Rolle spielte die Untersuchung von Zytokininteraktionen und möglichen Zusammenhängen zwischen der Zytokinexpressionshöhe und der Prognose. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS 11.0 für Windows. Es konnte aufgezeigt werden, dass enge Interaktionen sowohl zwischen den Zytokinen als auch zwischen Entzündungsparametern und proinflammatorischen Zytokinen bestehen, so dass ein „pathologisches Zytokinprofil“ bei vielen Patienten mit den o.g. Tumorentitäten vorzuliegen scheint. Eine Schlüsselrolle spielte das CRP. Patienten mit signifikant erhöhten CRP-Serumkonzentrationen wiesen häufig deutlich erhöhte Zytokinkonzentrationen auf und hatten eine schlechtere Prognose. Wichtig scheint in diesem Zusammenhang die enge Korrelation zwischen proinflammatorischen Zytokinen und dem CRP. Ebenso hatten hypoxische Verhältnisse im Wirtsorganismus häufig deutlich erhöhte Serumkonzentrationen mehrerer Zytokine zur Folge (VEGF, TNF- $\alpha$ , IL-6, MMP-9), d. h., die Expression verschiedener Zytokine kann möglicherweise durch Hypoxie induziert werden. Ein peritherapeutischer Hämoglobin-Ausgleich scheint daher sinnvoll zu sein.

Die Ergebnisse der Arbeit zeigen die Notwendigkeit einer multimodalen Tumorthherapie und sprechen für einen möglicherweise sinnvollen Einsatz von Zytokininhibitoren (z.B. VEGF, MMP-Inhibitoren) auch in der primären Tumorthherapie.

Frank Peter Sieker: Untersuchungen zur Zytokinexpression von Patienten mit fortgeschrittenen gynäkologischen Tumoren und Tumoren im Kopf-Hals-Bereich  
Halle, Univ., Med.Fak., Diss., 79 Seiten, 2007

## Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Einleitung	1
1.1	Allgemeine Einführung	1
1.2	Zielstellung der Arbeit	3
1.3	Zytokine	3
1.3.1	Erythropoetin	4
1.3.2	VEGF	5
1.3.3	IFN- $\gamma$	6
1.3.4	IL-1 $\beta$	7
1.3.5	TNF- $\alpha$	7
1.3.6	MMP-9	8
1.3.7	IL-6	9
1.3.8	IL-8	11
2	Material und Methodik	12
2.1	Patientengut	12
2.1.1	Altersverteilung	12
2.1.2	Diagnosegruppen	13
2.2	Therapieschemata	15
2.3	Bestimmung der Zytokine	16
2.4	Nachbeobachtung	16
2.5	Statistische Auswertung	17
3	Ergebnisse	18
3.1	Zytokinkonzentrationen	18
3.2	CRP, Hb, Leuk-, Thrombozytenkonzentrationen	20
3.3	Überleben	22
3.3.1	Einfluss der Zytokinkonzentrationen für das Geasamtkollektiv	22
3.3.2	Einfluss der Zytokinkonzentr. für die gynäkolog. Patienten	23
3.3.3	Einfluss der Zytokinkonzentr. für die Kopf-Hals-Patienten	24
3.3.4	Multivariate Analyse	24
3.4	Zytokinnetzwerk	25
3.4.1	Erythropoetin	25

3.4.2	VEGF	28
3.4.3	IFN- $\gamma$	33
3.4.4	IL-1 $\beta$	35
3.4.5	TNF- $\alpha$	38
3.4.6	MMP-9	43
3.4.7	IL-6	46
3.4.8	IL-8	49
4	Diskussion	52
4.1	Statistische Auswertung	52
4.2	Erythropoetin	52
4.3	VEGF	54
4.4	IFN- $\gamma$	56
4.5	IL-1 $\beta$	57
4.6	TNF- $\alpha$	58
4.7	MMP-9	59
4.8	IL-6	61
4.9	IL-8	62
5	Zusammenfassung und Schlußfolgerung	64
5.1	Entzündungsparameter und Zytokine	64
5.2	Hypoxie und Zytokine	65
5.3	Interaktionen der Zytokine	65
5.4	Schlußfolgerung	66
6	Literaturverzeichnis	67
7	Tabellenanhang	75
8	Thesen	78

## Abkürzungsverzeichnis

CRP	C-Reaktives-Protein
CUP	Cancer of Unknown Primary
EGF	Epidermal Growth Factor
EPO	Erythropoetin
Hb	Hämoglobin
HDR	High Dose Rate
HIF-1 $\alpha$	Hypoxia-Inducible Factor-1 alpha
HV-Radiatio	Hochvolt-Radiotherapie
IFN- $\gamma$	Interferon-gamma
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 beta
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IL-12	Interleukin-12
IL-18	Interleukin-18
LKCS	Leukozyten
MHC	Major Histocompatibility Complex
MMP-9	Matrixmetalloproteinase-9
MMPI	Matrixmetalloproteinaseinhibitor
NF $\kappa$ B	Nuclear Factor Kappa B
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
PAF	Platelet Activating Factor
TGF	Transforming Growth Factor
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor-alpha
TRCS	Thrombozyten
uPA	Plasminogenaktivatoren vom Urokinasetyp
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

# 1. Einleitung

## 1.1 Allgemeine Einführung

Die Entwicklung eines malignen Tumors ist äußerst komplex und berührt grundlegende Lebensvorgänge. Diese Komplexität lebender Systeme entzieht sich noch weitgehend unserem Verständnis (80). Ein Grundproblem in der Behandlung maligner Tumoren besteht in der Metastasierung und hier insbesondere in der Ausbildung von Fernmetastasen, die letztendlich über die weitere Prognose entscheidet und damit über das Schicksal des Patienten. Eine Vielzahl maligner Tumoren ist einer kurativen Therapie nicht mehr zugänglich, wenn der Tumor den Übergang von einer rein lokalen hin zu einer systemischen Erkrankung vollzogen hat.

Einer der Hauptschwerpunkte der aktuellen Grundlagen- und der klinischen Forschung liegt im Bereich des Tumormikromilieus sowie bei den Voraussetzungen für den Ablauf der malignen Progression. In den letzten Jahren konnten mehrere Medikamente in die Therapie von malignen Tumoren eingeführt werden, die zielgerichtet an molekularen Strukturen von Tumorzellen angreifen (targeted therapy). Auf diesem Weg soll z.B. über Inhibition der Angiogenese das Tumorwachstum verhindert werden.

Für den Prozess des Tumorwachstums und der Metastasierung sind vor allem zwei Grundvoraussetzungen für die Tumorzelle unabdingbar: zum einen die Destruktion der Basalmembran sowie der umgebenden extrazellulären Matrix und zum anderen die Neubildung von Blutgefäßen, die sog. Neoangiogenese. Bekannt ist auch, dass nicht alle zirkulierenden Tumorzellen das Potential zur Metastasierung besitzen, eine wichtige Funktion scheint hier den Zytokinen zuzukommen. Für die Destruktion der Basalmembran sowie die Zersetzung der extrazellulären Matrix spielen verschiedene Proteasen eine wichtige Rolle, von denen die Matrixmetalloproteinasen (MMPs) eine besondere Bedeutung besitzen (9, 83). Angiogenese ist notwendig, wenn ein solider Zellverband die Größe von ca. 1 mm überschreitet, da dann die Ernährung allein durch Diffusion nicht mehr gewährleistet werden kann. Es müssen Blutgefäße neu gebildet werden bzw. einsprießen (20). Einer der bedeutendsten Wachstumsfaktoren für die Tumorangiogenese ist das Glykoprotein VEGF, welches sowohl die Permeabilität der Endothelzellen steigert als auch ein eigenständiges angiogenes Potential besitzt. Volm et al. (1998) konnten zeigen, dass eine erhöhte Expression von VEGF mit einer schlechteren Prognose bei einigen Malignomen einherging.

Es ist bekannt, dass bestimmte Konstellationen im Tumormikromilieu, wie die Gewebhypoxie und eine hohe Konzentration an Entzündungsmediatoren, die

Tumoraggressivität heraufsetzen und damit eine wichtige Rolle für den weiteren Krankheitsverlauf spielen können (10). Schon Rudolf Virchow knüpfte 1863 einen Zusammenhang zwischen Entzündungsprozessen und malignem Geschehen, als er eine auffallend hohe Zahl an Leukozyten in Tumorgeweben fand (2). Dvorak (1986) griff diesen Zusammenhang wieder auf und sprach von „Tumoren als nicht heilenden Wunden“. Balkwill et al. (2001) bezeichnen den genetischen Defekt metaphorisch als den „Funken, der das Feuer entfacht“, sie sehen die Entzündungsmediatoren im Tumormikromilieu als „Brennstoffe, die die Flammen aufrecht erhalten“. Klinische Daten untermauern dies: So ist bekannt, dass Thalidomid als Inhibitor von VEGF und TNF- $\alpha$  bei Patienten mit einem multiplen Myelom eine antitumorale Aktivität besitzt (67). Mehrere Studien belegen außerdem, dass die Gruppe der Nicht-Steroidalen-Antirheumatika, z.B. die Acetylsalicylsäure, eine tumorprotektive Wirkung besitzt (38, 75).

Tumorhypoxie spielt eine wesentliche Rolle im Prozess der malignen Progression. Für einige Tumoren konnte die Hypoxie als ein unabhängiger Prognosefaktor neben den seit längeren bekannten, wie der Tumorgröße oder dem Lymphknotenstatus, detektiert werden. Belegt ist das deutlich schlechtere therapeutische Ansprechen von hypoxischen Tumoren bzw. Tumorarealen bei einer Radiotherapie aufgrund des Sauerstoffeffektes. Prosnitz et al. (2005) fanden ein schlechteres therapeutisches Ansprechen für prätherapeutisch anämische Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren. Mehrere Arbeiten zeigen mögliche weitere Kausalzusammenhänge auf, so z. B. eine enge Korrelation zwischen Tumorhypoxie und VEGF-Expression (15). In Übereinstimmung hiermit fanden Chen et. al. (1999) erhöhte Konzentrationen an proinflammatorischen und proangiogenetischen Zytokinen bei Kopf-Hals-Tumoren, die häufig hypoxische Areale aufwiesen. Teknos et al. (2002) publizierten Daten, die ein signifikant schlechteres Überleben bei Patienten mit fortgeschrittenen Larynxkarzinomen und erhöhten VEGF-Werten zeigten. Auch bei gynäkologischen Tumoren ist bekannt, dass Tumorhypoxie mit einer schlechteren Prognose einhergeht und häufig mit einer frühen lymphnodalen Metastasierung verbunden ist, welche von entscheidender Bedeutung für den weiteren Erkrankungsverlauf ist. Van Trappen et al. (2001) fanden in ihrem Patientenkollektiv nahezu bei 50 % der Zervixkarzinome in den FIGO-Stadien IA2-IB2 Tumorzellen in den pelvinen Lymphknoten im Sinne einer okkulten Mikrometastasierung. Diese sind häufig Ausgangspunkt eines Lokalrezidivs (29). Auch Kopf-Hals-Tumore können eine Vielzahl von proinflammatorischen Zytokinen ausschütten, als Beispiele seien hier das IL-6 (10, 72) , IL-8 (72) und IL-18 (45) genannt. Konsekutiv können diese zu einer Progredienz bzw. einer „Malignisierung“ des Tumors beitragen.

## 1.2 Zielstellung der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit war zunächst die Evaluierung der Expression von verschiedenen Zytokinen bei fortgeschrittenen Kopf-Hals- und gynäkologischen Tumoren. Hierbei ging es um die Höhe und den Verlauf der Serumkonzentrationen während der antitumoralen Therapie sowie um Korrelationen der Zytokine untereinander. Des Weiteren sollte die Frage geklärt werden, ob es signifikante Beziehungen zwischen den einzelnen untersuchten Zytokinen und Entzündungs- sowie Anämieparametern gibt und welche Aussagekraft diese hinsichtlich der Prognose besitzen. Betrachtet wurden dabei das Patientenkollektiv insgesamt sowie die Tumorentitäten als getrennte Subgruppen.

## 1.3 Zytokine

Zytokine sind im Körper ubiquitär vorkommende (Glucocorticoid-) Proteine, die nach spezifischer Stimulierung Einfluss auf Wachstum, Funktion und Differenzierung von Zellen nehmen (54). Das Wort Zytokin hat seinen Wortursprung im Griechischen und bedeutet wörtlich übersetzt „zwischen den Zellen bewegend“. So spielen Zytokine eine wichtige Rolle bei zahlreichen biologischen Vorgängen, wie der Immunantwort, der Blutbildung und bei Entzündungsprozessen. Otto (57) und Loppnow (42) klassifizieren die Zytokine wie folgt:

<b>Interferone</b>	IFN- $\gamma$
<b>Interleukine</b>	IL 6, IL-8, IL-1 $\beta$
<b>Tumornekrosefaktoren</b>	TNF- $\alpha$
<b>Wachstumsfaktoren</b>	EGF, VEGF, EPO

Die meisten Zytokine haben als molekulares Gerüst, als Vertreter der Proteine, eine  $\alpha$ -Helix- bzw.  $\beta$ -Faltblatt-Struktur. Als Vertreter für die  $\alpha$ -Helix-Zytokine seien hier IFN- $\gamma$  und IL-6 genannt, Zytokine mit  $\beta$ -Faltblatt-Struktur sind u. a. TNF- $\alpha$  und VEGF. Die helikalen Zytokine spielen vor allem eine Rolle bei der Hämatopoese, während die Faltblatt-Zytokine einen Funktionsschwerpunkt bei der Steuerung von Wachstum und Zelldifferenzierung besitzen (42). Die Aktivität der Zytokine wird über Rezeptoren vermittelt, die über einen extrazellulären Teil, einen membranständigen Anteil und einen intrazellulären Anteil verfügen und meistens aus einer Polypeptidkette bestehen. Die Rezeptoren können jeweils von mehreren Zytokinen gemeinsam benutzt werden, d. h., verschiedene Zytokine können gemeinsame Signaltransduktionswege benutzen. Die Signaltransduktion erfolgt hauptsächlich über Tyrosinkinase und die nachfolgende Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wie z. B.



das NF- $\kappa$ B-Protein. Diese wandern dann in den Zellkern und fungieren als Regulatoren spezifischer Gene.

### **1.3.1 Erythropoetin**

Erythropoetin (EPO), ein Glykoprotein mit einer Molekülmasse von ungefähr 30,4 kDalton, spielt eine zentrale Rolle bei der Regulation der Erythropoese. Es wird primär in der Niere in Abhängigkeit von der O<sub>2</sub>-Konzentration des Blutes produziert. Eine erhöhte Expression von EPO ist entweder kausal mit einer niedrigen O<sub>2</sub>-Konzentration im Blut verknüpft oder durch andere pathophysiologische Faktoren bedingt (z. B. Polyzythämia vera, chronisch obstruktive Lungenerkrankung, Schlaf-Apnoe-Syndrom, Rauchen). Auch Tumoren können eine pathologisch erhöhte Expression von EPO zur Folge haben, hier seien insbesondere die Leberzellkarzinome, Wilms-Tumore sowie Nebennierenrindentumoren genannt.

Erniedrigte Expressionsraten von EPO finden sich bei verschiedenen Formen der Anämie, bei Autoimmunerkrankungen, bei rheumatoider Arthritis, bei HIV sowie malignen Tumoren. Acs et al. (2002) fanden, dass die Rezeptordichte von EPO bei schlecht differenzierten Mammakarzinomen mit Nekrosearealen und Lymphknotenmetastasen signifikant höher war. Dies betraf vor allem Raucherinnen. Auch Zytokine, wie TNF- $\alpha$  und IL-1, sind als Inhibitoren von EPO bekannt. EPO war der erste Wachstumsfaktor, der klinisch eingesetzt wurde. Bei der Therapie des akuten Schlaganfalls wird EPO aufgrund seiner angiogenetischen, antiapoptotischen und neurotrophen Wirkung benutzt.

Es ist bekannt, dass bei Tumorpatienten der Serum-EPO-Spiegel deutlich niedriger ist als bei Gesunden. In der Tumorthherapie wird EPO daher zur Therapie der Tumorphypoxie sowie zur Behandlung der tumorassoziierten Anämie und des Fatigue-Syndroms genutzt. Derzeit zeigen jedoch die meisten klinischen Studien keine Überlegenheit von EPO gegenüber der herkömmlichen Bluttransfusion hinsichtlich des Überlebens. Glaser et al. (2001) fanden jedoch, dass ein prätherapeutischer niedriger Hämoglobinwert (als ein negativer prognostischer Faktor) durch EPO-Gabe kompensiert werden kann. Durch die Identifizierung neuer extramedullärer EPO-Rezeptoren kann möglicherweise das Spektrum der therapeutischen Möglichkeiten noch erweitert werden (11).

### 1.3.2 VEGF

Bei VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), ebenso unter dem Namen VPF (Vascular Permeability Factor) bekannt, handelt es sich um ein 34-42 kDalton großes Glykoprotein (Dimer), welches eine große Rolle bei der in-vivo-Angiogenese spielt. Erstmals wurde es als Wachstumsfaktor für Endothelzellen im konditionierten Medium von Hypophysenzellen identifiziert (19). VEGF ist Mitglied einer Familie von Wachstumsfaktoren, hierzu gehören neben VEGF noch VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D und PlGF. VEGF stimuliert die Proliferation vaskulärer Endothelzellen, andere Zellarten werden nur unwesentlich beeinflusst. VEGF übt darüber hinaus eine Vielzahl von Funktionen aus, hierzu zählen u. a. die Erhöhung der Gefäßpermeabilität, wobei es eine 15.000-fach stärkere Potenz als Histamin besitzt, Vasodilatation, Expression von uPA, tPA, dem uPA-Rezeptor sowie von MMP-1. VEGF wird von einer Vielzahl von Normalgewebs- und Tumorzellen exprimiert, u.a. von aktivierten Makrophagen, Keratinozyten und Mesangiumzellen. Eine besondere Rolle spielen hierbei auch die Thrombozyten als ein wichtiges Reservoir für VEGF (2). TGF- $\beta$  und Hypoxie bewirken eine erhöhte Ausschüttung von VEGF. Für VEGF existieren zwei verschiedene Rezeptoren, nämlich VEGF-R1 und VEGF-R2. Hierbei handelt es sich um homologe transmembranöse Tyrosinkinase.

Bei malignen Prozessen kommt VEGF eine wesentliche Rolle in der malignen Progression bzw. Metastasierung zu. Seit längerem ist bekannt, dass viele Tumorpatienten signifikant höhere Serum-VEGF-Spiegel aufweisen (7, 15, 60). Ein Beispiel für einen sehr gut vaskularisierten Tumor ist das Glioblastom (60). Bei anämischen Patienten soll die VEGF-Sekretion durch eine verstärkte intratumorale Hypoxie erhöht sein (15). HIF-1 $\alpha$  kann ebenso durch Tumorphypoxie induziert werden und die VEGF-Expression fördern. Einige Autoren berichten über eine damit einhergehende signifikant schlechtere Prognose für Patienten mit prätherapeutisch erhöhtem VEGF (63, 73, 79), wobei dies jedoch noch strittig diskutiert wird (10, 12, 26). Ebenso wird in der Literatur über eine Korrelation der VEGF-Expression zum Tumorgrading und der lymphogenen Metastasierung berichtet (37, 81).

In der Zusammenschau zeigen sich also vielfältige Interaktionen im Rahmen der malignen Progression, bei denen VEGF eine wesentliche Rolle zukommt.

### 1.3.3 IFN- $\gamma$

IFN- $\gamma$  ist ein multifunktionales Protein, welches von T-Lymphozyten und NK-Zellen produziert wird. Seine Hauptaufgaben sind die Inhibierung der Virusreplikation sowie der Einfluss auf verschiedene weitere immunologische Prozesse, als Beispiele seien hier die Makrophagen-vermittelte Abwehr intrazellulärer Parasiten sowie die Präsentation von MHC-Klasse- I/II- Antigenen genannt (32). Die Hauptzahl der Funktionen wird hierbei von IFN- $\gamma$ -induzierten Proteinen übernommen. Es existieren zwei verschiedene Arten von IFN- $\gamma$ , bei beiden handelt es sich um Glykoproteine, die sich jedoch hinsichtlich des Grades ihrer Glykosylierung unterscheiden. IFN- $\gamma$  mit einem Molekulargewicht von 25 kDalton ist an beiden möglichen N-terminalen Seiten glykosyliert, während bei der 20 kDalton-Variante nur eine Glykosylierung vorliegt. Die Glykosylierung scheint für die biologische Funktion von IFN- $\gamma$  keine Rolle zu spielen. IFN- $\gamma$  bindet an einen spezifischen membranständigen Rezeptor (90 kDalton Glykoprotein, zugehörige Gene auf Chromosom 6 lokalisiert). Nach Bindung eines IFN- $\gamma$ -Moleküls an den Rezeptor erfolgt mittels einer Tyrosinkinase die Autophosphorylierung sowie die Phosphorylierung eines assoziierten Proteins. Die Reaktionskaskade mündet schließlich in die Expression verschiedener Proteine, die ihrerseits eine Vielzahl verschiedener Effekte evozieren können, als Beispiele seien hier nur antivirale und immunmodulatorische Wirkungen genannt (erhöhte Produktion von IL-1, PAF, erniedrigte Produktion von IL-8).

Darüber hinaus besitzt IFN- $\gamma$  antiangiogenetische Eigenschaften und kann die Neovaskularisation von Tumoren unterbinden (40). Lorenzen et al. (1991) konnten dies für Mammakarzinompatienten zeigen. Überdies können durch IFN- $\gamma$  weitere Zellarten bzw. Gewebearten in ihrem Wachstum gehemmt werden. Gottlober et al. (2001) zeigten, dass eine „low-dose“- Therapie mit IFN- $\gamma$  eine effektive Behandlungsmethode für eine radiogen induzierte Hautfibrose war.

#### **1.3.4. IL-1 $\beta$**

IL-1 besteht aus den verwandten Proteinen IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ , wobei beide eine zentrale biologische Rolle bei der akuten und chronischen Entzündungsreaktion spielen (13). IL-1 wird vorwiegend von Monozyten und Makrophagen synthetisiert, allerdings auch von einer Vielzahl weiterer Zelltypen. Die entscheidende Rolle von IL-1 liegt in der Initiierung der Entzündungsreaktion, wobei der Induktionsreiz für die IL-1-Ausschüttung sowohl mikrobieller Herkunft sein als auch von diversen anderen Zytokinen stammen kann. Beziehungen gibt es hier u. a. zu IL-12, IFN- $\gamma$  und den MMPs, so wird z. B. durch IL-1 die Ausschüttung von IFN- $\gamma$  und MMPs induziert. Ferner werden kapilläre Endothelzellen zur Ausschüttung von Chemokinen angeregt. Dennoch ist die Funktion von IL-1 nicht nur auf die Rolle bei Entzündungsreaktionen beschränkt, vielmehr existiert eine Vielzahl weiterer biologischer Mechanismen, wie z. B. der Knochenauf- und Umbau, ferner die Insulinsekretion, bei der IL-1 involviert ist. Vermittelt werden die IL-1 $\beta$ -Funktionen über zwei Rezeptoren, IL-1R1 und IL-1R2, sowie ein rezeptorassoziiertes Protein, das IL-1RacP. IL-1RacP spielt eine wichtige Rolle als Inhibitor der Magensäureproduktion bei zugrunde liegender *Helicobacter-pylori*-Infektion (2). Patienten mit einem Pankreaskarzinom und Homozygotie für das Allel 2 des IL-1 $\beta$  Gens besaßen signifikant höhere Konzentrationen an IL-1 $\beta$  und CRP (3). IL-1 $\beta$  fungiert hier ebenfalls als proinflammatorisches Zytokin und als mögliches Stimulans von proangiogenetischen Faktoren wie VEGF.

#### **1.3.5 TNF- $\alpha$**

Der sogenannte Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- $\alpha$ ), ebenso unter den Namen Cachectin bekannt, ist eng verwandt mit TNF- $\beta$  (Lymphotoxin). Es handelt sich in beiden Fällen um Proteine, die sich in ihrer Aminosäuresequenz ähneln und an gleiche Oberflächenrezeptoren von Zellen binden. TNF- $\alpha$  wird vorwiegend von neutrophilen Granulozyten, aktivierten T- und B-Lymphozyten, NK-Zellen und Endothelzellen produziert. TNF- $\alpha$  ist ein Polypeptid, welches aus 157 Aminosäuren besteht und ein Molekulargewicht von ungefähr 17 kDalton besitzt. Es kommt v. a. in membrangebundener Form vor und wird durch proteolytische Spaltung freigesetzt. Zwei unterschiedliche Rezeptoren existieren, TNFR I sowie TNFR II, hierbei handelt es sich um Glykoproteine, die Teile verschiedener Signaltransduktionswege sind. Ferner existieren gelöste Rezeptorformen im Serum und Urin, die eine entscheidende Rolle für die Modulation der TNF $\alpha$ -Aktivität spielen. Aufgrund der Ubiquität der TNF-Rezeptoren lässt sich auch die Vielzahl biologischer Funktionen von TNF- $\alpha$  erklären, wie z.

B. die Induktion verschiedener Gene, einschließlich solcher für Wachstumsfaktoren und diverser Zytokine. Viele der Funktionen von TNF- $\alpha$  ähneln denen von IL-1. Hinsichtlich der Rolle beim Wachstum maligner Tumoren spielt TNF- $\alpha$  einerseits eine positive Rolle als Immunstimulans, andererseits kann jedoch auch das Tumorwachstum über eine Induktion von inflammatorischen Mediatoren gefördert werden (2) oder die Angiogenese direkt (40). Scannell et al.(1993) konnten in vitro für Makrophagen eine Induktion der TNF- $\alpha$ -Expression durch Hypoxie nachweisen. Versuche mit Mäusen zeigten, dass Tiere, denen das TNF- $\alpha$  Gen fehlte, resistent hinsichtlich der Karzinogenese von Hauttumoren waren (48). Ebenso fanden Harimaya et al. (2000) bei Osteosarkomzellen eine erhöhte Tumorzellmotilität sowie eine Zunahme der Expression von MMP-9 bei hoher TNF- $\alpha$ - Konzentration. Vor allem Makrophagen sind ein Hauptreservoir für TNF- $\alpha$  im Mikromilieu von Mamma- und Ovarialtumoren (52, 62). Niedbala et al. (1991) konnten zeigen, dass TNF- $\alpha$  die Produktion von u-PA steigert und auf diesem Weg ebenfalls zur Angiogenese und Metastasierung beiträgt.

### **1.3.6 MMP-9**

Matrixmetalloproteinasen gehören zu einer Familie von Endopeptidasen (Zink-abhängig), die extrazelluläre Matrixproteine abbauen. Bekannt sind derzeit über 20 Mitglieder dieser Familie. Inhibiert werden sie von spezifischen Gewebsinhibitoren (TIMPs) sowie von  $\alpha$ 2-Makroglobulin. Solide Tumoren bestehen aus den eigentlichen Tumorzellen sowie aus akzessorischen Zellen, wie z. B. Fibroblasten, Makrophagen, Endothelzellen und Leukozyten. Untersuchungen an menschlichen Tumorzellen zeigten u. a. Unterschiede hinsichtlich der Lokalisation und Synthese von Matrixmetalloproteinasen. MMP-9 (Synonym: Gelatinase B) wird vor allem in Makrophagen und Endothelzellen exprimiert, wobei jedoch auch eine Vielzahl weiterer Zellen involviert sein kann, nicht zuletzt Tumorzellen selbst. Hochreguliert wird die Expression u. a. von IL1- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , die Substrate sind v. a. denaturiertes Kollagen Typ I (Gelatin), native Kollagene, Fibrinogen und Fibronectin. MMP-9 spielt ebenfalls bei einer Vielzahl zellulärer Prozesse eine Rolle, hierunter fallen Entzündungsreaktionen, Gewebsumbau, Wundheilung, Freisetzung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Bei der Freisetzung von Wachstumsfaktoren, hierzu zählen u. a. TGF- $\alpha$ , und EGF-ähnliche Faktoren, bewirken Metalloproteinasen zum einen die proteolytische Freisetzung membrangebundener Faktoren sowie zum anderen auch die Freisetzung bindegewebsgebundener Faktoren (TGF- $\beta$  als Beispiel).

Bei malignen Tumoren kommt MMP-9 vor allem eine Bedeutung bei der Ausbildung von Metastasen zu (neben dem ebenfalls wichtigen uPA-System), ferner spielt es eine Rolle im Rahmen der Angiogenese, wobei hier durch die Förderung der Produktion von Angio- und Endostatin auch eine wichtige antiangiogenetische Komponente zum Tragen kommt (58). Im Metastasierungsprozess spielen Matrixmetalloproteinasen, als eine Proteinasengruppe, eine Schlüsselrolle beim Abbau der Basalmembran sowie der extrazellulären Matrix (9, 83). Sie sind in der Lage Matrixkomponenten wie Elastin und Kollagen abzubauen (41). Benassi (5) et al. zeigten, dass in Proben von Weichteilsarkomen mit schlechter Prognose eine signifikant höhere Expression von MMP-2 und MMP-9 zu verzeichnen war. Das Gleiche galt für Ovarialtumore (65) sowie für Oesophagus- (84), Colon- (51) und Pankreastumoren (84). Nishiyama et al. (1997) zeigten ein signifikant höheres Fernmetastasenrisiko bei Patienten mit Magenkarzinomen und gleichzeitig hoher MMP-Serumkonzentration. In die gleiche Richtung weisen Arbeiten von Gong et al. (2000) bei Pankreaskarzinomen sowie von Horikawa (2000) und Yoshizaki et al. (1999) bei Nasopharynxkarzinomen. Vor dem Hintergrund dieser Ergebnisse in der Literatur wurde eine Phase-III-Studie bei Patienten mit metastasiertem Mammakarzinomen im Stadium „stable disease“ von Sparano (2004) et al. mit dem MMP-Inhibitor (u. a. wird auch MMP-9 inhibiert) Marimastat durchgeführt, wobei sich jedoch kein signifikanter Vorteil hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens bei den mit dem MMP-Inhibitor Marimastat behandelten Patienten zeigte.

### **1.3.7 IL-6**

Der Name Interleukin ist historisch bedingt und umfasste zunächst eine Gruppe von Glykoproteinen, die für den Austausch von Informationen zwischen Leukozyten verantwortlich war. Erst später wurde bekannt, dass diese Substanzen auch von anderen Zellen gebildet werden und Wirkungen außerhalb des Systems der Leukozyten entfalten können. Am Namen „Interleukin“ wurde dennoch festgehalten, so wird er heute für die meisten neueren Zytokine verwendet.

IL-6 ist ursprünglich als „B-Zell-stimulierender Faktor“ 2 (BSF-2) definiert worden, seine Molekülmasse beträgt 20-30 kDalton und die molekulare Struktur ist identisch mit der von anderen wichtigen regulatorischen Proteinen, wie z. B. dem T-Zell-aktivierenden Faktor und dem Hepatozyten-stimulierenden Faktor. IL-6 wird von Monozyten, T-Zellen, B-Zellen, Keratinozyten sowie Endothelzellen und Fibroblasten produziert. Eine Vielzahl maligner Tumoren können IL-6 produzieren (54).

IL-6 ist innerhalb des lymphatischen Systems essentieller Faktor für die finale Reifung von B-Lymphozyten zu antikörperproduzierenden Zellen. Es spielt eine entscheidende Rolle bei der Akute-Phase-Reaktion, indem es die Synthese und Freisetzung der damit zusammenhängenden Proteine (CRP, Fibrinogen,  $\alpha_1$ -Antitrypsin, Haptoglobin) fördert (54). So konnten Nollert et al. (1999) zeigen, dass es unter laufender Radiochemotherapie zu einem Konzentrationsanstieg von IL-6 kam, der als kompensatorische Gegenregulation zur Lymphozytenreduktion gewertet wurde. Die gleiche Beobachtung machten Hong et al. (2001) bei der Bestrahlung von Kaposi-Sarkomen. Auch bei der normalen Hämatopoese spielt es durch Interaktionen mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren und der damit verbundenen schnelleren Erholung des Knochenmarks z. B. nach zytostatischer Therapie eine wichtige Rolle. Bei malignen Tumoren bedingt IL-6 vor allem proliferative Effekte: Es ist bekannt, dass es einen potenten Wachstumsfaktor für Myelomzellen darstellt (2, 76), so korrelieren Serumspiegel von IL-6 bei Plasmozytompatienten mit der Prognose. In der Literatur gibt es mehrere Arbeiten, die gleichartige Zusammenhänge für weitere Tumorentitäten herstellten (8, 46, 70). De Schutter et al. (2005) konnten für Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinome zeigen, dass eine prätherapeutisch erhöhte Serumkonzentration von IL-6 eine Radioresistenz und eine schlechtere Prognose zur Folge hatten. Ähnliche Ergebnisse zeigten Miyamoto et al. (2001) und Tamatani et al. (2004) Wang et al. (2002) konnte ebenso ein erhöhtes Auftreten von Lymphknoten- sowie Fernmetastasen für Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren und hohen IL-6 Serumkonzentrationen zeigen. Darüber hinaus ist aus der Literatur bekannt, dass IL-6 ebenso die Tumorangio-genese fördern kann (33).

### 1.3.8 IL-8

Bei IL-8 handelt es sich um ein Glykoprotein mit einer Größe von 10 kDalton, welches unter verschiedenen Synonyma bekannt ist, u. a. als Neutrophilen aktivierendes Protein bzw. aktivierender Faktor. Es wird von Fibroblasten, Monozyten, Makrophagen, Neutrophilen Granulozyten und T-Lymphozyten produziert. Zielzellen sind B-Lymphozyten, Neutrophile Granulozyten sowie T-Lymphozyten, auf die es chemotaktisch wirkt. Die Wirkung von IL-8 selbst wird über G-Protein-gekoppelte transmembranöse Rezeptoren vermittelt, hierbei kommt es zu einer Aktivierung von membrangebundenen Kalziumkanälen bzw. von Phospholipase C. Nollert et al.(1999) fanden bei der Radiochemotherapie von Kopf-Hals-Tumoren eine Abnahme des IL-8 Serumspiegels und interpretierten diese Abnahme als Folge einer Immunsuppression. IL-8 ist ebenfalls in ein engmaschiges Zytokinnetzwerk eingebunden, so wird seine Produktion u. a. von IL-1 induziert. Von Bedeutung ist ferner die Funktion als Induktor der in-vivo-Angiogenese. IL-8 wird ebenfalls von Tumorzellen produziert und fördert die Migration und Proliferation von Endothelzellen. Tamatani et al. (2004) konnten in vitro einen Zusammenhang zwischen IL-8 und einer Radiotherapieresistenz feststellen.

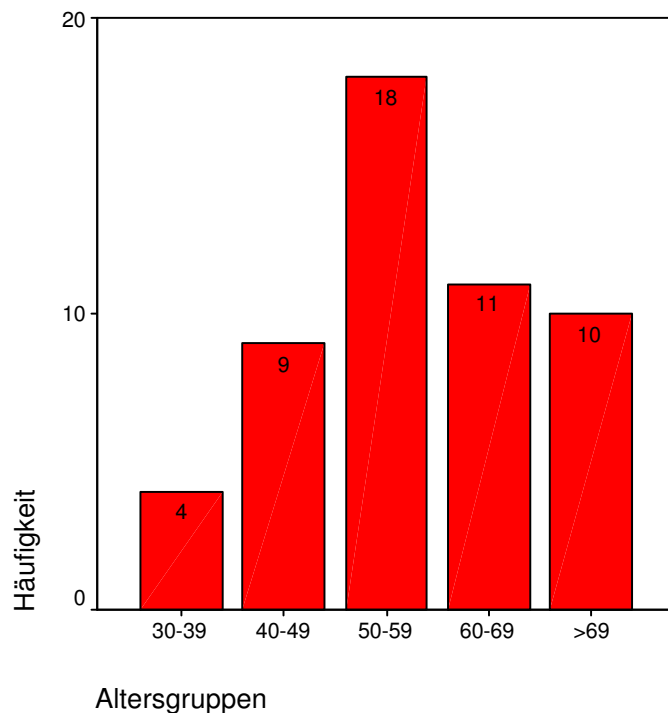


## 2 Material und Methodik

### 2.1 Patientengut

#### 2.1.1 Altersverteilung

Bei der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 52 Patienten mit fortgeschrittenen, inoperablen Kopf-Hals und gynäkologischen Tumoren untersucht. Das Patientengut setzte sich aus 23 weiblichen sowie 29 männlichen Patienten zusammen. Der Altersmedian lag bei den weiblichen Patienten bei 59 Jahren, in der Gruppe der männlichen Patienten bei 56 Jahren, im Gesamtkollektiv ebenfalls bei 56 Jahren. Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Altersverteilung der Patienten (nach Gruppen sortiert).



**Abb. 1: Darstellung der Altersverteilung**

Insgesamt wurden 22 Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren, sowie 30 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren eingeschlossen. Der Altersmedian lag bei den gynäkologischen Patientinnen bei 61,5 Jahren, bei den Kopf-Hals-Patienten bei 56 Jahren.

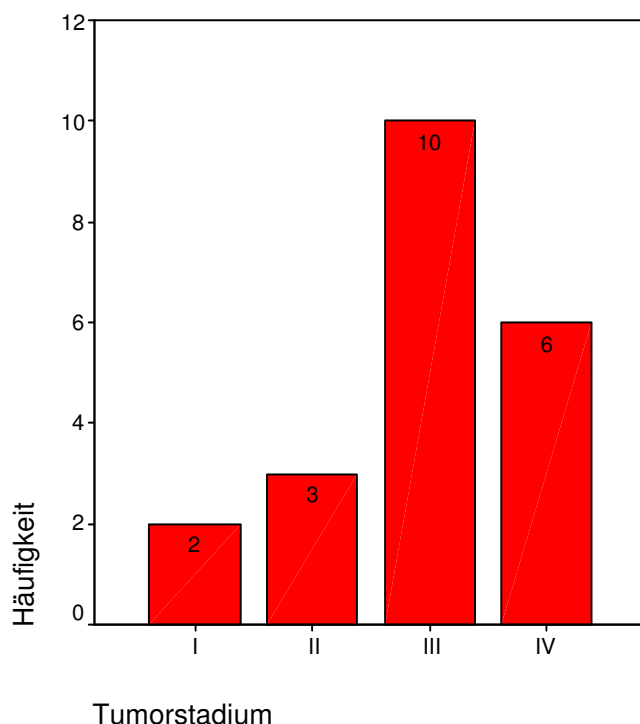
### 2.1.2 Diagnosegruppen

Bei den 52 untersuchten Patienten stellte sich die Verteilung auf die einzelnen Tumorstadien wie folgt dar: 2 Patienten (3,8 %) befanden sich zu Therapiebeginn im Stadium I (T1N0M0), 4 Patienten (7,7 %) im Stadium II (T2N1-2M0), 19 Patienten (36,5 %) im Stadium III (T3N1-2M0) und 26 (50 %) im Stadium IV (T4, N3, M1). Ein Fall konnte keiner der o. g. Gruppen zugeordnet werden

#### a) Gynäkologische Tumore

Abbildung 2 zeigt die Verteilung der untersuchten Patientinnen auf die verschiedenen Stadien. Die Tumorstadien sind auf der Abszisse dargestellt, auf der Ordinate finden sich die Anzahl der Fälle. Nach Tumorentitäten aufgeteilt bestand das Kollektiv aus 16 Zervixkarzinomen, 4 Korpuskarzinomen, einem Vaginalkarzinom sowie einem Karzinom unbekannter Herkunft. In dieser Gruppe befanden sich 7 Patientinnen mit positivem Lymphknotenstatus (31,8 %), 6 mit negativem Lymphknotenstatus (27,3 %) und 9 mit unbekanntem Lymphknotenstatus (40,9 %).

16 Tumore waren histologisch Plattenepithelkarzinome, 6 Adenokarzinome, 13 konnten hiervon dem Differenzierungsgrad G 2 zugeordnet werden, 7 dem Grad 3, ein Fall konnte nicht eindeutig zugeordnet werden und bei einem weiteren Fall fehlte die Angabe des Differenzierungsgrades.



**Abb.2: Stadienverteilung  
Gynäkologische Tumore (FIGO-  
Stadium)**

## b) Kopf-Hals-Tumore

In Abbildung 3 ist die Verteilung der Kopf-Hals-Tumoren auf die einzelnen Stadien dargestellt.

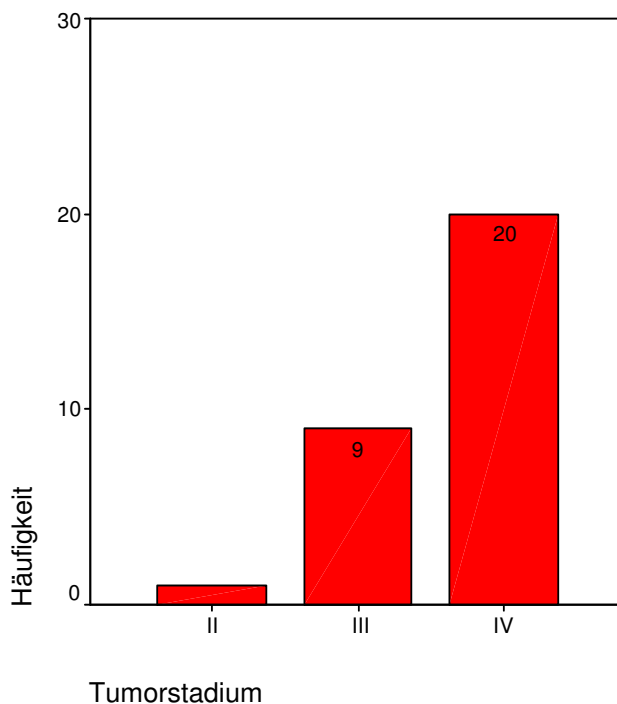
Von den 30 Patienten waren 29 männlichen Geschlechts (96,7 %). Auf die verschiedenen Tumorentitäten geschaut, ergab sich folgende Verteilung: 9 Hypopharynx-, 6 Mundboden-, 5 Tonsillen- bzw. Oropharynx-, 4 Larynx- sowie 2 Epi-/Nasopharynxkarzinome und ein cervikales CUP-Syndrom.

Unter den untersuchten HNO-Patienten befanden sich 20 mit positivem lymphonodalem Status (66,7 %), 10 mit negativem (33,3 %).

Histologisch handelte es sich bei 25 Tumoren um Plattenepithelkarzinome, bei den übrigen in der Mehrzahl um undifferenzierte Karzinome. Vom Differenzierungsgrad her betrachtet, ergab sich folgende Verteilung:

**Tab.1: Differenzierungsgrad der Kopf-Hals-Tumore**

Grading	G1	G2	G3	Gx
n	2	11	14	3



**Abb. 3: Stadienverteilung Kopf-Hals-Tumore (TNM-Stadium)**

## 2.2 Therapieschemata

Von den 52 in die Untersuchung eingeschlossenen Patienten erhielten 35 eine simultane Radiochemotherapie, 14 eine alleinige Radiotherapie, 2 eine Induktionschemotherapie mit nachfolgender Radiatio sowie ein Patient eine Radiotherapie mit simultaner hyperbarer Oxygenierung, jeweils unmittelbar vor der Bestrahlung, in der HBO-Kammer.

Das Behandlungsschema der simultanen Radiochemotherapie der Kopf-Hals-Patienten sah in der Regel folgendermaßen aus: Perkutane 3D-geplante Hochvoltradiotherapie der Primärtumorregion sowie der regionären Lymphabflussgebiete mit Einzeldosen von 1,8 bzw. 2 Gy/d bis zu Gesamtdosen von ca. 25 Gy, anschließend Fortsetzung der Radiatio in hyperfraktioniert-akzelerierter Form (concomitant Boost) mit Dosen von 1,8/1,6 Gy bis zu kumulativen Gesamtdosen von 68-72 Gy im Primärtumorbereich bzw. befallener Lymphknotenregionen. Als Chemotherapeutika kamen in der Regel Cisplatin und Paclitaxel zur lokalen Radiosensibilisierung bzw. Wirkungsverstärkung zur Anwendung.

Bei den gynäkologischen Patientinnen erfolgte eine perkutane 3D-geplante perkutane HV-Radiatio des Primärtumors sowie der lokalen Lymphabflussgebiete mit Dosen von 1,8 Gy/d bis zu einer Gesamtdosis von in der Regel 50,4 Gy, anschließend schloss sich eine intrakavitäre HDR-Afterloading-Kontakttherapie mit Einzelfraktionsdosen von 5-7 Gy bis zu Gesamtdosen von ca. 30 Gy an. Als Radiosensitizer wurde auch hier in Regel Cisplatin (weekly) appliziert. Die Verteilung zeigt Abb.4.

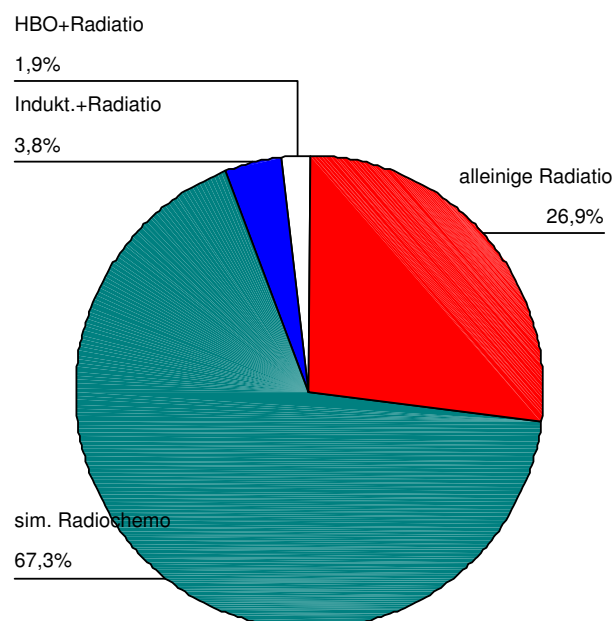


Abb.4: Quantitative Verteilung der Therapieschemata

### **2.3 Bestimmung der Zytokine**

Es wurden Serumblutproben zu Beginn der Therapie, während der Behandlung sowie am Ende der Therapie durchgeführt.

Zur Bestimmung der einzelnen Zytokine bzw. Proteinase wurden den jeweiligen Patienten zwei Serummonovetten à 10 ml Blut entnommen. Anschließend erfolgte die quantitative Auswertung mit Hilfe von kommerziellen Immunoassays der Firma R&D. Der genaue Ablauf der Bestimmung für die einzelnen Zytokine ist im Folgenden am Beispiel von EPO beschrieben. Gleichzeitig wurden an den Blutentnahmetagen ebenso der Entzündungsparameter CRP und mit Hilfe des kleinen Blutbildes Hämoglobin-, Leuko- und Thrombozytenwerte bestimmt.

Die Bestimmung der Zytokine in den Patientenseren wurde mit Hilfe eines ELISA-Tests von Quantikine® durchgeführt. Als Prinzip liegt diesem Immunoassay eine sogenannte Sandwich-Methode mit zwei Antikörpern zu Grunde. Zunächst wurde das Zytokin von einer mit monoklonalen Antikörpern beschichteten Mikrotiterplatte gebunden, in einer zweiten Inkubationsphase wurde das bereits gebundene, immobilisierte Zytokin von einem polyklonalen Antikörperkonjugat ebenfalls gebunden. Überschüssiges Konjugat wurde anschließend ausgewaschen. Nachfolgend wurde ein Chromogen hinzugefügt, welches durch chemische Oxidation mit dem Zytokin-Enzym-Komplex eine farbige Komplexverbindung bildet. Mit Hilfe eines anschließend hinzugegebenen Stoppreagenzes entstand eine gelbe Komplexverbindung, die das Ende der Reaktion anzeigte. Die entstandene Menge an Farbkomplexen ist direkt proportional der Menge an gebundenem Konjugat und damit der Menge des jeweiligen Zytokins.

Im letzten Schritt wurde die Absorption photospektrometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen, die Zytokin-Konzentration konnte dann durch den Abgleich mit vorhandenen Standardkurven ermittelt werden. Es wurden für alle Proben jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt.

### **2.4 Nachbeobachtung**

Die Patienten wurden im Anschluss an die Tumorthherapie regelmäßig nachbeobachtet. Dabei fand die erste Nachsorgeuntersuchung einen Monat nach Therapieende statt. Die weiteren Kontrollen wurden in regelmäßigen Abständen von 3 Monaten durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Auswertung der vorliegenden Daten lag der Nachbeobachtungszeitraum für die Patienten in einem Intervall von 3 bis 28 Monaten, der Median bei einem Wert von 14 Monaten. Zu

Therapieende befanden sich 5 Patienten (9,6 %) in kompletter Remission, bei 36 (69,2 %) bestand eine partielle Remission, bei 5 Patienten (9,6 %) lag eine „no change“- Situation vor, in 2 Fällen (3,8 %) bestand ein Tumorprogress, 4 Fälle (7,7 %) konnten nicht eindeutig beurteilt werden. Im Verlauf der Nachbeobachtung entwickelten 21 Patienten (40,3 %) ein Rezidiv bzw. Fernmetastasen, 18 (34,6 %) verstarben daran.

Von den 22 gynäkologischen Fällen befanden sich zu Therapieende zwei in kompletter Remission (9,1 %), 16 in partieller Remission (72,7 %). In drei Fällen (13,6 %) bestand eine „no change“- Situation, in einem Fall (4,5 %) ein Tumorprogress. Bei den Verlaufskontrollen bestand bei 12 Patientinnen (54,5 %) eine komplette Remission, bei 8 (36,4 %) ein Tumorprogress, in zwei Fällen konnte kein Befund erhoben werden. 7 Patientinnen (31,8 %) verstarben im Verlauf am Tumorprogress bzw. einer Fernmetastasierung.

Bei den 30 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren befanden sich zu Therapieende drei (10 %) in kompletter Remission, 20 (66,7 %) in partieller Remission, in zwei Fällen (6,7 %) lag eine „no change“- Situation vor, ein Patient (3,3 %) zeigte einen Tumorprogress. Vier Fälle (13,3 %) konnten nicht beurteilt werden. Im weiteren Verlauf kamen 17 Patienten (56,7 %) in komplette Remission, bei 11 Patienten (36,7 %) trat ein Tumorprogress auf, bei zwei (6,7 %) ein Rezidiv. Elf Patienten (36,7 %) verstarben am Tumorprogress.

## **2.5 Statistische Auswertung**

Die nachfolgende statistische Auswertung erfolgte mit SPSS 11.0 für Windows. Hierbei wurden sowohl deskriptive als auch Korrelations- (bivariate Korrelation nach Pearson) und Überlebensanalysen durchgeführt. Bei der Auswertung der Zytokinkonzentrationen im Serum wurden jeweils die Mediankonzentrationen und Mittelwerte mit den Standardfehlern ermittelt, die Korrelationsanalysen wurden mit kontinuierlichen und kategorialen Größen durchgeführt. Die Kategorien richteten sich jeweils nach dem Median und/oder dem bekannten Normalwert des Parameters bzw. des Zytokins. Die Überlebensanalyse erfolgte nach Kaplan-Meier, die multivariante Analyse mittels Cox-Regression. Als statistisch signifikant wurden Ergebnisse mit einem p-Wert von  $< 0,05$  bezeichnet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Zytokinkonzentrationen

Die gemessenen Zytokinkonzentrationen für alle drei Messzeitpunkte (Mittelwert mit Standardfehler, Median) sind dem Tabellenanhang zu entnehmen. Es sind Werte für das Gesamtkollektiv und beide Subgruppen angegeben. Die folgenden Abbildungen zeigen den Werteverlauf der Zytokine für das gesamte Patientenkollektiv als Boxplot graphisch dargestellt. Ein Normwertbereich ist nur für Erythropoetin (3,3-16,6 mIU/ml) bekannt, ebenso werden VEGF-Konzentrationen über 707 pg/ml als pathologisch angesehen. Für die anderen Zytokine existiert kein allgemein gültiger Normbereich, so dass die Mediankonzentrationen als Vergleichsgrundlage herangezogen wurden.

Bei EPO stellt sich ein stetiger Anstieg der Medianwerte von 12,65 mIU/ml zu Therapiebeginn auf 15,65 mIU/ml dar. Die Mediankonzentrationen bewegen sich im o.g. Normwertbereich. Die VEGF-Konzentrationen fielen dagegen nach einem Maximum zu Therapiebeginn (395,55 pg/ml) während der Behandlung ab. Insgesamt lagen jedoch auch hier alle drei Medianwerte unterhalb der o.g. pathologischen Serumkonzentration.

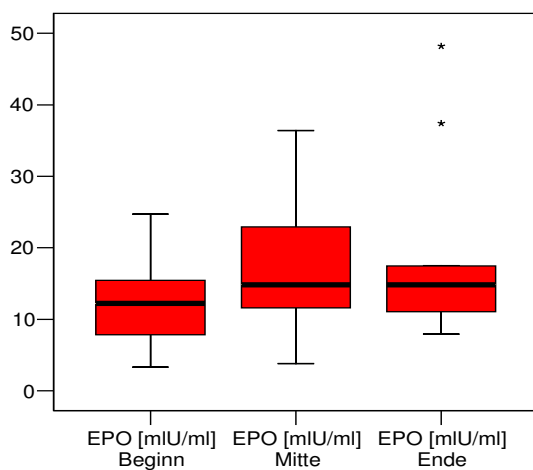


Abb.5: EPO-Konzentrationen

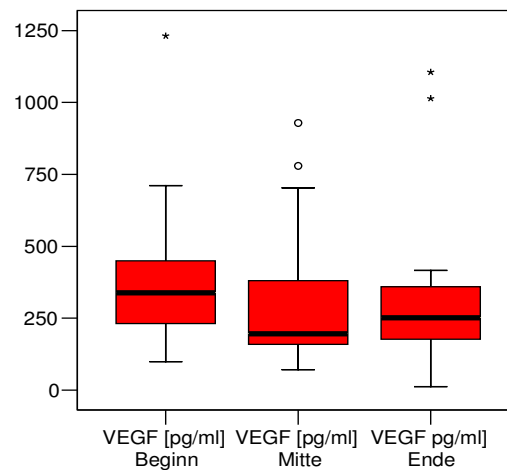
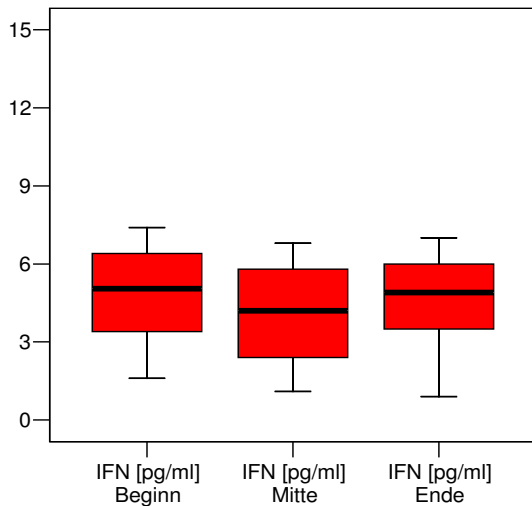
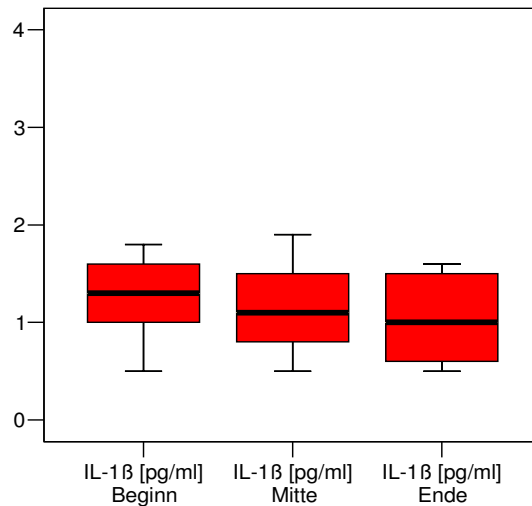


Abb.6: VEGF-Konzentrationen

Die Interferon- $\gamma$  Konzentrationen zeigten keine großen Abweichungen während der Therapie, die Mediankonzentrationen waren zu Therapiebeginn und Therapieende nahezu gleich. Bei IL-1 $\beta$  hingegen war eine stetige Abnahme der Mediankonzentrationen von 1,4 pg/ml auf 1,0 pg/ml am Therapieende zu eruieren.

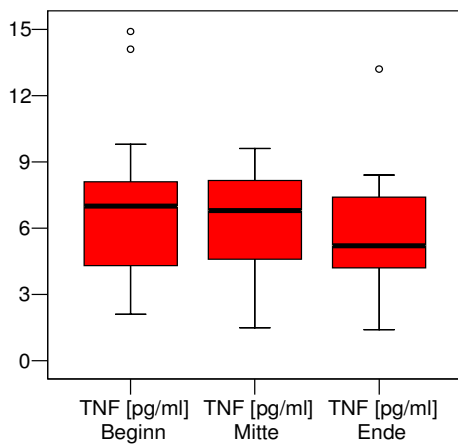


**Abb.7: IFN-Konzentrationen**

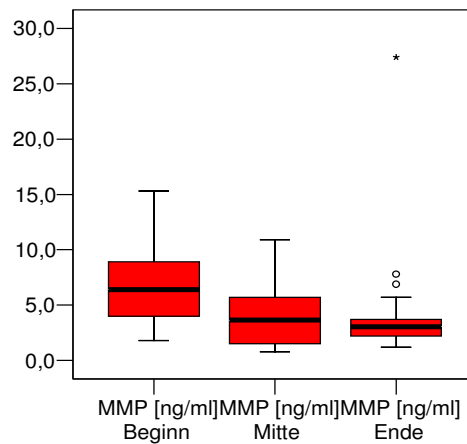


**Abb. 8: IL-1β-Konzentrationen**

Sowohl bei den TNF- $\alpha$ -als auch den MMP-Serumkonzentrationen zeigte sich ein Abfall der Werte während der Therapiezeit. Für TNF- $\alpha$  betrug der Median zu Therapiebeginn 7,0 pg/ml und zu Therapieende 5,2 pg/ml. Der Median von MMP-9 fiel von 6,4 ng/ml auf 3,05 ng/ml.



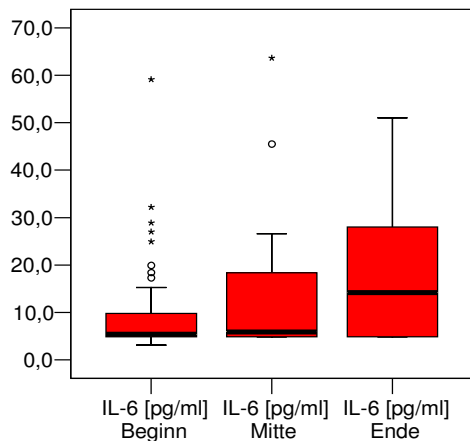
**Abb.9: TNF-Konzentrationen**



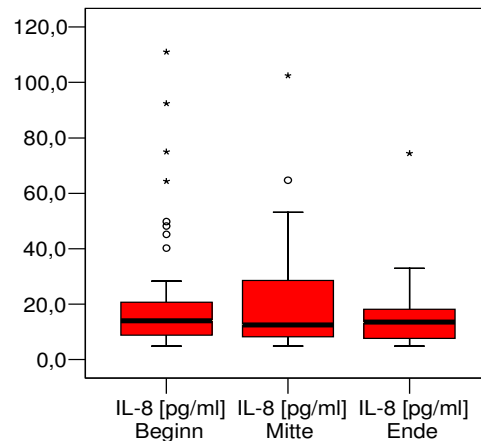
**Abb.10: MMP-Konzentrationen**

Bei IL-6 stellt sich ein Anstieg der Serumkonzentration von 5,43 pg/ml zu Therapiebeginn über 5,9 pg/ml in Therapiemitte bis zu 14,2 pg/ml zu Therapieende dar. Für IL-8 lagen die Mediankonzentrationen bei 14,0 pg/ml am Therapiebeginn, 12,55 pg/ml in Therapiemitte und 13,55 pg/ml am Therapieende.





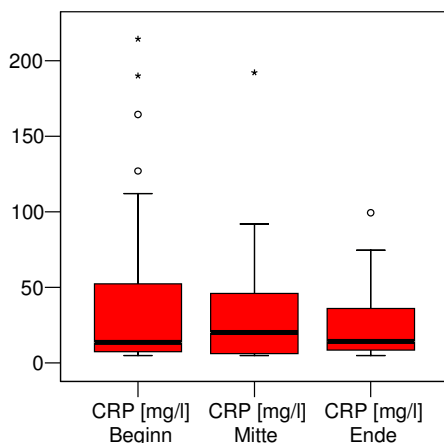
**Abb.11: IL-6 Konzentrationen**



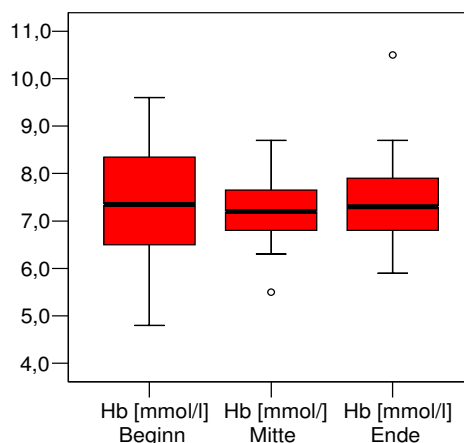
**Abb.12: IL-8 Konzentrationen**

### 3.2 CRP-, Hb-, Leuk.-, Thrombozytenkonzentrationen

Die Konzentrationen der o. g. Parameter für alle drei Messzeitpunkte (Mittelwert mit Standardfehler, Median) sind dem Tabellenanhang zu entnehmen. Der Werteverlauf für das Gesamtkollektiv ist in den folgenden Abbildungen graphisch dargestellt. Der Normwertbereich liegt für CRP bei < 5 mg/l, für Hb zwischen 8,3 mmol/l und 10,5 mmol/l (weiblich 7,4 mmol/l bis 9,9 mmol/l), für die Leukozyten zwischen 3,8 gpt/l und 10,5 gpt/l und für die Thrombozyten zwischen 140 gpt/l und 345 gpt/l.



**Abb.13: CRP-Konzentrationen**

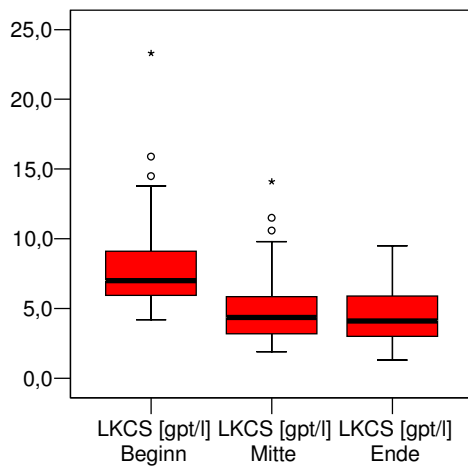


**Abb.14: Hb-Konzentrationen**

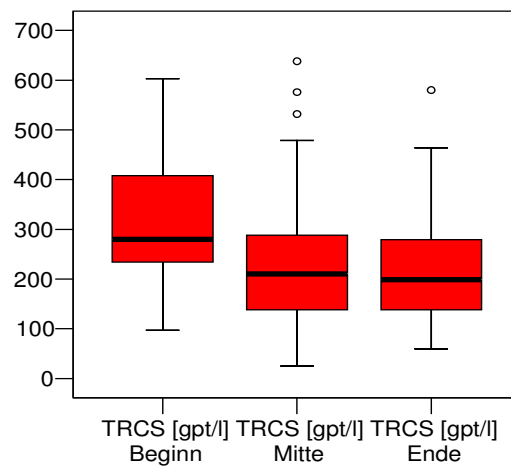
Die CRP-Mediankonzentration stieg von 13,7 mg/l zu Therapiebeginn auf 20,25 mg/l in Therapiemitte. Am Ende der Behandlung war dann ein Abfall auf 14,3 mg/l zu eruieren. Die

Hb-Mediankonzentrationen zeigten nur geringe Abweichungen während des Behandlungszeitraums. Die Werte betragen 7,35 mmol/l am Therapiebeginn, 7,2 mmol/l in Therapiemitte und 7,3 mmol/l am Therapieende.

Sowohl die Leukozyten- als auch die Thrombozytenkonzentrationen fielen während der Therapie ab. Die Leukozytenkonzentration sank von einem Median von 7 gpt/l auf 4,1 gpt/l, für die Thrombozyten ergaben sich Werte von 288 gpt/l zu Therapiebeginn und 199 gpt/l am Therapieende.



**Abb.15: Leukozyten-Konzentrationen**



**Abb.16: Thrombozyten-Konzentrationen**

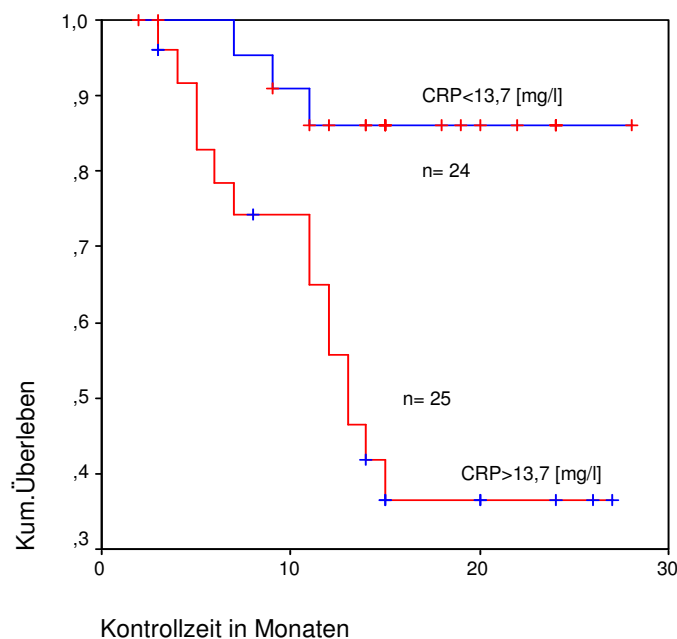
### 3.3 Überleben

#### 3.3.1 Einfluss der Zytokinkonzentrationen auf das Überleben nach Kaplan-Meier (für das Gesamtkollektiv)

Die Auswertung des Einflusses der Zytokinkonzentrationen auf das Überleben erfolgte nach Kaplan-Meier. Bei den Analysen der Zytokine bzw. der weiteren Parameter (Hb, CRP) wurden jeweils Kategorien gebildet, die sich auf den Medianwert bzw., soweit vorhanden, auf einen Normalwert bezogen. Die p-Werte beziehen sich auf die „log rank“.

Zwischen den beiden Diagnosegruppen gab es keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich des Überlebens ( $p = 0,42$ ). Dies galt auch für den Vergleich der Geschlechter ( $p = 0,3$ ).

Einen signifikanten Überlebensvorteil hatten Patienten mit niedrigen CRP-Konzentrationen zu **Therapiebeginn** und am **Therapieende** ( $p = 0,002$  zu Therapiebeginn und  $0,02$  am Therapieende). Zu **Therapiemitte** zeigte sich ebenfalls, wenn auch statistisch nicht signifikant, eine Tendenz zu einem Überlebensvorteil für Patienten mit niedrigen CRP-Konzentrationen ( $p = 0,1$ ). Abb.17 stellt den Zusammenhang zu Therapieanfang graphisch dar.

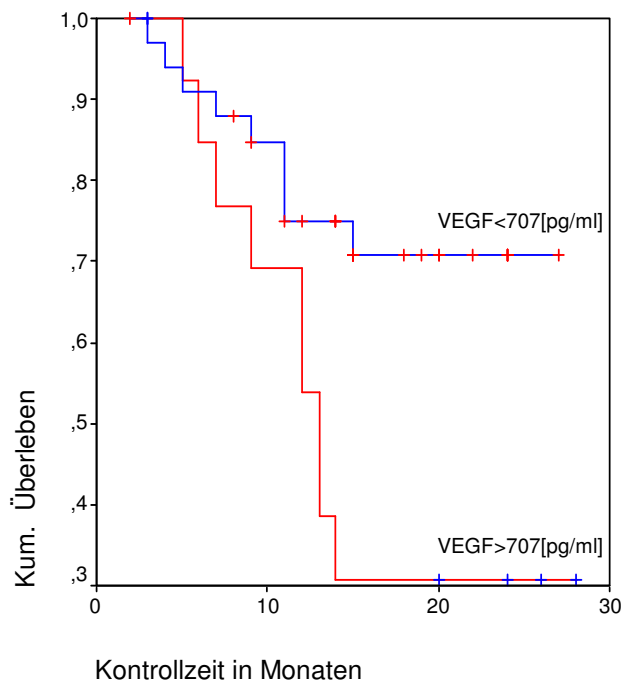


**Abb. 17: Überlebenskurven in Abhängigkeit vom CRP zu Therapiebeginn ( $p = 0,002$ )**

Ebenso hatten Patienten mit hohen VEGF-Konzentrationen zu **Therapiebeginn** eine signifikant schlechtere Prognose ( $p = 0,05$ ), insbesondere auch bei Berücksichtigung

pathologischer VEGF-Serumkonzentrationen von  $> 707\text{pg/ml}$  ( $p = 0,022$ ), Abb. 18. Gleiches galt für hohe IL-6- und IL-8-Konzentrationen. Die p-Werte betragen 0,013 für IL-6 und 0,024 für IL-8. Für allen anderen untersuchten Parameter konnten keine Signifikanzen nachgewiesen werden.

Zu **Therapiemitte** konnte ebenfalls für Patienten mit hohen IL-6-Serumspiegeln eine signifikant schlechtere Prognose ermittelt werden ( $p = 0,013$ ), zu **Therapieende** traf dies nur für das CRP zu ( $p = 0,02$ ).



**Abb. 18: Überleben in Abhängigkeit von VEGF zu Therapiebeginn ( $p = 0,022$ )**

### 3.3.2 Einfluss der Zytokinkonzentrationen auf das Überleben nach Kaplan-Meier für die Patienten mit gynäkologischen Tumore

Bei den gynäkologischen Tumoren hatten diejenigen Patientinnen mit hohen Konzentrationen der folgenden Zytokine zu **Therapiebeginn** eine signifikant schlechtere Prognose: CRP ( $p = 0,028$ ), TNF- $\alpha$  ( $p = 0,032$ ) und MMP-9 ( $p = 0,04$ ). Zu **Therapiemitte** galt dies für IL-6 ( $p = 0,043$ ). Patientinnen mit hohen Konzentrationen an IFN- $\gamma$  zu **Therapiemitte** hatten demgegenüber eine signifikant bessere Prognose ( $p = 0,044$ ), weitere Signifikanzen, insbesondere zu **Therapieende**, ergaben sich nicht.

### **3.3.3 Einfluss der Zytokinkonzentrationen auf das Überleben nach Kaplan-Meier für die Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren**

Bei den Kopf-Hals-Tumoren ergab sich nur ein signifikanter Überlebensvorteil für Patienten mit niedrigen CRP-Serumkonzentrationen zu **Therapiebeginn** ( $p = 0,05$ ), für alle anderen Parameter ergaben sich keine Signifikanzen hinsichtlich des Überlebens. Ein tendenziell schlechteres Überleben konnte auch für Patienten mit hohen IL-6-Serumkonzentrationen zu **Therapiebeginn** und zu **Therapiemitte** eruiert werden.

### **3.3.4 Multivariate Analyse (Cox-Regression)**

In der durchgeführten multivariaten Analyse (Cox-Regression) konnte im Vergleich der bei der univariaten Analyse signifikanten Parameter (CRP, VEGF, IL-6, IL-8) lediglich für das CRP ein signifikanter Prognosevorteil nachgewiesen werden ( $p = 0,03$ ). Alle anderen Faktoren erbrachten keine signifikanten Ergebnisse.

Bei der Subgruppenanalyse ergaben sich in der multivariaten Analyse keine signifikanten Ergebnisse.

### 3.4 Zytokinnetzwerk

Bei den unter den Interaktionen angeführten Tabellen sind jeweils nur die Parameter angeführt, bei denen wenigstens zu einem Messzeitpunkt Signifikanzen bestanden. Parameter bei denen keine Signifikanzen eruiert werden konnten sind nicht dargestellt.

#### 3.4.1 Erythropoetin

##### a) Interaktionen zwischen EPO und CRP

Zwischen den jeweiligen Werten von Erythropoetin und CRP ergaben sich keine signifikanten Korrelationen, dies bezieht sich auch auf den Vergleich der Medianwerte und gilt jeweils für alle drei Messzeitpunkte.

##### b) Interaktionen von EPO und Hämoglobin

Es ergaben sich signifikante Korrelationen zwischen dem medianen EPO-Wert zu **Therapiebeginn** und dem Hb-Wert zu Therapiebeginn. Das Signifikanzniveau lag bei einem p-Wert von 0,04. Insbesondere anämische Patienten (der cut-off für Anämie wurde bei einem Hb-Wert von 6,8 mmol/l gesetzt, da Angaben in der Literatur eine signifikant schlechtere Tumoroxygenierung unterhalb dieser Serumkonzentration vermuten lassen, d. h. als anämische Patienten werden im Folgenden solche mit einem Hb-Wert < 6,8 mmol/l bezeichnet) hatten signifikant höhere EPO-Serumkonzentrationen zu allen drei Messzeitpunkten. Die p-Werte lagen hier jeweils bei < 0,001.

##### c) Interaktionen zu den übrigen Zytokinen und Parametern

Auffällig war eine signifikante Korrelation ( $p = 0,042$ ) zwischen dem EPO-Medianwert am **Therapieende** und dem Thrombozytenwert. Patienten mit einem niedrigen EPO-Wert am **Therapieende** hatten einen signifikant höheren Thrombozytenwert, eine prognostische Relevanz ergab sich hieraus jedoch nicht.

**Tab. 2: Interaktionen von EPO für das Gesamtkollektiv** (k = nur kategorial signifikant)

EPO	Hb	TRCS	Anämie
Therapiestart	p = 0,04 k	p = 0,83	p < 0,001
Therapiemitte	p = 0,2	p = 0,77	p < 0,001
Therapieende	p = 0,43	p = 0,042 k	p < 0,001

**d) Interaktionen von EPO getrennt nach Diagnosegruppen****Gynäkologische Tumore:**

Bei den 22 untersuchten gynäkologischen Patientinnen ergaben sich zu **Therapiebeginn** signifikante Korrelationen zum Hämoglobin (jedoch nur für anämische Patienten) und zum TNF- $\alpha$ . So war ein signifikant höherer EPO-Wert für anämische Patientinnen feststellbar (p = 0,006), weiterhin hatten solche Patientinnen mit einem hohen EPO-Wert höhere TNF $\alpha$ -Werte (p = 0,032). Bei **Therapiemitte** konnten keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden.

Zu **Therapieende** hatten anämische Patientinnen erneut einen signifikant höheren EPO-Wert (p = 0,009), ferner konnten für Patientinnen mit EPO-Werten unterhalb des ermittelten Medians höhere Thrombozytenwerte nachgewiesen werden (p = 0,039). Auffällig waren ebenso signifikant höhere IL-8-Werte für Patientinnen mit niedrigen EPO-Serumkonzentrationen (p = 0,041).

**Tab. 3: Interaktionen von EPO für die gynäkologischen Tumore** (k = nur kategorial signifikant)

EPO	Hb	TRCS	TNF	IL-8	Anämie
Therapiebeginn	p = 0,1	p = 0,36	p = 0,032	p = 0,47	p = 0,006 k
Therapiemitte	p = 0,23	p = 0,09	p = 0,61	p = 0,75	p = 0,1
Therapieende	p = 0,31	p = 0,039k	p = 0,47	p = 0,041	p = 0,009

**Kopf-Hals-Tumore:**

Bei den 30 untersuchten Kopf-Hals Tumoren ergaben sich zu **Therapiebeginn** signifikante Korrelationen zum Hämoglobin, zur Thrombozytenzahl, zum Tumorstadium und zum VEGF. Es zeigten sich für Kopf-Hals-Patienten mit niedrigen EPO-Werten signifikant höhere, d.h. oberhalb des Medians gelegene, Thrombozytenzahlen (p = 0,048) und Hämoglobinwerte (p = 0,047). Weiterhin feststellbar waren für Patienten mit EPO-Werten oberhalb des ermittelten Medians ein höheres Tumorstadium (p = 0,017) sowie höhere VEGF-Werte (p = 0,023).

Zu **Therapiemitte** ließen sich keine signifikanten Korrelationen ermitteln.

Zu **Therapieende** ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen IL-8 und EPO. Patienten mit hohen EPO-Werten hatten signifikant höhere Werte von IL-8 ( $p = 0,001$ ).

**Tab. 4: Interaktionen von EPO für die Kopf-Hals Tumore** (k = nur kategorial signifikant)

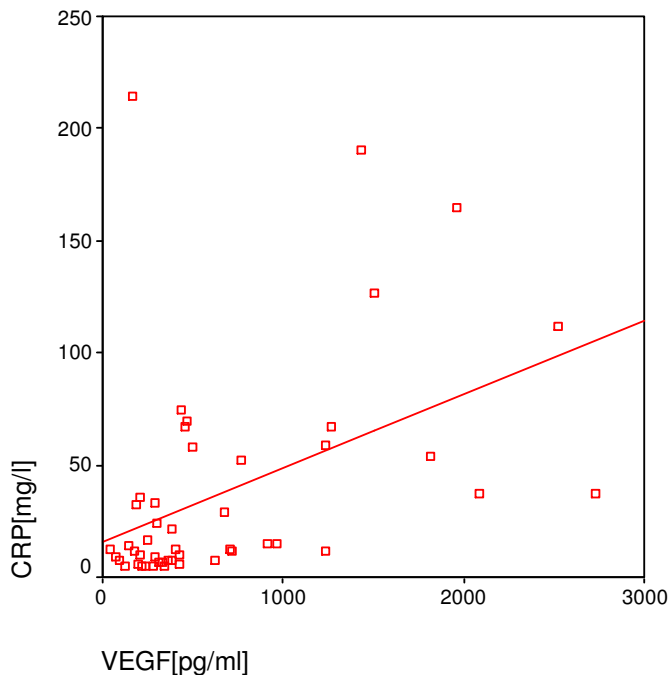
EPO	Hb	TRCS	VEGF	IL-8	Stadium
Therapieb.	$p = 0,047$ k	$p = 0,048$ k	$p = 0,023$ k	$p = 0,43$	$p = 0,017$ k
Therapiem.	$p = 0,41$	$p = 0,76$	$p = 0,2$	$p = 0,56$	$p = 0,18$
Therapieende	$p = 0,71$	$p = 0,51$	$p = 0,64$	$p = 0,001$	$p = 0,26$



### 3.4.2 VEGF

#### a) Interaktionen von VEGF und CRP

Es zeigte sich zu **Therapiebeginn** eine signifikante Korrelation zwischen VEGF und CRP. Patienten mit erhöhten CRP-Werten hatten deutlich höhere VEGF-Werte ( $p = 0,001$ ). Dies ist in Abb.19 dargestellt. Bei **Therapiemitte** sowie bei **Therapieende** konnten hingegen keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden.



**Abb. 19: Interaktion von VEGF zu CRP zu Therapiebeginn ( $p = 0,001$ )**

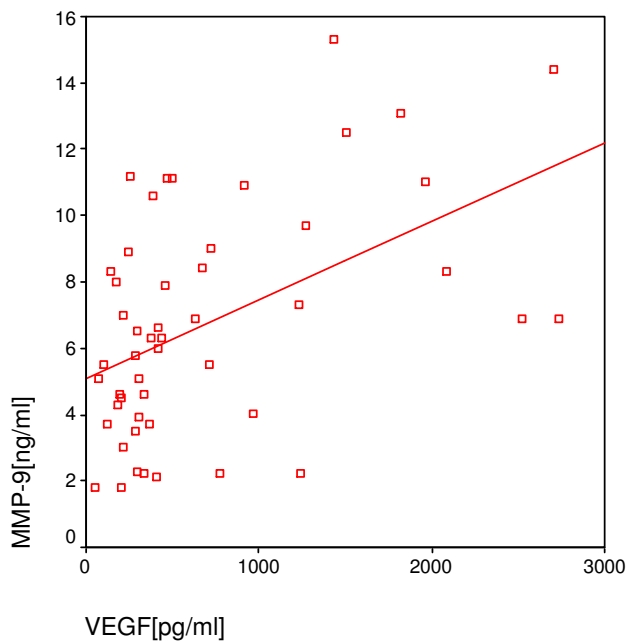
#### b) Interaktion von VEGF und Hämoglobin

Zu **Therapiebeginn** zeigten sich signifikante Korrelationen zwischen dem Hämoglobin bzw. VEGF. Patienten mit niedrigem Hb-Wert hatten signifikante höhere VEGF-Konzentrationen im Serum ( $p = 0,004$ ). Zu **Therapiemitte** und zu **Therapieende** konnten hingegen keine Signifikanzen mehr nachgewiesen werden.

#### c) Interaktionen von VEGF zu den übrigen Zytokinen und Parametern

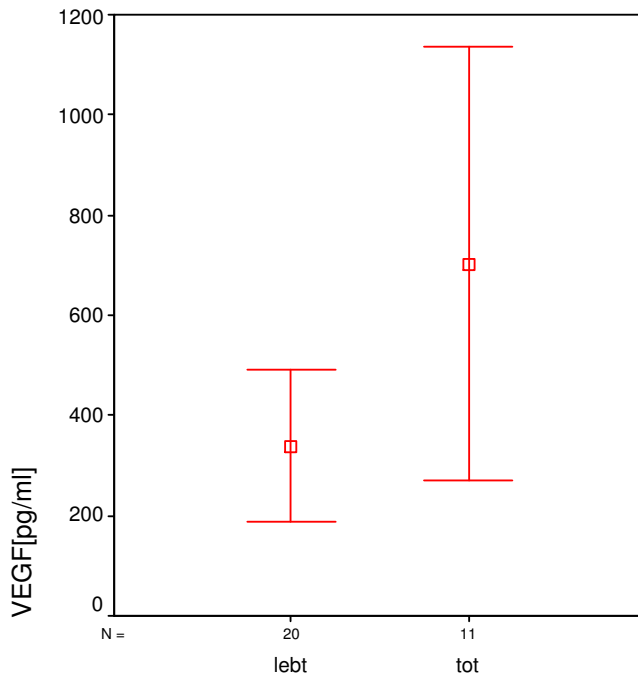
Zu **Therapiebeginn** ergaben sich signifikante Korrelationen zum Tumorstadium, zur Thrombozytenzahl und Leukozytenzahl, zum  $\text{TNF-}\alpha$ , MMP-9 und IL-6. Patienten im Stadium IV hatten signifikant höhere VEGF-Werte im Serum ( $p = 0,002$ ). Des Weiteren ergaben sich signifikante Zusammenhänge in gleicher Weise zwischen VEGF und der Leukozyten- bzw. Thrombozytenzahl. Hohe Leukozyten- und Thrombozytenzahlen zogen hohe VEGF-Werte nach sich ( $p$ -Wert jeweils  $< 0,001$ ). Dies galt auch für  $\text{TNF-}\alpha$ , MMP-9 und IL-6. Hohe

VEGF-Serumwerte gingen mit signifikant höheren Serumkonzentrationen der vorgenannten Parameter einher. Der p-Wert betrug für TNF- $\alpha$  0,001, für MMP-9 < 0,001 und für IL-6 0,021. Die Korrelation zwischen VEGF und MMP-9 ist in Abb. 20 graphisch dargestellt.



**Abb. 20: VEGF-Serumkonzentration und MMP-9-Serumkonzentration zu Therapiebeginn (p < 0,001)**

Bei **Therapiemitte** konnten weiterhin signifikante Korrelationen zur Leukozyten- bzw. Thrombozytenzahl und zum MMP-9 ermittelt werden, dabei kam es zu gleichen Verhältnissen zwischen den jeweiligen Parametern und VEGF wie bei Therapiebeginn. Die p-Werte betragen 0,002 für die Leukozytenzahl, <0,0001 für die Thrombozyten und 0,004 für MMP-9. Ebenfalls hatten diejenigen Patienten mit schlechtem therapeutischem Response („no change“, Progress) signifikant höhere VEGF-Serumkonzentrationen (p<0,001). Auch hinsichtlich des Überlebens war ein Unterschied feststellbar: Patienten mit hohem VEGF-Spiegel im Serum hatten eine signifikant schlechtere Prognose (p = 0,044), s.Abb.21.



**Abb. 21: Prognose in Abhängigkeit der VEGF-Konzentration zu Therapiemitte (p = 0,044)**

Zu **Therapieende** bestand weiterhin eine signifikante Korrelation zum MMP-9 (p = 0,038). Ebenso hatten Patienten mit hohen Konzentrationen von IL-1 $\beta$  und IL-6 signifikant höhere VEGF-Werte (p-Werte: 0,018, 0,04). Dies galt auch für solche mit IL-8 Konzentrationen oberhalb des Medians (p = 0,037). Hohe VEGF-Serumspiegel korrelierten auch hier mit einer signifikant schlechteren Prognose (p = 0,024).

**Tab. 5: Interaktionen von VEGF für das Gesamtkollektiv** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

VEGF	CRP	Hb	TRCS	LKCS	TNF	MMP	IL-1β	IL-6
Beg.	0,001	0,004	< 0,001	< 0,001	0,001	< 0,001	0,43	0,021k
Mitte	0,13	0,12	< 0,001	0,002	0,57	0,004	0,09	0,08
Ende	0,18	0,056	0,36	0,91	0,88	0,038	0,018	0,04

IL-8	Prognose	Stadium	Befund (Ende)
0,14	0,62	0,002	0,73
0,2	0,044	0,07	< 0,001 k
0,037 k	0,024	0,1	0,89

#### d) Interaktionen von VEGF getrennt nach Diagnosegruppen

##### Gynäkologische Tumore:

Bei den 22 ausgewerteten gynäkologischen Fällen zeigten sich zu **Therapiebeginn** signifikante Korrelationen zum Tumorstadium, zur Leukozyten- bzw. Thrombozytenzahl, zum CRP, MMP-9 und Interleukin 6. Insbesondere für das Stadium IV konnten signifikant höhere VEGF-Konzentrationen nachgewiesen werden ( $p = 0,014$ ). Ebenso ergaben sich für die untersuchten Parameter Leukozyten- bzw. Thrombozytenzahl, CRP, MMP-9 sowie IL-6 signifikant höhere Serum-VEGF-Konzentrationen bei hohen Serumkonzentrationen. Der p-Wert beträgt für die Leukozyten  $<0,001$ , für die Thrombozyten 0,001, für das CRP 0,001, für MMP-9 0,001 und 0,04 für IL-6.

Zu **Therapiemitte** ergaben sich, wie bereits zu Therapiebeginn, signifikante Korrelationen zur Leukozytenzahl- bzw. Thrombozytenzahl und zum IL-6. Die p-Werte betragen 0,004 (Leukozyten),  $<0,001$  (Thrombozyten) und 0,001 (IL-6). Weiterhin ergab sich hier eine signifikante Korrelation bezüglich des Überlebens. Diejenigen Patienten, die im Verlauf an dem Tumorleiden verstarben, hatten signifikant höhere VEGF-Konzentrationen im Serum ( $p = 0,029$ ).

Bei **Therapieende** konnten ebenso Signifikanzen zur Thrombozytenzahl und zu MMP-9 nachgewiesen werden. Die p-Werte betragen 0,003 bzw. 0,029. Neu hinzu kamen signifikante Korrelationen zu IL-8 und IL-1β. Patientinnen mit höheren Konzentrationen von IL-1β im Serum hatten höhere Konzentrationen von VEGF ( $p = 0,001$ ), ebenso Patientinnen mit MMP-9 Konzentrationen, die oberhalb des Medians lagen. Für IL-8 resultierte ein signifikanter Zusammenhang für Patientinnen mit IL-8-Serumkonzentrationen oberhalb des Medianwertes,

diese hatten höhere VEGF-Werte ( $p = 0,03$ ).

**Tab. 6: Interaktionen von VEGF für die gynäkologischen Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

VEGF	CRP	Hb	LKCS	TRCS	MMP	IL-6	IL-8	IL-1 $\beta$	Stadium	Prognose
Beginn	<0,001	0,44	<0,001	0,001	<0,001	0,04k	0,86	0,8	0,014	0,3
Mitte	0,076	0,43	0,004	<0,001	0,086	0,001	0,094	0,36	0,12	0,029
Ende	0,88	0,67	0,47	0,003	0,029	0,68	0,03k	0,001	0,17	0,07

### Kopf-Hals Tumore:

Bei den 28 HNO-Tumoren ließen sich zu **Therapiebeginn** signifikante Korrelationen zum Hämoglobin ( $p = 0,002$ ), zur Thrombozytenzahl ( $p < 0,001$ ), zum CRP ( $p = 0,029$ ), MMP-9 ( $p = 0,028$ ) und zum Tumorstadium ( $p = 0,041$ ) nachweisen. Die Zusammenhänge zwischen den jeweiligen Parametern und VEGF blieben dabei wie bereits für das gesamte Patientenkollektiv zu Therapiebeginn beschrieben. Patienten im Stadium IV hatten signifikant höhere Serum-VEGF-Spiegel.

Zur **Therapiemitte** (16 Patienten) konnten signifikante Korrelationen zur Thrombozytenzahl ( $p < 0,001$ ) und zu MMP-9 ( $p = 0,032$ ) nachgewiesen werden. Gleichfalls hatten auch hier Patienten mit fortgeschrittenen Tumoren signifikant höhere VEGF-Spiegel ( $p = 0,037$ ).

Bei **Therapieende** (9 Patienten) bestanden signifikant höhere VEGF-Serumspiegel für Patienten mit hohen Konzentrationen an IL-6 ( $p = 0,008$ ) oder niedrigen Hb-Werten ( $p = 0,023$ ).

**Tab.7: Interaktionen von VEGF für Kopf-Hals-Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

VEGF	CRP	Hb	LKCS	TRCS	TNF	MMP	IL-6	Stadium
Beginn	0,029 k	0,002	0,075	< 0,001	0,072	0,028k	0,65	0,04
Mitte	0,59	0,16	0,21	< 0,001	0,38	0,032	0,93	0,037 k
Ende	0,44	0,023	0,95	0,79	0,63	0,18	0,008	0,23

### 3.4.3 IFN- $\gamma$

#### a) Interaktionen von IFN- $\gamma$ und CRP

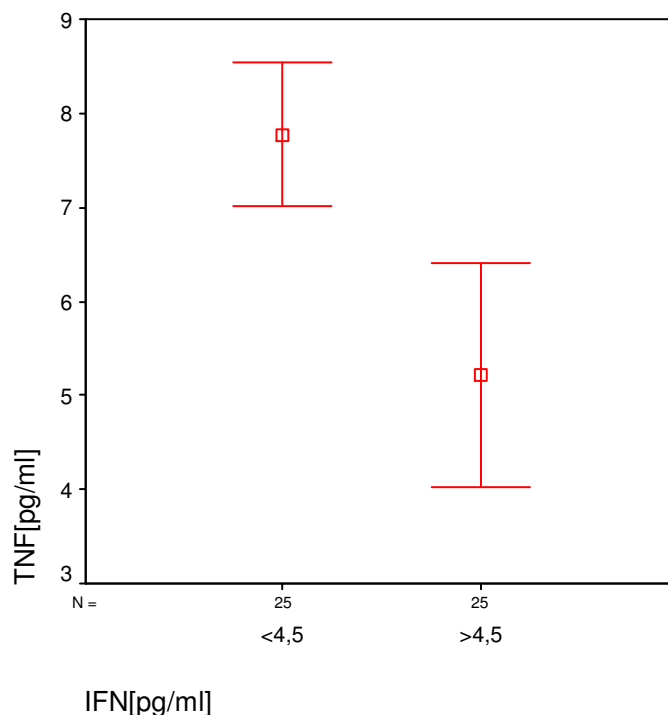
Bei Patienten mit CRP-Werten  $> 5$  mg/l konnten signifikant niedrigere IFN- $\gamma$  nachgewiesen werden ( $p = 0,023$ ). Dies ließ sich sowohl zu **Therapiebeginn** als auch zu **Therapiemitte** ( $p = 0,021$ ) beobachten. Bei **Therapieende** konnten keine Signifikanzen mehr gezeigt werden.

#### b) Interaktionen von IFN- $\gamma$ und Hämoglobin

Bei **Therapiemitte** hatten Patienten mit einem Hämoglobinwert oberhalb von 6,8 mmol/l signifikant höhere IFN- $\gamma$  Werte ( $p = 0,028$ ). Zu **Therapiebeginn** und zu **Therapieende** traten keine signifikanten Korrelationen auf.

#### c) Weitere Interaktionen von IFN- $\gamma$

Zu **Therapiebeginn** konnte eine hochsignifikante Korrelation ( $p < 0,001$ ) zwischen IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  gezeigt werden. Patienten mit IFN- $\gamma$  Konzentrationen oberhalb des Medians 4,5 pg/ml hatten deutlich niedrigere Konzentrationen von TNF- $\alpha$  im Serum, der p-Wert beträgt 0,003. Dies ist in Abb.22 graphisch dargestellt. Weitere Beziehungen konnten nicht nachgewiesen werden.



**Abb. 22: Interaktion von IFN und TNF zu Therapiebeginn ( $p = 0,003$ )**

Zu **Therapiemitte** konnte in gleicher Weise wie zu Therapiebeginn eine signifikante Korrelation zum TNF- $\alpha$  ermittelt werden ( $p = 0,017$ ). Weitere Korrelationen traten, ebenso wie zu Behandlungsbeginn, nicht auf.

Zu **Therapieende** konnte keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden.

**Tab. 8: Interaktionen von IFN- $\gamma$  für das Gesamtkollektiv**

IFN- $\gamma$	CRP	Hb	TNF
Therapiebeginn	$p = 0,023$ k	$p = 0,28$	$p = 0,003$
Therapiemitte	$p = 0,021$ k	$p = 0,028$ k	$p = 0,017$
Therapieende	$p = 0,94$	$p = 0,76$	$p = 0,52$

#### d) Interaktionen von IFN- $\gamma$ getrennt nach Diagnosegruppen

##### Gynäkologische Tumore:

22 Patienten mit gynäkologischen Tumoren wurden zu **Therapiebeginn** untersucht. Es zeigten sich hier signifikante Korrelationen zur Leukozytenzahl ( $p = 0,032$ ), zu VEGF ( $p = 0,024$ ), zu TNF- $\alpha$  ( $p < 0,001$ ) und zu MMP-9 ( $p = 0,009$ ). Patientinnen mit hohen Konzentrationen der vorgenannten Parameter wiesen signifikant niedrigere Werte für IFN- $\gamma$  auf.

Bei **Therapiemitte** (15 Patientinnen untersucht) bestand nur noch eine signifikante Korrelation zu TNF- $\alpha$  ( $p = 0,001$ ), auch hier hatten Patientinnen mit Serumkonzentrationen für TNF- $\alpha$  oberhalb des Medians niedrigere Serumkonzentrationen für IFN- $\gamma$ .

Am **Therapieende** (8 ausgewertete Fälle) traten keine signifikanten Korrelationen mehr auf.

**Tab. 9: Interaktionen von IFN- $\gamma$  für die gynäkologischen Tumore (k = nur kategorial signifikant)**

IFN- $\gamma$	LKCS	VEGF	TNF	MMP
Therapiebeginn	$p = 0,032$	$p = 0,024$	$p < 0,001$	$p = 0,009$
Therapiemitte	$p = 0,62$	$p = 0,62$	$p = 0,001$ k	$p = 0,66$
Therapieende	$p = 0,43$	$p = 0,84$	$p = 0,97$	$p = 0,78$

### **Kopf-Hals-Tumore:**

Bei Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren (28 Patienten) traten zu **Therapiebeginn** signifikante Korrelationen zum CRP und zu TNF- $\alpha$  auf. Patienten mit pathologisch erhöhten Serumkonzentrationen von CRP (CRP > 5mg/l) sowie TNF- $\alpha$ -Werten oberhalb des Medians hatten signifikant niedrigere IFN- $\gamma$ -Werte. Die p-Werte betragen 0,024 sowie 0,02. Ausserdem konnten bei denjenigen Patienten, die nach Ende der Therapie ein Rezidiv bzw. einen Tumorprogress entwickelten, signifikant höhere Konzentrationen an IFN- $\gamma$  nachgewiesen werden als bei denen in kompletter Remission (p = 0,044).

Zu **Therapiemitte** (16 Patienten) konnte bei Patienten mit hohen (oberhalb des Medians) TNF- $\alpha$ -Werten ebenfalls signifikant niedrigere IFN- $\gamma$ - Konzentrationen festgestellt werden (p = 0,027). Gleichfalls hatten Patienten mit im weiteren Verlauf progredientem Tumorleiden (d. h. lokaler Progress oder Fernmetastasen) signifikant höhere IFN- $\gamma$  Konzentrationen (p = 0,038) im Serum.

Bei **Therapieende** (9 Patienten) bestand eine signifikante Korrelation zwischen IFN- $\gamma$  und MMP-9. Patienten mit IFN- $\gamma$  Konzentrationen oberhalb des Medians hatten signifikant niedrigere Konzentrationen von MMP-9 (p = 0,01). Weitere Signifikanzen zeigten sich nicht.

**Tab. 10: Interaktionen von IFN- $\gamma$  für Kopf-Hals-Tumore** (k = nur kategorial signifikant)

<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	<b>CRP</b>	<b>TNF</b>	<b>MMP</b>	<b>Befund (Kontrollzeit)</b>
Therapiebeginn	p = 0,024 k	p = 0,02 k	p = 0,94	p = 0,044
Therapiemitte	p = 0,71	p = 0,027 k	p = 0,66	p = 0,038
Therapieende	p = 0,91	p = 0,062	p = 0,01 k	p = 0,71

### **3.4.4 IL-1 $\beta$**

#### **a) Interaktionen von IL-1 $\beta$ und CRP**

Zu **Therapiebeginn** konnte eine signifikante Korrelation für diejenigen Patienten nachgewiesen werden, deren CRP-Konzentration > 5mg/l lag. Diese hatten signifikant höhere IL-1 $\beta$  Konzentrationen im Serum (p = 0,009), d.h. die Serumkonzentrationen lagen oberhalb des Medianwertes für IL-1 $\beta$ .

Zu **Therapiemitte** konnte dann ein genereller signifikanter Zusammenhang festgestellt werden: Patienten mit hohen CRP-Konzentrationen besaßen signifikant höhere IL-1 $\beta$  Konzentrationen im Serum (p = 0,001).



Zu **Therapieende** bestand dieser Zusammenhang nicht mehr.

### b) Interaktionen von IL-1 $\beta$ und Hämoglobin

Hinsichtlich des Hb-Wertes ließen sich zu keinem der drei Messzeitpunkte signifikante Korrelationen zu IL-1 $\beta$  nachweisen.

### c) Weitere Interaktionen von IL-1 $\beta$

Zu **Therapiebeginn** bestand eine signifikante Korrelation zu TNF- $\alpha$  ( $p = 0,012$ ) sowie IL-6 ( $p = 0,049$ ). Patienten mit hohen Serumkonzentrationen an diesen beiden Zytokinen hatten signifikant höhere IL-1 $\beta$ - Werte.

Zu **Therapiemitte** konnte ebenfalls eine signifikante Korrelation zu TNF- $\alpha$  ( $p < 0,001$ ) und IL-6 ( $0,031$ ) nachgewiesen werden, weiterhin hatten Patienten mit einer Konzentration von IL-8, die oberhalb des Medians lag, signifikant höhere IL-1 $\beta$ - Konzentrationen ( $p = 0,036$ ).

Bei **Therapieende** hatten Patienten mit höheren Thrombozytenzahlen und VEGF-Serumkonzentrationen signifikant höhere Konzentrationen an IL-1 $\beta$ . Die p-Werte betragen 0,011 bzw. 0,018. Ebenso hatten Patienten mit höheren IL-1 $\beta$ - Werten eine schlechtere Prognose hinsichtlich des Überlebens ( $p = 0,019$ ).

**Tab. 11: Interaktionen von IL-1 $\beta$  für das Gesamtkollektiv** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

<b>IL-1<math>\beta</math></b>	CRP	TRCS	VEGF	TNF	IL-6	IL-8	Prognose
Beginn	0,009 k	0,52	0,43	0,012	0,049	0,23	0,51
Mitte	0,001	0,15	0,09	< 0,001	0,031	0,036 k	0,07
Ende	0,97	0,011 k	0,018	0,59	0,86	0,74	0,019

#### d) Interaktionen von IL-1 $\beta$ getrennt nach Diagnosegruppen

##### Gynäkologische Tumore:

22 Patientinnen wurden zu **Therapiebeginn** untersucht. Signifikante Korrelationen ergaben sich zu EPO, IL-8 sowie CRP. Patientinnen mit hohen Konzentrationen an IL-1 $\beta$  hatten ebenfalls signifikant höhere Konzentrationen an IL-8 im Serum. Ebenso galt das für Patientinnen mit CRP-Konzentrationen oberhalb des Medians (p-Wert für IL-8 = 0,025, für CRP 0,019). Für EPO galt folgende Beziehung: Hohe Konzentrationen an EPO zogen niedrigere Konzentrationen an IL-1 $\beta$  nach sich (p = 0,022).

Bei **Therapiemitte** konnten 15 Fälle ausgewertet werden. Patientinnen mit hohen Werten für Leukozyten, CRP sowie TNF- $\alpha$  hatten signifikant höhere Serumkonzentrationen für IL-1 $\beta$ . Die p-Werte betragen 0,045, 0,015 sowie 0,006. Ebenso gingen IL-6- bzw. IL-8- Werte oberhalb des Medians mit signifikant höheren IL-1 $\beta$ -Konzentrationen einher (p = 0,045 für IL-6 und 0,011 für IL-8).

Zu **Therapieende** konnten insgesamt 9 Fälle ausgewertet werden. Patienten mit hohen Werten für VEGF, MMP-9 sowie einer hohen Thrombozytenzahl hatten signifikant höhere Serumspiegel für IL-1 $\beta$ . Die p-Werte betragen für VEGF 0,001, für MMP-9 0,025 sowie für die Thrombozytenzahl 0,004. Gleichfalls lag für diejenigen Patientinnen mit einem IL-8-Wert oberhalb des Medians der IL-1 $\beta$  signifikant höher (p = 0,02).

**Tab. 12: Interaktionen von IL-1 $\beta$  für die gynäkologischen Tumore** (p-Werte angegeben.; k = nur kategorial signifikant)

IL-1 $\beta$	CRP	TRCS	LKCS	EPO	VEGF	MMP	TNF	IL-6	IL-8
Beginn	0,019 k	0,54	0,63	0,022	0,8	0,33	0,052	0,31	0,025
Mitte	0,015	0,31	0,045	0,75	0,36	0,28	0,006	0,045 k	0,011 k
Ende	0,79	0,004	0,74	0,75	0,001	0,025	0,34	0,91	0,02 k

##### Kopf-Hals-Tumore:

Insgesamt 28 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren wurden zu **Therapiebeginn** untersucht. Signifikanzen zeigten sich hier hinsichtlich CRP, TNF- $\alpha$  sowie IL-6. Patienten mit einem CRP-Wert > 5 mg/l hatten signifikant höhere Konzentrationen an IL-1 $\beta$  im Serum (p = 0,038), ebenso Patienten mit einer TNF- $\alpha$  Konzentration oberhalb des Medians (p = 0,03). Die gleiche Beziehung ergab sich zu IL-6 (p = 0,039).

Zu **Therapiemitte** wurden 16 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren untersucht. Patienten mit

hohen Werten für CRP und TNF- $\alpha$  hatten signifikant höhere Serumkonzentrationen an IL-1 $\beta$  (p-Werte 0,042 für CRP und 0,03 für TNF- $\alpha$ . Gleichfalls hatten Patienten mit einer kompletten Remission am Therapieende signifikant geringere IL-1 $\beta$  Serumspiegel (p=0,028). Zu **Therapieende** wurden 9 Patienten untersucht. Patienten mit einer EPO-Serumkonzentration oberhalb des Medians hatten signifikant niedrigere IL-1 $\beta$ -Konzentrationen (p = 0,01), andere Signifikanzen waren nicht eruierbar.

**Tab.13: Interaktionen von IL-1 $\beta$  für die Kopf-Hals-Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant )

<b>IL-1<math>\beta</math></b>	CRP	EPO	TNF	IL-6	Befund (Ende)
Beginn	0,038 k	0,32	0,03 k	0,039	0,2
Mitte	0,042	0,8	0,03	0,17	0,028
Ende	0,24	0,01k	0,91	0,39	0,39

### 3.4.5 TNF- $\alpha$

#### a) Interaktionen von TNF- $\alpha$ und CRP

Zu **Therapiebeginn** konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen TNF- $\alpha$  und CRP gezeigt werden. Patienten mit hohen TNF- $\alpha$  Werten besaßen signifikant höhere CRP-Konzentrationen im Serum (p=0,019). Für die Patientengruppe, welche CRP-Konzentrationen oberhalb von 5mg/l hatte ergibt sich ein p-Wert von 0,009.

Zu **Therapiemitte** bestand dieser Zusammenhang weiterhin (p = 0,016), nicht jedoch zu **Therapieende**.

#### b) Interaktionen von TNF- $\alpha$ und Hämoglobin

Patienten mit einem Hb-Wert oberhalb des Medians bzw. oberhalb von 6,8 mmol/l zu **Therapiebeginn** hatten signifikant niedrigere Konzentrationen an TNF- $\alpha$ , die p-Werte betragen 0,025 bzw. 0,011.

Zu **Therapiemitte** bzw. **Therapieende** ließen sich keine Signifikanzen mehr nachweisen.

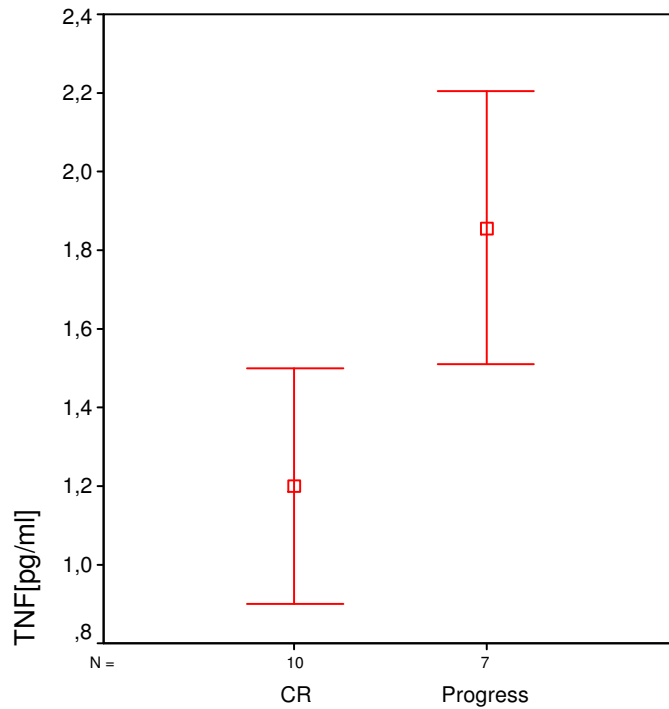
### c) Weitere Interaktionen von TNF- $\alpha$

Zu **Therapiebeginn** ergaben sich Korrelationen zur Leukozytenzahl, zu VEGF, IL-1 $\beta$ , MMP-9, IFN- $\gamma$ , zur Histologie und zum Grading. Patienten mit hohen Konzentrationen an TNF- $\alpha$  im Serum hatten signifikant höhere Konzentrationen der Zytokine VEGF, IL-1 $\beta$  und MMP-9. Die p-Werte betragen 0,001 für VEGF, 0,012 für IL-1 $\beta$  und  $< 0,001$  für MMP-9. Ebenso galt dieser Zusammenhang für die Leukozytenzahl ( $p = 0,002$ ). Für IFN- $\gamma$  ergab sich ein gegensätzlicher Zusammenhang. Patienten mit hohen Werten für IFN- $\gamma$  hatten signifikant niedrigere Konzentrationen an TNF- $\alpha$  im Serum ( $p = 0,003$ ).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass Patienten mit schlecht differenzierten Tumoren (G3) eine signifikant höhere Konzentration von TNF- $\alpha$  im Serum aufwiesen (0,001). Gleichfalls hatten Patienten mit Adenokarzinomen höhere Werte für TNF- $\alpha$  als Patienten mit Plattenepithelkarzinomen ( $p = 0,006$ ).

Zu **Therapiemitte** konnte eine signifikante Korrelation zu IL-1 $\beta$  und IL-6 gezeigt werden. Patienten mit hohen Konzentrationen an IL-1 $\beta$  und IL-6 hatten signifikant höhere Konzentrationen an TNF- $\alpha$  ( $p < 0,001$  und 0,032) im Serum. Für das Grading konnte ein gleicher Zusammenhang wie zu Therapiebeginn hergestellt werden ( $p = 0,017$ ), ebenso zu IFN- $\gamma$  ( $p < 0,001$ ).

Zu **Therapieende** hatten Patienten mit G3-Tumoren ebenfalls signifikant höhere Konzentrationen an TNF- $\alpha$  im Serum ( $p = 0,002$ ), gleichfalls hatten Patienten mit TNF- $\alpha$  Serumkonzentrationen oberhalb des Medians im Kontrollzeitraum signifikant häufiger einen Tumorprogress ( $p = 0,005$ ), s.Abb.23.



**Abb. 23: Zusammenhang zwischen TNF-Konzentration und Tumorprogress am Therapieende (p = 0,005)**

**Tab.14: Interaktionen von TNF für das Gesamtkollektiv (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)**

TNF	CRP	Hb	LKCS	VEGF	IL-1β	IFN	MMP
Beginn	0,019	0,025 k	0,002	0,001	0,012	0,003	< 0,001
Mitte	0,016	0,09	0,36	0,57	< 0,001	< 0,001	0,35
Ende	0,67	0,38	0,16	0,88	0,59	0,52	0,64

IL-6	Grading	Histologie	Befund (Kontrollzeit)
0,31	0,001	0,006 k	0,63
0,032	0,017	0,08	0,69
0,72	0,002	0,17	0,005 k

#### **d) Interaktionen von TNF- $\alpha$ getrennt nach Diagnosegruppen**

##### **Gynäkologische Tumore:**

22 Patientinnen mit gynäkologischen Tumoren wurden zu **Therapiebeginn** ausgewertet. Für Patientinnen mit hohen Konzentrationen der folgenden Zytokine zeigten sich signifikant höhere Werte für TNF- $\alpha$ : VEGF ( $p = 0,002$ ), MMP-9 ( $p = 0,001$ ). Gleiche Zusammenhänge ergaben sich zur Leukozytenzahl ( $p = 0,001$ ) und zum CRP ( $p = 0,023$ ). Für EPO sowie IFN- $\gamma$  war die Korrelation genau entgegengesetzt ( $p = 0,032$  für EPO und  $<0,001$  für IFN- $\gamma$ ). Anämische Patientinnen hatten signifikant häufiger Konzentrationen an TNF- $\alpha$  oberhalb des Medians ( $p = 0,018$ ). Ein höheres Grading ging auch mit signifikant höheren TNF-Werten einher ( $p = 0,03$ ). Ebenso war bei Patientinnen mit kompletter oder partieller Tumorremission am Therapieende signifikant häufiger ein TNF- $\alpha$ -Spiegel unterhalb des Medianwertes am Therapiebeginn zu eruieren ( $p = 0,03$ ). Ein signifikanter Überlebensvorteil ergab sich für diese Gruppe (TNF- $\alpha$ -Konzentration unterhalb des Medians) im weiteren Verlauf ( $p = 0,047$ ). Zu **Therapiemitte** wurden 15 Fälle untersucht. Patientinnen mit hohen Hb-Werten oder Konzentrationen von IFN- $\gamma$  oberhalb des Medians besaßen signifikant niedrigere Serumspiegel für TNF- $\alpha$  ( $p = 0,031$  für Hb und  $0,001$  für IFN- $\gamma$ ), hingegen war bei hohen Konzentrationen an IL-1 $\beta$  ( $p = 0,006$ ) oder IL-8 ( $p = 0,046$ ) bzw. oberhalb des Medians gelegenen IL-6 Werten ( $p = 0,02$ ) ein signifikant höherer TNF- $\alpha$  Wert zu verzeichnen.

Bei **Therapieende** konnten 9 Fälle ausgewertet werden. Patientinnen mit hohen Hb-Werten hatten signifikant niedrigere Spiegel an TNF- $\alpha$  ( $p = 0,042$ ). Ebenso hatten diejenigen Patientinnen mit TNF- $\alpha$  Konzentrationen oberhalb des Medians im weiteren Verlauf signifikant häufiger einen Tumorprogress ( $p = 0,01$ ). Hinsichtlich des Überlebens ergaben sich keine Signifikanzen.

**Tab.15: Interaktionen von TNF für die gynäkologischen Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

TNF	CRP	Hb	LKCS	EPO	IFN	VEGF	MMP	Grading	Befund (Ende)	Prognose
Beg.	0,023	0,018 k	0,001	0,032	< 0,001	0,002	0,001	0,03	0,03 k	0,047 k
Mitte	0,06	0,031 k	0,12	0,63	0,001 k	0,1	0,12	0,23	0,35	0,07
Ende	0,11	0,042	0,94	0,7	0,06	0,47	0,28	0,21	0,38	0,63

TNF	IL-1 $\beta$	IL-6	IL-8	Befund (Kontrollzeit)
Beg.	0,052	0,42	0,32	0,12
Mitte	0,006	0,02 k	0,046	0,28
Ende	0,34	0,06	0,81	0,01k

### Kopf-Hals-Tumore:

28 Kopf-Hals-Tumoren wurden zu **Therapiebeginn** untersucht. Patienten mit G3-Tumoren besaßen signifikant höhere TNF- $\alpha$ - Konzentrationen ( $p = 0,025$ ). Dies galt ebenfalls für Patienten mit einem CRP-Wert  $>5$  mg/l ( $p = 0,02$ ). Patienten mit einer TNF- $\alpha$ -Konzentration oberhalb des Medians hatten signifikant niedrigere Werte für IFN- $\gamma$  ( $p = 0,02$ ), aber signifikant höhere Werte für IL-1 $\beta$  ( $p = 0,027$ ).

Zu **Therapiemitte** wurden 16 Kopf-Hals-Tumoren untersucht. Patienten mit G3-Tumoren besaßen signifikant häufiger TNF- $\alpha$ - Werte oberhalb des Medians ( $p = 0,039$ ). Ebenso gingen hohe Werte von IL-1 $\beta$  mit hohen Werten an TNF- $\alpha$  einher ( $p = 0,031$ ). Dagegen traten bei IFN- $\gamma$ - Werten oberhalb des Medians signifikant niedrigere TNF- $\alpha$ - Konzentrationen auf ( $p = 0,027$ ).

Zu **Therapieende** wurden 9 Patienten untersucht. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zum Grading. Patienten mit G3-Tumoren hatten signifikant höhere TNF- $\alpha$ - Konzentrationen im Serum ( $p = 0,01$ ).

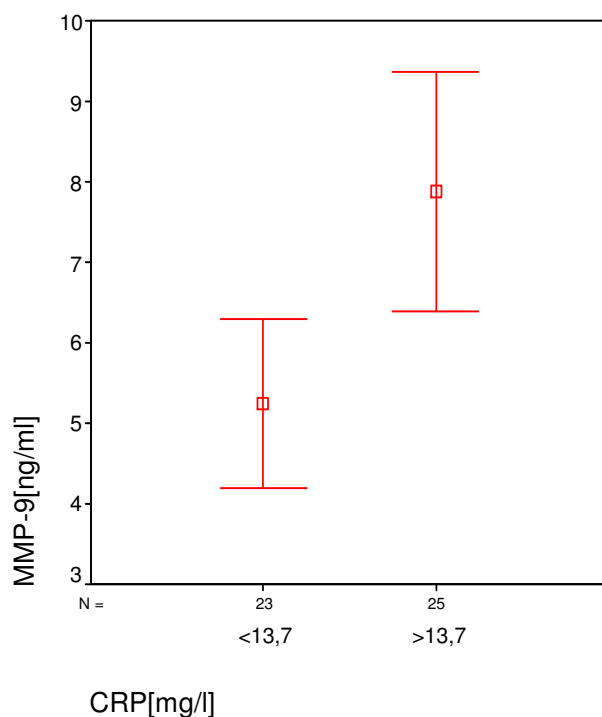
**Tab.16: Interaktionen von TNF für die Kopf-Hals-Tumore** (k = nur kategorial signifikant)

TNF	CRP	IL-1 $\beta$	IFN- $\gamma$	Grading
Therapiebeginn	$p = 0,02$ k	$p = 0,027$ k	$p = 0,02$ k	$p = 0,025$
Therapiemitte	$p = 0,15$	$p = 0,031$	$p = 0,027$ k	$p = 0,039$ k
Therapieende	$p = 0,42$	$p = 0,91$	$p = 0,06$	$p = 0,01$

### 3.4.6 MMP-9

#### a) Interaktionen von MMP-9 und CRP

Zu **Therapiebeginn** zeigte sich eine hochsignifikante Korrelation zwischen MMP-9 und CRP (s. Abb.24). Patienten mit hohen Konzentrationen von MMP-9 im Serum besaßen auch deutlich höhere Konzentrationen von CRP ( $p = 0,001$ , bei der kategorialen Analyse  $p = 0,005$ ). Dies ließ sich auch zu **Therapiemitte** nachweisen, Patienten mit CRP-Serumkonzentrationen oberhalb des Medians besaßen signifikant höhere MMP-9 Werte ( $p=0,038$ ), jedoch nicht mehr am **Therapieende**.



**Abb. 24: Interaktion zwischen CRP und MMP-9 zu Therapiebeginn ( $p = 0,005$ )**

#### b) Interaktionen von MMP-9 und Hämoglobin

Zu **Therapiebeginn** hatten Patienten mit niedrigen Hb-Werten signifikant höhere Konzentrationen an MMP-9 ( $p = 0,014$ ), insbesondere anämische Patienten besaßen MMP-9-Werte, die oberhalb des Medians lagen ( $p = 0,022$ ). Zu **Therapiemitte** konnte dies nicht mehr gezeigt werden, am **Therapieende** hatten anämische Patienten jedoch erneut signifikant höhere MMP-9 Konzentrationen ( $p = 0,005$ ).



### c) Weitere Interaktionen von MMP-9

Zu **Therapiebeginn** konnten signifikante Korrelationen zur Leukozytenzahl ( $p < 0,001$ ), zur Thrombozytenzahl ( $p < 0,001$ ), zu VEGF ( $p < 0,001$ ) und zu TNF- $\alpha$  ( $p < 0,001$ ) nachgewiesen werden. Patienten mit hohen Serumkonzentrationen der vorgenannten Parameter hatten signifikant höhere MMP-9 Konzentrationen.

Zu **Therapiemitte** zeigten sich die schon zu Therapiebeginn beschriebenen Korrelationen zur Leukozytenzahl ( $p = 0,004$ ), zur Thrombozytenzahl ( $p = 0,021$ ) und zu VEGF ( $p = 0,004$ ). Gleichzeitig hatten diejenigen Patienten mit IL-6 und IL-8 Serumkonzentrationen, die oberhalb des Medians lagen, signifikant höhere Werte für MMP-9. Die p-Werte betragen 0,042 für IL-6 und 0,015 für IL-8.

Zu **Therapieende** konnten signifikante Korrelationen zur Leukozytenzahl und zum VEGF ermittelt werden. Die p-Werte betragen 0,03 bzw. 0,038.

**Tab.17: Interaktionen von MMP-9 für das Gesamtkollektiv** (p-Werte angegeben.; k = nur kategorial signifikant)

MMP	CRP	Hb	LKCS	TRCS	VEGF	TNF	IL-6	IL-8
Beg.	< 0,001	0,014	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,11	0,7
Mitte	0,038 k	0,21	0,004	0,021	0,004	0,35	0,042 k	0,015 k
Ende	0,41	0,005 k	0,03	0,99	0,038	0,64	0,53	0,41

### d) Interaktionen von MMP-9 getrennt nach Diagnosegruppen

#### Gynäkologische Tumore:

22 Patienten mit Gynäkologischen Tumoren wurden ausgewertet. Zu **Therapiebeginn** konnten signifikante Korrelationen zur Leukozytenzahl ( $p < 0,001$ ), zur Thrombozytenzahl ( $p < 0,001$ ), zum CRP ( $p < 0,001$ ), zu VEGF ( $p < 0,001$ ) und zu TNF- $\alpha$  ( $p = 0,001$ ) nachgewiesen werden. Patientinnen mit hohen Konzentrationen dieser Parameter hatten signifikant höhere Werte für MMP-9. Weiterhin zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen IFN- $\gamma$  und MMP-9 ( $p = 0,009$ ). Hier bestand eine umgekehrte Situation. Patientinnen mit hohen MMP-9- Serumkonzentrationen hatten signifikant niedrigere Werte für IFN- $\gamma$ . Des Weiteren bestand eine schlechtere Prognose für Patientinnen mit MMP-9 Konzentrationen oberhalb des Medians.

Zu **Therapiemitte** ( $n = 14$ ) zeigten sich Signifikanzen hinsichtlich der Thrombozytenzahl ( $p = 0,028$ ) und des CRP ( $p = 0,014$ ). Gleichzeitig hatten Patientinnen mit IL-6 und IL-8

Konzentrationen oberhalb des Medians signifikant höhere MMP-9 Serumspiegel ( $p = 0,034$  bzw.  $0,043$ ). Ebenso hatten Patienten mit hohen MMP-9 Konzentrationen hier ein signifikant höheres Risiko ( $p = 0,013$ ) für einen letalen Verlauf der Tumorerkrankung (d.h. lokaler Tumorprogress oder Fernmetastasierung)

Zu **Therapieende** konnten 9 Fälle ausgewertet werden. Signifikante Korrelationen traten hier zum VEGF ( $p = 0,029$ ), zu IL-1 $\beta$  ( $p = 0,025$ ) und zu IL-8 ( $p = 0,043$ ) auf. Patienten mit hohen Serumkonzentrationen an diesen Zytokinen hatten auch signifikant höhere MMP-9-Serumspiegel.

**Tab.18: Interaktionen von MMP-9 für die gynäkologischen Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

MMP	CRP	LKCS	TRCS	VEGF	TNF	IFN	IL-1 $\beta$	IL-6	IL-8	Prognose
Beg.	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,009	0,33	0,12	0,058	0,021 k
Mitte	0,014	0,052	0,028	0,09	0,12	0,66	0,28	0,034	0,043k	0,013
Ende	0,21	0,86	0,05	0,029	0,28	0,78	0,025	0,87	0,043	0,25

### **Kopf-Hals-Tumore:**

28 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren wurden zu **Therapiebeginn** untersucht. Es traten signifikante Interaktionen zum Hb ( $p = 0,038$ ) und zur Leukozytenzahl ( $p = 0,004$ ) auf, d.h. Patienten mit hohen MMP-9- Werten hatten höhere Leukozytenwerte bzw. niedrigere Hb-Werte. Weiterhin hatten Patienten mit oberhalb des Medianwertes gelegenen Serumkonzentrationen für MMP-9 signifikant höhere Thrombozytenwerte sowie VEGF-Konzentrationen ( $p = 0,029$  bzw.  $0,028$ ).

Zu **Therapiemitte** konnten 16 Patienten untersucht werden. Signifikante Interaktionen traten wiederum zur Leukozytenzahl ( $p = 0,045$ ) und zum VEGF ( $p = 0,032$ ) auf. Weiterhin hatten Patienten mit MMP-9 Serumkonzentrationen oberhalb des Medians signifikant erhöhte Thrombozytenwerte ( $p = 0,004$ ).

Zu **Therapieende** wurden 9 HNO-Fälle ausgewertet. Anämische Patienten hatten signifikant höhere MMP-9 Serumkonzentrationen ( $p < 0,001$ ), Patienten mit oberhalb des Medians gelegenen IFN- $\gamma$  Werten hatten signifikant niedrigere MMP-9 Serumkonzentrationen ( $p = 0,01$ ).

**Tab.19: Interaktionen von MMP-9 für die Kopf-Hals-Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

<b>MMP</b>	<b>Hb</b>	<b>LKCS</b>	<b>TRCS</b>	<b>VEGF</b>	<b>IFN</b>
Beginn	0,038	0,004	0,029 k	0,028 k	0,94
Mitte	0,11	0,045	0,004 k	0,032	0,66
Ende	< 0,001 k	0,1	0,72	0,18	0,01 k

### 3.4.7 IL-6

#### a) Interaktionen von IL-6 und CRP

Zu **Therapiebeginn** konnte eine hochsignifikante Korrelation zwischen IL-6 und CRP ermittelt werden. Patienten mit hohen IL-6 Serumkonzentrationen hatten ebenfalls hohe Konzentrationen an CRP ( $p < 0,001$ ). Dies galt ebenso zu **Therapiemitte** ( $p < 0,001$ ) sowie zu **Therapieende** ( $p = 0,002$ ).

#### b) Interaktionen von IL-6 und Hämoglobin

Zur Hämoglobinkonzentration konnten bei keiner der drei Messzeitpunkte signifikante Korrelationen aufgezeigt werden.

#### c) Weitere Interaktionen von IL-6

Zu **Therapiebeginn** ergaben sich signifikante Korrelationen zur Leukozytenzahl, zu IL-1 $\beta$ , zu IL-8 sowie zum Überleben. Patienten mit hohen Konzentrationen der vorgenannten Zytokine sowie höherer Leukozytenzahl hatten signifikant höhere Werte für IL-6. Die p-Werte betragen 0,033, 0,049 und 0,049. Ebenso hatten Patienten mit niedrigeren IL-6 Serumkonzentrationen eine signifikant bessere Prognose hinsichtlich des Überlebens ( $p = 0,007$ ).

Zu **Therapiemitte** hatten diejenigen Patienten mit hohen Serumkonzentrationen von IL-1 $\beta$  sowie TNF- $\alpha$  signifikant höhere IL-6 Werte ( $p = 0,031$  bzw. 0,032), gleichfalls hatten Patienten mit einer IL-6- Serumkonzentration oberhalb des Medians signifikant höhere IL-8-Werte ( $p = 0,021$ ). Eine weitere Korrelation konnte zur Leukozytenzahl eruiert werden ( $p < 0,001$ ). Patienten mit signifikant niedrigeren Konzentrationen von IL-6 hatten im weiteren Verlauf einen Überlebensvorteil ( $p = 0,001$ ).

Am **Therapieende** hatten die Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren signifikant höhere Serumkonzentrationen an IL-6 ( $p = 0,005$ ). Ebenso bestand eine signifikante Korrelation zu

VEGF und IL-8. Patienten mit hohen IL-6-Werten besaßen deutlich höhere VEGF-Serumkonzentrationen ( $p = 0,04$ ), dies galt auch für Patienten mit IL-8-Werten oberhalb des Medians ( $p = 0,02$ ).

**Tab.20: Interaktionen von IL-6 für das Gesamtkollektiv** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

IL-6	CRP	LKCS	IL-1 $\beta$	VEGF	TNF	IL-8	Diagnosegr.	Prognose
Beginn	< 0,001	0,033	0,049	0,16	0,31	0,049	0,78	0,007
Mitte	< 0,001	< 0,001	0,031	0,08	0,032	0,021 k	0,46	0,001
Ende	0,002	0,95	0,86	0,04	0,72	0,02 k	0,005	0,11

#### d) Interaktionen von IL-6 getrennt nach Diagnosegruppen

##### Gynäkologische Tumore:

22 Patientinnen mit Gynäkologischen Tumoren wurden zu **Therapiebeginn** untersucht. Signifikanzen ergaben sich hinsichtlich des CRP, VEGF und des Hämoglobinwertes. Bei einer hohen IL-6-Serumkonzentration zeigte sich ein signifikant höherer CRP-Wert ( $p = 0,004$ ), ebenso hatten Patientinnen mit einer IL-6-Serumkonzentration oberhalb des Medians hohe Werte für VEGF ( $p = 0,04$ ). Umgekehrt zogen hohe Hämoglobinkonzentrationen niedrigere Werte für IL-6 nach sich ( $p = 0,046$ ).

Zu **Therapiemitte** wurden 15 Fälle untersucht. Wie schon zu Therapiebeginn ergaben sich auch hier signifikante Korrelationen hinsichtlich des CRP ( $p < 0,001$ ) sowie zum VEGF ( $p = 0,001$ ). Des Weiteren hatten Patientinnen mit hohen IL-6-Serumkonzentrationen signifikant höhere Werte der Zytokine MMP-9 ( $p = 0,034$ ) und IL-8 ( $p = 0,023$ ) und hohe Leukozyten- ( $p < 0,001$ ) und Thrombozytenzahlen ( $p = 0,002$ ). Für die Patientinnen mit einem IL-6-Wert oberhalb des Medians konnten ferner signifikant höhere Konzentrationen an IL-1 $\beta$  ( $p = 0,045$ ) und TNF- $\alpha$  ( $p = 0,02$ ) nachgewiesen werden. Es konnte ebenso gezeigt werden, dass hohe IL-6-Konzentrationen signifikant häufiger mit einem Tumorprogress in der Nachbeobachtungszeit einhergingen ( $p = 0,037$ ) und nachteilig für die weitere Prognose (d. h. Überleben) waren ( $p = 0,014$ ).

Zu **Therapieende** wurden 9 Patientinnen untersucht. Patientinnen mit höheren IL-6-Serumkonzentrationen hatten ebenfalls höhere Hb-Werte ( $p = 0,017$ ). Weitere Signifikanzen ergaben sich nicht.

**Tab.21: Interaktionen von IL-6 für die gynäkologischen Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

IL-6	CRP	Hb	LKCS	TRCS	VEGF	MMP	IL-1β	IL-8
Beginn	0,004	0,046	0,35	0,68	0,04 k	0,12	0,31	0,92
Mitte	<0,001	0,36	<0,001	0,002	0,001	0,034	0,045 k	0,023
Ende	0,14	0,017	0,28	0,77	0,68	0,87	0,91	0,75

TNF	Befund (Kontrollzeit)	Prognose
0,42	0,27	0,15
0,02 k	0,037	0,014
0,06	0,37	0,73

### **Kopf-Hals-Tumore:**

Bei 28 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren wurde zu **Therapiebeginn** die Expression von IL-6 untersucht. Patienten mit hohen IL-6-Serumkonzentrationen hatten signifikant höhere Werte für CRP, IL-1β und IL-8 sowie eine höhere Leukozytenzahl. Die zugehörigen p-Werte betragen < 0,001 (CRP), 0,039 (IL-1β), 0,012 (IL-8) und 0,014 (Leukozytenzahl). Ebenso hatten Patienten mit hohen IL-6 Werten eine signifikant schlechtere Prognose hinsichtlich des Überlebens (p=0,017).

15 Patienten wurden zu **Therapiemitte** untersucht. Patienten mit hohen IL-6-Serumkonzentrationen hatten auch hier eine signifikant schlechtere Prognose (p = 0,012). Ebenso konnten für diese Patienten signifikant höhere CRP-Werte eruiert werden (p = 0,001).

Bei 9 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren wurde zu **Therapieende** die IL-6 Expression untersucht. Patienten mit hohen IL-6-Werten hatten signifikant höhere VEGF-Serumkonzentrationen (p = 0,008). Ebenso konnte bei diesen Patienten signifikant häufiger ein Tumorprogress in der Kontrollzeit beobachtet werden (p = 0,028), die Prognose war signifikant schlechter (p = 0,032).

**Tab.22: Interaktionen von IL-6 für die Kopf-Hals-Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

IL-6	CRP	LKCS	VEGF	IL-1β	IL-8	Befund (Kontrollzeit)	Prognose
Beginn	<0,001	0,014	0,65	0,039	0,012	0,57	0,017
Mitte	0,001	0,81	0,92	0,17	0,89	0,42	0,012
Ende	0,1	0,63	0,008	0,39	0,89	0,028	0,032

### 3.4.8 IL-8

#### a) Interaktionen von IL-8 und CRP

Zu **Therapiebeginn** hatten Patienten mit einem CRP-Wert oberhalb des Medians signifikant höhere IL-8-Serumkonzentrationen ( $p = 0,005$ ), dies konnte auch zu **Therapiemitte** nachgewiesen werden ( $p = 0,01$ ). Zu **Therapieende** bestand ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang zwischen CRP und IL-8. Patienten mit einer CRP-Konzentration oberhalb des Medians hatten signifikant häufiger IL-8-Werte, die oberhalb des Medians lagen ( $p = 0,016$ ).

#### b) Interaktionen zwischen IL-8 und Hämoglobin

Zwischen IL-8 und der Hämoglobin- Konzentration konnte zu allen drei Messzeitpunkten keine signifikanten Korrelationen ermittelt werden.

#### c) Weitere Interaktionen von IL-8

Zu **Therapiebeginn** bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen IL-6 und IL-8. Patienten mit hohen IL-6-Serumkonzentrationen hatten signifikant häufiger hohe IL-8-Werte ( $p = 0,049$ ). Ebenfalls hatten Patienten mit einer IL-8 Konzentration unterhalb des Medians einen signifikanten Überlebensvorteil ( $p = 0,024$ ).

Zu **Therapiemitte** ließen sich signifikant häufiger IL-6 Konzentrationen oberhalb des Medians für Patienten mit hohen IL-8-Werten nachweisen ( $p = 0,021$ ). Weiterhin hatten diejenigen Patienten, die eine IL-8-Konzentration oberhalb des Medians besaßen, signifikant höhere IL-1 $\beta$ - oder MMP-9-Werte ( $p = 0,036$  für IL-1 $\beta$  und  $0,015$  für MMP-9).

Zu **Therapieende** bestand ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang zwischen IL-6- und IL-8. Patienten mit IL-8-Werten oberhalb des Medians hatten signifikant höhere IL-6-Werte ( $p = 0,02$ ). Die gleiche Korrelation bestand zwischen IL-8 und VEGF ( $p = 0,037$ ).

**Tab.23: Interaktionen von IL-8 für das Gesamtkollektiv** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

IL-8	CRP	VEGF	IL-1 $\beta$	MMP	IL-6	Prognose
Beginn	0,005 k	0,14	0,23	0,7	0,049	0,024 k
Mitte	0,01 k	0,2	0,036 k	0,015 k	0,021 k	0,78
Ende	0,016 k	0,037 k	0,74	0,41	0,02 k	0,68

#### d) Interaktionen von IL-8 getrennt nach Diagnosegruppen

##### Gynäkologische Tumore:

Am **Therapiebeginn** wurden 21 Patienten mit gynäkologischen Tumoren untersucht. Es zeigten sich signifikante Korrelationen zu IL-1 $\beta$  und zum CRP. Patientinnen mit hohen Konzentrationen an IL-8 hatten signifikant höhere Werte für IL-1 $\beta$  ( $p = 0,025$ ) und CRP ( $p = 0,046$ ). Ebenfalls hatten Patienten mit hohen IL-8-Serumkonzentrationen eine signifikant schlechtere Prognose hinsichtlich des Überlebens ( $p = 0,031$ ).

Zu **Therapiemitte** wurden 15 Patientinnen untersucht. Es konnten Signifikanzen hinsichtlich des CRP, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, MMP-9 und der Thrombozytenzahl eruiert werden. Die p-Werte betragen für TNF- $\alpha$  0,046, für IL-6 0,023 und für die Thrombozytenzahl 0,011. Patientinnen mit einem CRP-Wert oberhalb des Medians hatten signifikant höhere IL-8-Serumkonzentrationen ( $p = 0,033$ ), ebenso waren für Patientinnen mit einer IL-8-Serumkonzentration oberhalb des Medians signifikant höhere IL-1 $\beta$  ( $p = 0,011$ ) Werte und MMP-9 Konzentrationen ( $p = 0,043$ ) feststellbar.

Zu **Therapieende** wurden insgesamt 9 Fälle untersucht. Signifikanzen ergaben sich zu EPO, IL-1 $\beta$  und MMP-9. Patientinnen mit hohen IL-8-Serumkonzentrationen hatten signifikant niedrigere EPO-Werte ( $p = 0,041$ ) sowie signifikant höhere MMP-9 Werte ( $p = 0,043$ ) und IL-1 $\beta$ -Werte ( $p = 0,02$ ).

**Tab.24: Interaktionen von IL-8 für die gynäkologischen Tumore** (p-Werte angegeben; k = nur kategorial signifikant)

IL-8	CRP	TRCS	TNF	IL-1 $\beta$	EPO	MMP	IL-6	Prognose
Beginn	0,046	0,46	0,32	0,025	0,47	0,06	0,92	0,031
Mitte	0,033 k	0,011	0,046	0,011 k	0,75	0,043 k	0,023	0,56
Ende	0,2	0,074	0,81	0,02 k	0,041	0,043	0,75	0,22

##### Kopf-Hals-Tumore:

Insgesamt 28 Patienten mit HNO-Tumoren wurden zu **Therapiebeginn** ausgewertet. Ein signifikanter Zusammenhang konnte nur zu IL-6 ermittelt werden. Patienten mit hohen IL-8-Serumkonzentrationen hatten signifikant höhere IL-6 Werte ( $p=0,012$ ).

Zu **Therapiemitte** ( $n = 15$ ) hatten Patienten im Stadium IV signifikant häufiger IL-8 Serumkonzentrationen oberhalb des Medians ( $p = 0,024$ ).

Zu **Therapieende** ( $n = 9$ ) ergaben sich signifikante Korrelationen zu EPO und TNF- $\alpha$ .

Patienten mit IL-8-Werten unterhalb des Medians hatten höhere Konzentrationen für TNF- $\alpha$  ( $p = 0,021$ ), für Patienten mit hohen IL-8-Werten ergab sich eine Assoziation mit hohen EPO-Werten ( $p = 0,001$ ).

**Tab.25: Interaktionen von IL-8 für die Kopf-HalsTumore** (k = nur kategorial signifikant)

IL-8	EPO	TNF	IL-6	Stadium
Therapiebeg.	$p = 0,44$	$p = 0,41$	$p = 0,012$	$p = 0,45$
Therapiemitte	$p = 0,56$	$p = 0,52$	$p = 0,89$	$p = 0,024$ k
Therapieende	$p = 0,001$	$p = 0,021$ k	$p = 0,89$	$p = 0,51$



## **4. Diskussion**

### **4.1 Statistische Auswertung**

Die Validität der erhobenen Messwerte wurde durch jeweilige Doppelbestimmungen erhöht. Des Weiteren erfolgten Bestimmungen im Verlauf der Therapie zu drei Messzeitpunkten. Kritisch ist sicherlich die relativ geringe Anzahl an untersuchten Patienten zu sehen ( $n = 52$ ), dies macht sich dann vor allem bei den Subgruppenanalysen bemerkbar. Des Weiteren konnten zu Therapiemitte bzw. zu Therapieende nicht mehr von allen eingeschlossenen Patienten Daten erhoben werden. Die Nachkontrollen wurden durch das progrediente Tumorleiden der Patienten ebenfalls beeinträchtigt, einige konnten die Nachuntersuchungstermine nicht wahrnehmen, sodass die mediane Kontrollzeit nur bei 14 Monaten lag. Ebenso sind Beeinflussungen der Werte, insbesondere der Entzündungsparameter sowie der inflammatorischen Zytokine, durch Nebenwirkungen der Radiotherapie (z.B. Mukositis, Pharyngitis) wahrscheinlich. Bei der Interpretation der Hb-Konzentrationen ist zu berücksichtigen, dass die Werte in Therapiemitte und am Therapieende teilweise durch die Gabe von Erythrozytenkonzentraten beeinflusst wurden.

### **4.2 Erythropoetin**

Bei unserer Untersuchung zeigte sich ein Anstieg der Serumkonzentrationen von EPO sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für die Subgruppen von der Ausgangskonzentration zu Therapiebeginn bis zum Therapieende, so stieg der Median von 12,65 mlU/ml auf 15,6 mlU/ml, bezogen auf alle Patienten. Dies ist am ehesten auf die durch die kombinierte Radiochemotherapie evozierte Knochenmarksdepression und die damit ebenfalls assoziierte oder verstärkte Anämie zurückzuführen. Gleichwohl lagen die Meßwerte noch, wenn auch an der Obergrenze, im Normalbereich, der sich von 3,3-16,6 mlU/ml erstreckt. Die gynäkologischen Patienten hatten mit einem Medianwert von 16,5 mlU/ml bei Therapieende etwas höhere Konzentrationen als die Kopf-Hals-Tumore (14,8 mlU/ml). Deutlich pathologisch erhöhte Werte, wie in der Literatur häufig beschrieben (74), konnten nicht nachgewiesen werden, wobei sich jedoch die genannten Beispiele der Literatur auf andere Tumorentitäten beziehen (v. a. Nierenzellkarzinome). Acs et al. (2002) fanden bei schlecht differenzierten Mammakarzinomen mit hohen Anteilen an Nekrosezonen vor allem erhöhte Konzentrationen an EPO-Rezeptoren, jedoch nicht in erster Linie an EPO selbst.

Hinsichtlich signifikanter Korrelationen konnte zunächst der erwartete Zusammenhang zwischen EPO und Hämoglobin nachgewiesen werden, d. h. Patienten mit niedrigem Hb-Wert hatten höhere EPO-Konzentrationen im Serum. Ebenso fanden sich deutlich höhere Thrombozytenzahlen bei niedrigen EPO-Werten, dies traf für die Gruppe der gynäkologischen Patienten zu Therapieende ( $p = 0,039$ ) und für die Kopf-Hals-Tumoren zu Therapieanfang ( $p = 0,048$ ) zu und könnte als eine im Rahmen der Tumorerkrankung aufgetretene Anämie mit konsekutiver Thrombozytose zu werten sein. Es ist bekannt, dass eine erhöhte Thrombozytenzahl eine vermehrte Ausschüttung von VEGF zur Folge haben kann, da Thrombozyten als VEGF-Carrier fungieren.

Bei den übrigen Parametern zeigten sich Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Subgruppen. So ist bei den gynäkologischen Tumoren zu Therapiebeginn ein niedriger EPO-Wert mit einer erhöhten TNF- $\alpha$  Konzentration assoziiert (statistisch jedoch nicht signifikant), bei Therapieende zeigte sich ein ähnliches Verhältnis zu IL-8 ( $p = 0,041$ ). Am ehesten ist dies mit einer tumorassoziierten Anämie zu erklären, die ihrerseits eine erhöhte Produktion proinflammatorischer Zytokine zur Folge hat. Dunst et al. (2001) als auch Balkwill et al. (2001) beschrieben in der Literatur ähnliche Wirkungsmechanismen. Im Gegensatz dazu zeigten sich bei den Kopf-Hals-Tumoren für Patienten mit hohen EPO-Serumkonzentrationen hohe Spiegel für VEGF ( $p = 0,023$ ) und IL-8 ( $p = 0,001$ ). Eine mögliche Erklärung für den deutlichen signifikanten Zusammenhang zu IL-8 ist dessen Rolle bei der in-vivo-Angiogenese, ähnliche Beschreibungen des Zusammenhangs zwischen IL-8 und EPO liegen in der Literatur nicht vor.

### 4.3 VEGF

Kritisch zu sehen sind bei der Interpretation der vorliegenden VEGF-Serumkonzentrationen mögliche Ungenauigkeiten der Messungen. So ist bekannt, dass VEGF während der Serumgewinnung aus Thrombozyten freigesetzt wird und so zu Verfälschungen der Messergebnisse führen kann. Serum VEGF-Werte  $> 707$  pg/ml werden als pathologisch gewertet. Becker et al.(2002) wiesen in einem gesunden Kollektiv Serum-VEGF-Werte von 704,5 pg/ml nach. Mehrere Autoren berichten ebenso über pathologische VEGF-Serumkonzentrationen bei Kopf-Hals-Tumoren (7, 15, 73). In unserer Untersuchung lagen die Werte von 16 Patienten zu Therapiebeginn über der o. g. pathologischen Serumkonzentration, zu Therapiemitte betrug die Zahl 6 Patienten und am Therapieende drei Patienten. Die ermittelten Medianwerte befanden sich jedoch deutlich unter einem Wert von 707 pg/ml, nämlich zu Therapiebeginn bei 395,55 pg/ml, in Therapiemitte bei 294,8 pg/ml und am Therapieende bei 251,7 pg/ml. Damit ergaben sich ähnliche Werte wie De Schutter et al. (2005) für ihr Patientenkollektiv berichteten (Median von 329,6 pg/ml). Die Mittelwerte lagen dagegen deutlich darüber und erreichten zu Therapiebeginn in der Subgruppe der Kopf-Hals-Tumoren einen pathologischen Wert (766 pg/ml). Hieraus folgt eine erhebliche Streubreite der Meßwerte. Patienten mit hohen Serumkonzentrationen hatten eine signifikant schlechtere Prognose, wobei jedoch auf die eingeschränkte statistische Beurteilbarkeit (zu Therapieende nur drei Patienten mit VEGF-Konzentrationen über 707 pg/ml) hingewiesen werden muss. Zieht man bei der kategorialen Analyse den Medianwert heran, so ergibt sich ebenfalls eine signifikant schlechtere Prognose für VEGF-Konzentrationen oberhalb des Medians. Yamamoto et al.(1996) und Teknos et al.(2002) fanden ebenfalls eine Assoziation zwischen hoher VEGF-Expression und schlechter Prognose bzw. kürzerer Überlebenszeit, obwohl dies in der Literatur weiterhin strittig diskutiert wird (10,12,26,63). Der Verlauf der Serumkonzentrationen zeigte einen stetigen Rückgang von Therapiebeginn zu Therapieende, nur bei den Kopf-Hals-Tumoren war ein diskreter Anstieg zu Therapieende zu verzeichnen (von 218,35 pg/ml zu Therapiemitte auf 233,8 pg/ml zu Therapieende). Dirix et al.(1997) konnten dies ebenfalls eruieren, ein entscheidender Faktor ist hier möglicherweise die Aggressivität des Tumors bzw. die akzelerierte Repopulierung unter Radiotherapie. Bei der Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier zeigte sich jedoch keine bessere Prognose für die Patientengruppe mit posttherapeutischem VEGF-Rückgang, wengleich auch hier die statistische Auswertbarkeit bei einer Zahl von 12 Patienten deutlich limitiert ist. Der Rückgang der VEGF-Serumkonzentration legt den Rückschluss nahe, dass

durch die antitumorale Therapie und die damit einhergehende Tumorregression die VEGF-Konzentration abnimmt und die Tumorzellen als ein wichtiger Expressionsort von VEGF anzusehen sind. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit der Literatur (7, 40, 60). Gleichwohl ist hier zu betonen, dass in unserem untersuchten Kollektiv die Mehrzahl der Patienten, 34 zu Therapiebeginn, keine auffälligen VEGF-Serumkonzentrationen aufwiesen, d. h. möglicherweise spielt die Malignität der Tumorzelle eine entscheidende Rolle, wenn auch der Nachweis einer statistischen Signifikanz z. B. zum Tumorgrading nicht gelang. Die Malignität einer Tumorzelle spiegelt sich hier nicht nur im Grading wider, entscheidend sind möglicherweise genotypische Veränderungen mit Effekten auf die Proteinexpression (Zytokine). Ein Indiz dafür ist der oben erwähnte posttherapeutische VEGF-Anstieg bei HNO-Tumoren. Ebenso konnte eine von Wakisaka et al. (1999) berichtete Assoziation zwischen VEGF und dem Lymphknotenstatus im untersuchten Kollektiv nicht bestätigt werden.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Hb-Wert ( $p = 0,004$ ) und der VEGF-Expression zeigte sich auch in unserem Kollektiv (auch bei den Kopf-Hals-Tumoren), d.h. niedrige Hb-Konzentrationen zogen hohe VEGF-Serumkonzentrationen nach sich. In der Literatur wird dies u. a. mit einer Hochregulation von Hypoxie-Genen durch HIF-1 $\alpha$  erklärt (15, 21).

Auffällig war zudem, dass es eine Vielzahl von signifikanten Korrelationen zu Entzündungsparametern (CRP, Leukozyten) sowie proinflammatorischen Zytokinen (TNF- $\alpha$ , IL-6) gab. Dies galt wiederum für beide Tumorentitäten und insbesondere zu Therapiebeginn. In Übereinstimmung mit der Literatur konnte gezeigt werden, dass eine Thrombozytose sehr häufig mit einer hohen VEGF-Expression einhergeht und somit als ein wichtiges Glied in der Tumorangio-genese anzusehen ist (4, 59). Aufgrund der vielfältigen Assoziationen von VEGF mit Entzündungsparametern und proinflammatorischen Zytokinen ist von einer engen Wechselwirkung auszugehen, eine Ansicht, die von mehreren Autoren in der Literatur vertreten wird (2, 16) und die durch die vorliegende Ergebnisse gestützt wird.

#### 4.4 IFN- $\gamma$

IFN- $\gamma$  nimmt unter den hier untersuchten Zytokinen eine Sonderstellung ein, da es im Gegensatz zu den anderen, überwiegend antikanzerogene und antiangiogenetische Eigenschaften besitzt (40, 34). Daher wäre zu erwarten, dass hohe Serumkonzentrationen eine Verbesserung der Prognose bzw. der Tumorregression zur Folge haben. Es ist seit Jahren in der antiviralen und antitumoralen Therapie Bestandteil von Therapiealgorithmen. Ein Normalwertbereich ist in der Literatur nicht etabliert. Schaut man sich den Verlauf der Serumkonzentrationen sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für die beiden Subgruppen an, so waren während der Therapiephase keine großen Abweichungen eruiert, die Schwankungen lagen maximal bei 0,8 pg/ml, d. h., die antitumoröse Therapie hatte keinen wesentlichen Einfluss auf die IFN- $\gamma$ -Serumkonzentration.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung stützen im Wesentlichen die aus der Literatur bekannten antiangiogenetischen Eigenschaften von IFN- $\gamma$ . So zeigten sich, am ausgeprägtesten in der Gruppe der Gynäkologischen Tumoren, signifikant niedrigere Serumkonzentrationen der Zytokine VEGF ( $p = 0,024$ ), TNF- $\alpha$  ( $p < 0,001$ ) und MMP-9 ( $p = 0,009$ ) für Patienten mit hohen IFN- $\gamma$  Werten. Die engste Korrelation bestand zu TNF- $\alpha$ . Die untersuchten Entzündungsparameter (CRP, Leukozyten) waren ebenfalls signifikant erniedrigt, so dass sich auch hier eine enge Assoziation zwischen Angiogenese und Entzündung zeigte.

Im Gegensatz zu der Erwartung, dass aufgrund der o. g. Interaktionen hohe IFN- $\gamma$ -Serumkonzentrationen zu einem stable disease oder einer Tumorregredienz führen müssten, hatten Kopf-Hals-Patienten mit hohen IFN- $\gamma$  Werten zu Therapiebeginn und in Therapiemitte signifikant häufiger einen Tumorprogreß. Dies galt jedoch nicht für das Gesamtkollektiv und die gynäkologischen Tumoren, ebenso fanden sich keine Auswirkungen auf die weitere Prognose. Ursächlich hierfür ist am ehesten ein enges Netzwerk von Zytokininteraktionen. Des Weiteren spielen klinische Parameter wie Tumorgröße und Lymphknotenstatus eine Rolle.

Statistische Verzerrungen durch das verhältnismäßig kleine Patientenkollektiv sind ebenso nicht auszuschließen.

## 4.5 IL-1 $\beta$

Bei IL-1 $\beta$  handelt es sich um eines der Schlüsselzytokine zur Initiierung der Entzündungsreaktion, d.h., zu erwarten wäre eine hohe Serumkonzentration bei Tumorpatienten, eine enge Korrelation zu anderen proinflammatorischen Zytokinen sowie eine eventuell schlechtere Prognose für Patienten mit hohen IL-1 $\beta$ -Werten.

Ein Normalwertbereich ist in der Literatur nicht definiert. In unserem Patientenkollektiv lagen die ermittelten Konzentrationen von IL-1 $\beta$  in einem Bereich von 0,9 pg/ml bis 1,6 pg/ml. Zu Therapieende waren dabei die Serumkonzentrationen um durchschnittlich 0,43 pg/ml geringer als zu Therapiebeginn, die Abnahme war in der Gruppe der gynäkologischen Tumoren hier mit 0,7 pg/ml überproportional größer. Insgesamt waren die Änderungen im Vergleich zu anderen Zytokinen jedoch vergleichsweise gering und von den absoluten Werten her betrachtet auf niedrigem Niveau. Vergleichswerte finden sich in der Literatur nicht, Nollert et al. (1999) untersuchten zwar bei 50 Patienten mit Kopf-Hals-Tumoren die Konzentrationsverläufe mehrerer Zytokine, darunter IL-1, im Blut, fanden jedoch für IL-1 keine eindeutige systematische Tendenz.

Aus der Literatur ist bekannt, dass IL-1 oft mit dem Auftreten anderer Zytokine wie TNF- $\alpha$  und IL-6 assoziiert ist (2, 6). Mäuse, die kein IL-1 $\beta$  produzierten, waren resistent gegenüber der Entwicklung von Metastasen (78). Andere Autoren (3, 17) wiesen in ihren Arbeiten für Patienten mit Magen- bzw. Pankreaskarzinomen und gleichzeitig hohen IL-1 $\beta$ -Konzentrationen ein signifikant schnelleres Tumorwachstum bzw. schlechtere Prognose nach. Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigten ebenfalls enge Beziehungen zwischen IL-1 $\beta$  und proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- $\alpha$  ( $p = 0,012$ ) und IL-6 ( $p = 0,049$ ) sowie zum CRP ( $p = 0,009$ ) und dies zu allen drei Messzeitpunkten. Bei der kategorialen Analyse zu Therapiemitte fand sich eine Korrelation zu IL-8. In Übereinstimmung mit der Literatur hatten diejenigen Patienten in unserem Kollektiv, bei denen zu Therapieende eine IL-1 $\beta$ -Serumkonzentration oberhalb des Medians nachweisbar war, eine signifikant schlechtere Prognose ( $p = 0,019$ ).

Bei der Subgruppenanalyse stellten sich die Ergebnisse ähnlich dar. Die engsten Korrelationen bestanden, für beide Tumorentitäten, zwischen IL-1 $\beta$  einerseits sowie TNF- $\alpha$  und CRP andererseits. Die Gynäkologischen Tumoren hatten dabei statistisch tendenziell kohärentere Ergebnisse, weiterhin traten zusätzlich Signifikanzen zu weiteren Parametern wie MMP-9 und VEGF auf. Interessant und schlüssig zu den o. g. Ergebnissen war eine hohe EPO-Serumkonzentration mit niedrigen IL-1 $\beta$ -Werten vergesellschaftet. Dies galt zu

Therapiebeginn für die gynäkologischen Tumoren und zu Therapieende, bei der kategorialen Analyse, für die Kopf-Hals-Tumoren.

#### 4.6 TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$  spielt als ein entscheidender Mediator der Entzündungsreaktion eine zentrale Rolle bei vielen Gewebeumbauprozessen. Ein Normalwertebereich findet sich in der Literatur nicht. In den berichteten Untersuchungen waren die meisten Serumkonzentrationen jedoch unter 15 pg/ml. In unserem Patientenkollektiv lagen die ermittelten Serumkonzentrationen bei einem Median von 7,0 pg/ml zu Therapiebeginn und von 5,2 pg/ml zu Therapieende. Die Serumkonzentrationen der gynäkologischen Tumoren lagen dabei durchschnittlich um 0,5 pg/ml über denen der Kopf-Hals-Tumoren. Weiterhin war eine deutliche Abnahme der Serumkonzentration unter der Therapie feststellbar, dies galt sowohl für das Gesamtkollektiv als auch für die beiden Subgruppen, d. h., wahrscheinlich war die Abnahme der Tumorzellmasse bzw. der Tumorzellzahl hierfür ein wesentlicher Faktor bzw., anders ausgedrückt, bestand eine wechselseitige Beeinflussung von TNF- $\alpha$  und Tumorzelle. In der Literatur wird ebenfalls eine enge Beziehung zwischen TNF- $\alpha$  und dem Tumormikromilieu berichtet, d. h., TNF- $\alpha$  kann durch seine vielfältigen Funktionen Voraussetzungen schaffen, die es dem Tumor erleichtern zu proliferieren und zu metastasieren (48). Zu erwähnen ist hier die Stimulierung der Produktion von u-PA, die Niedbala et al. (1991) in vitro zeigen konnten. Harimaya et al. (2000) fanden zudem eine erhöhte Expression von MMP-9 bei Osteosarkomzellen, die mit TNF- $\alpha$  behandelt wurden. Eine entscheidende Rolle spielt dabei die Konzentration von TNF- $\alpha$  (18, 39, 40). Konzentrationen von TNF- $\alpha$  im Mikrogrammbereich lösen eher antiangiogenetische Effekte aus, während Werte im Nanogrammbereich, die im Gewebe vorgefunden werden, die proangiogenetischen Effekte unterstützen (u. a. Induktion von VEGF).

Die Ergebnisse unserer Untersuchung bestätigen im Wesentlichen die in der Literatur dargestellten Interaktionen von TNF- $\alpha$ . So fanden wir enge Beziehungen zu CRP, VEGF, IL-1 $\beta$ , MMP-9 und der Leukozytenzahl, d. h., hohe TNF- $\alpha$ -Konzentrationen zogen hohe Konzentrationen dieser Parameter nach sich und umgekehrt. Gegenläufige Korrelationen ergaben sich zu IFN- $\gamma$  und der Hb-Konzentration. Patienten mit niedrigen Hb-Konzentrationen hatten signifikant höhere Konzentrationen an TNF- $\alpha$  im Serum. Diese Beobachtung deckt sich mit Angaben aus der Literatur, dass Hypoxie ein starker Induktor für verschiedene proinflammatorische Zytokine ist (2, 36). Ebenso fand sich in unserem

Patientenkollektiv ein signifikante Korrelation zum Tumorgrading. Undifferenzierte Tumoren hatten signifikant höhere TNF- $\alpha$ -Konzentrationen, wobei dieser Zusammenhang nur für das Gesamtkollektiv sowie die gynäkologischen Tumoren galt. Naylor et al. (1993) fanden dies ebenfalls bei Ovarialtumoren. Patienten mit Adenokarzinomen hatten gegenüber der Gruppe der Patienten mit Plattenepithelkarzinomen höhere TNF- $\alpha$ -Serumkonzentrationen. Auffällig in unserer Untersuchung war weiterhin, dass die signifikanten Interaktionen am Ende der Behandlung deutlich abgenommen hatten, was für einen therapieinduzierten Rückgang der für das Tumormikromilieu entscheidenden Zytokine spricht und auch als indirekter Hinweis für die engen wechselseitigen Beziehungen zwischen TNF- $\alpha$  und dem Tumor zu werten ist.

Bei der Subgruppenanalyse war neben den bereits oben erwähnten höheren Serumkonzentrationen von TNF- $\alpha$  bei den gynäkologischen Tumoren ebenso eine engere Verflechtung von TNF- $\alpha$  und den Entzündungsmediatoren bzw. proinflammatorischen Zytokinen auffällig. So konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen TNF- $\alpha$  und VEGF, MMP-9, den Leukozyten und dem Hb-Wert nur für die gynäkologischen Tumoren ermittelt werden. Des Weiteren hatten Patientinnen mit hohen TNF- $\alpha$ -Werten zu Therapiebeginn eine signifikant schlechtere Prognose. Bestanden hohe Serumkonzentrationen am Therapieende, so war in der Nachbeobachtungszeit häufiger ein Tumorprogress feststellbar. In der Literatur fanden Malik et al. (1990) bei Untersuchungen mit Nacktmäusen häufiger Metastasen bei TNF- $\alpha$ -produzierenden Zellen.

#### **4.7 MMP-9**

MMP-9 spielt als ein wichtiger Vertreter der Matrixmetalloproteinasen in der Reihe der Zytokine eine Sonderrolle, da es sich um kein Zytokin im klassischen Sinn handelt. Es handelt sich hier um Proteinase, die durch Destruktion der Basalmembran bzw. der umgebenden Matrix die Metastasierung und auch die Angiogenese der Tumorzelle fördern bzw. überhaupt erst ermöglichen. Angaben über Normalwerte der Serumkonzentration existieren in der Literatur nicht. In unserem Kollektiv lagen die Serumkonzentrationen zu Therapiebeginn bei einem Medianwert von 6,4 ng/ml, bei Therapieende bei 3,05 ng/ml. Wesentliche Unterschiede zwischen gynäkologischen- und Kopf-Hals-Tumoren ergaben sich nicht, der Konzentrationsabfall war bei den gynäkologischen Tumoren jedoch steiler, d. h., die Serumkonzentrationen, die zu Therapieende ermittelt wurden, waren schon zu Therapiemitte ungefähr erreicht. Die von uns bestimmten Serumkonzentrationen liegen damit deutlich unter dem in der Literatur angegebenen Wert von 50-110 ng/ml, der bei einer oralen



Gabe des MMP-Inhibitors Marimastat resultiert (69). In unserem Patientenkollektiv zeigten sich enge Korrelationen zu Entzündungsparametern (CRP, Leukozytenzahl) und zu den proinflammatorischen Zytokinen VEGF und TNF- $\alpha$  sowie, bei der kategorialen Analyse, zu IL-6 und IL-8. Hohe Konzentrationen dieser Parameter zogen hohe MMP-9-Serumkonzentrationen nach sich. Signifikanzen hinsichtlich des Gradings bzw. der Metastasierung ergaben sich nicht, dies betrifft auch, für das Gesamtkollektiv betrachtet, die Prognose. Insofern konnten wir Ergebnisse in der Literatur, die eine erhöhte Metastasierungs- bzw. Malignisierungsrate bei hoher MMP-Expression beschreiben, nicht bestätigen (5, 24, 65). Ebenso kann aufgrund dieser Ergebnisse nicht beurteilt werden, ob sich MMP-9 vielleicht als prädiktiver Marker für ein höheres Risiko einer Metastasierung bzw. eines Tumorrezidivs eignet, wie es in der Literatur zu finden ist (55). Gohji et al.(1996) beschreiben einen ähnlichen Zusammenhang für die Rezidivneigung von Blasenkarzinomen. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen MMP-9 und dem Hb war dagegen eruiert, Patienten mit niedrigen Hb-Werten hatten höhere MMP-9-Serumspiegel. Kondo et al. (2002) konnten bei der Mamma-Ca-Zelllinie MDA 231 in vitro unter hypoxischen Bedingungen die Expression von MMP-9 induzieren, d.h. Hypoxie scheint die Expression von MMP-9 zu unterstützen und damit das Risiko einer Metastasierung eventuell zu erhöhen.

Bei der Subgruppenanalyse zeigten sich im Wesentlichen ähnliche Zusammenhänge wie für das Gesamtkollektiv oben beschrieben, für die Gruppe der gynäkologischen Tumoren jedoch noch ausgeprägter. So fanden sich hier bei der kategorialen Analyse zusätzlich noch Signifikanzen zu IL-6 und IL-8. Patientinnen, die hohe MMP-9 Serumkonzentrationen zu Therapiemitte aufwiesen, hatten eine signifikant schlechtere Prognose. Ein in der Literatur speziell für Nasopharynxkarzinome beschriebenes erhöhtes Metastasierungspotential bei hoher MMP-9 Expression (31, 86), konnte in unserem Kollektiv bei nur zwei untersuchten Nasopharynxkarzinomen nicht nachgewiesen werden.

Es spiegelt sich bei unseren Ergebnissen die derzeitige Ambivalenz der Datenlage in der Literatur wider, zum einen besteht eine enge Verbindung zwischen MMP-9 und Entzündungsparametern, Anämie und proinflammatorischen bzw. proangiogenetischen Zytokinen und zum anderen das Fehlen von Korrelationen hinsichtlich einer Metastasierung bzw. der Prognose. So gibt es mehrere Arbeiten in der Literatur, die keinen prognostischen Benefit für die Therapie mit einem MMPI beschreiben (49, 66, 68, 69).

## 4.8 IL-6

IL-6 ist ein entscheidender Mediator der sogenannten „Akute-Phase-Reaktion“ und insofern eng in Vorgänge und Interaktionen des Tumormikromilieus eingebunden. Normalwerte sind in der Literatur nicht angegeben. Bei der Betrachtung unserer Ergebnisse fällt auf, dass es zum Teil erhebliche Differenzen zwischen den ermittelten Medianwerten und den Mittelwerten gibt, d. h., es existierte eine große Streuung der Werte, was sich auch an den Standardabweichungen erkennen lässt. Ebenso war im Gegensatz zu den meisten anderen Zytokinen im Therapieverlauf eine Zunahme der Serumkonzentration aufzeigbar. Für das Gesamtkollektiv betrug der Medianwert am Therapiebeginn 5,43 pg/ml und am Therapieende 14,2 pg/ml. Auffällig waren auch die Unterschiede zwischen gynäkologischen- und Kopf-Hals-Tumoren. Während die medianen Serumkonzentrationen bei den gynäkologischen Tumoren auf einem deutlich niedrigeren Niveau konstant blieben (4,9 pg/ml), so stiegen sie in der Gruppe der Kopf-Hals-Tumoren von einem Wert von 5,58 pg/ml am Therapiebeginn auf 28 pg/ml am Therapieende an. Nollert et al. (1999) berichten ebenfalls über einen Anstieg des IL-6-Serumspiegels unter Radiochemotherapie bei Kopf-Hals-Tumorpatienten und führen dies auf eine Immunsuppression mit konsekutiver Lymphozytopenie und reaktiver Hochregulation der von Monozyten und Makrophagen induzierten Zytokine, wie IL-6 zurück. Hong et al. (2001) zeigten ebenfalls eine erhöhte Expression von IL-6 bei Kaposisarkomzelllinien unter Radiotherapie. Mehrere Arbeiten in der Literatur zeigen zudem die Bedeutung von IL-6 für Tumoren im Kopf-Hals-Bereich: Chen et al. (7) berichten dies, St John et al. (2004) erwähnen IL-6 als einen potentiellen Biomarker für Oropharynxkarzinome für wichtige klinische Größen wie Tumorgöße und die Entwicklung von Metastasen.

In unserer Untersuchung zeigten sich enge Korrelationen zwischen IL-6 und dem Entzündungsparameter CRP, dies galt durchgehend für alle drei Messzeitpunkte und bestätigt dessen enge Assoziation zur akuten Entzündungsreaktion (evoziert durch den Tumor) wie in der Literatur beschrieben. Aufbauend darauf bestanden signifikante Korrelationen zu weiteren proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 $\beta$ , TNF und IL-8. Balkwill et al. (2001) beschreiben dies sehr detailliert, insbesondere für hämatologische maligne Erkrankungen wie beim Multiplen Myelom. Tricot et al. (2000) zeigten darüber hinaus eine IL-6 induzierte Therapieresistenz beim Multiplen Myelom. Der in der Literatur ebenfalls dargestellte Zusammenhang zwischen Hypoxie und der Induktion von IL-6 über NF $\kappa$ B (36, 50) konnte in unserem Patientenkollektiv nicht eindeutig bestätigt werden. Lediglich für die gynäkologischen Tumoren zeigte sich ein solcher Zusammenhang zu Therapiebeginn, jedoch

auch ein gegensätzlicher zu Therapieende, so dass hier keine eindeutige Interpretation möglich ist.

Ein wichtiges Ergebnis war die signifikant bessere Prognose für Patienten mit niedrigeren IL-6-Serumspiegeln zu Therapiebeginn und zu Therapiemitte, die die Daten der Literatur bestätigen. Zitieren lässt sich hier eine Vielzahl von Arbeiten, die hohe Serumkonzentrationen von IL-6 mit einer schlechteren Prognose assoziieren (8, 46, 70) bzw. Untersuchungen, die eine Radioresistenz durch IL-6 aufzeigen (47, 72).

Bei der Subgruppenanalyse konnte, wie bereits oben erwähnt, am Therapieende eine signifikant höhere IL-6-Serumkonzentration für Kopf-Hals-Tumore gezeigt werden. In Übereinstimmung damit hatten Kopf-Hals-Patienten mit hohen IL-6-Serumspiegeln signifikant häufiger einen Tumorprogress im weiteren Verlauf. De Schutter et al. (2005) zeigten in ihrer Untersuchung eine Radioresistenz für Kopf-Hals-Tumoren mit hohen IL-6-Serumspiegeln und eine damit einhergehende schlechtere Prognose. Dies konnte in unserem Patientenkollektiv bestätigt werden, wobei bei der Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier lediglich ein tendenziell geringeres Gesamtüberleben ermittelt werden konnte.

In der Gruppe der gynäkologischen Tumoren bestand neben der bereits oben erwähnten weitgehenden Konstanz der IL-6-Serumkonzentrationen über den Therapieverlauf eine Vielzahl von signifikanten Korrelationen zu Therapiemitte, die im Wesentlichen die enge Assoziation von IL-6 zu den Entzündungsparametern und den proinflammatorischen Zytokinen bestätigt.

#### **4.9 IL-8**

Auch IL-8 gehört wie IL-6 zu den proinflammatorischen Zytokinen. Ein Normalwertbereich existiert in der Literatur ebenfalls nicht. In unserem Patientenkollektiv lagen die ermittelten medianen Serumkonzentrationen von IL-8 zu Therapiebeginn bei 14 pg/ml und am Therapieende bei 13,55 pg/ml, d. h., große Veränderungen während der Radiotherapie waren nicht feststellbar. Dies galt auch für die gynäkologischen Tumoren. Bei den Kopf-Hals-Tumoren kam es, von einer medianen Ausgangskonzentration von 15,55 pg/ml ausgehend, zunächst zu einer Zunahme des Serumspiegels auf 20,65 pg/ml, der Wert am Therapieende lag mit 18,2 pg/ml immer noch über dem Ausgangswert. Eine Abnahme des IL-8-Spiegels, wie von Nollert et al. (1999) unter einer Radiochemotherapie beschrieben, war in unserer Untersuchung nicht feststellbar. Wie schon für IL-6 beschrieben lagen die Mittelwerte teilweise deutlich über den medianen Serumkonzentrationen bei ebenfalls großen

Standardabweichungen, sodass auch hier die Streubreite sehr groß war.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse zeigen sich im Wesentlichen zwei Kernpunkte: Zum einen finden sich für IL-8 enge Korrelationen zum CRP sowie zu anderen proinflammatorischen Zytokinen wie IL-6 und IL-1 $\beta$ , zum anderen bestand für Patienten mit hohen IL-8-Serumspiegeln zu Therapiebeginn eine signifikant schlechtere Prognose. In der Literatur wird in diesem Zusammenhang über verschiedene Tumorentitäten berichtet, bei denen IL-8 das Tumorwachstum bzw. das Metastasierungspotential erhöht. Balkwill (2001) et al. berichten dies für Pankreastumoren, Hanghnegahdar (2000) et al. für Melanomzellen. Die Induzierbarkeit durch hypoxische Verhältnisse kann in unseren Ergebnissen insoweit nicht nachvollzogen werden, da es keinen signifikanten Zusammenhang zum Hb-Wert gab. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass der Hb-Wert alleine keinen Aufschluss über das Tumormikromilieu gibt und daher trotz einer normalen Hb-Konzentration durchaus eine lokale Tumorphoxie bestehen kann.

Bei der Subgruppenanalyse zeigten sich für die Gruppe der gynäkologischen Tumore die schon für das Gesamtkollektiv beschriebenen Kernpunkte, eine signifikant schlechtere Überlebensrate bestand für Patientinnen mit hohen IL-8-Serumkonzentrationen zu Therapiebeginn.

Bei den Kopf-Hals-Tumoren zeigten sich deutlich weniger Interaktionen, insbesondere auch nicht hinsichtlich der Prognose. Der von St John (2004) et al. berichtete erhöhte Expression von IL-6 und IL-8 bei Oropharynxkarzinomen zeigte sich auch in unserem Patientenkollektiv, Rückschlüsse von der IL-8-Serumkonzentration auf das biologische Verhalten der Tumore (wie zum Beispiel die Metastasierung) können anhand der von uns erhobenen Daten jedoch nicht gemacht werden.

## 5. Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Bei der vorliegenden Arbeit sollten die vielschichtigen und komplizierten Interaktionen von Zytokinen sowie deren Einfluss auf die Progression und Metastasierung von malignen Tumoren anhand von gynäkologischen und Kopf-Hals-Tumoren untersucht werden. Ein Schwerpunkt lag dabei auf den Wechselwirkungen zu inflammatorischen Parametern, wie dem CRP, und zu Anämieparametern, wie dem Hämoglobin. Ausgewertet wurde insbesondere auch die Expression der unterschiedlichen Zytokine und deren möglicher Einfluss auf die Prognose des Patienten.

Fasst man die erhobenen Daten und die ermittelten signifikanten Korrelationen zusammen, so ergeben sich **drei Kernaussagen**:

- 1.) Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen proinflammatorischen Zytokinen und Entzündungsparametern (eine Schlüsselrolle spielte hier das CRP)
- 2.) Die Expression verschiedener Zytokine kann durch Hypoxie induziert werden und
- 3.) Es bestehen enge Interaktionen bzw. Korrelationen der Zytokine untereinander.

### 5.1 Entzündungsparameter und Zytokine

Als ein Schlüsselparameter stellte sich in unserer Arbeit das CRP dar. Es ergaben sich nahezu zu allen untersuchten Zytokinen signifikante Korrelationen, d. h., hohe CRP-Serumkonzentration waren mit einem „pathologischen Zytokinprofil“ verbunden. Als einzigem signifikanten Parameter sowohl in der multivariaten Analyse (Cox-Regression) als auch in der Überlebensanalyse nach Kaplan-Meier konnte für Patienten mit einem niedrigen CRP-Wert zu Therapiebeginn ein Überlebensvorteil nachgewiesen werden. Der in der Literatur häufig beschriebene enge Zusammenhang zwischen Inflammation und maligner Progression bzw. dem Tumormikromilieu wird durch die Untersuchungsergebnisse gestützt, wenngleich kein unmittelbarer Schluß von Zytokinkonzentrationen im Serum auf das Tumormikromilieu gezogen werden kann. Von besonderem Gewicht scheinen dabei die prätherapeutischen Serumkonzentrationen zu sein, insbesondere die der proinflammatorischen und proangiogenetischen Zytokine, wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , VEGF, IL-6 und IL-8.

## 5.2 Hypoxie und Zytokine

Die Ergebnisse unseres Patientenkollektivs zeigen ebenfalls eine Verbindung von Hypoxie und der Expressionshöhe von VEGF, TNF- $\alpha$ , IL-6 und MMP-9, d. h., hypoxische Verhältnisse im Wirtsorganismus des Tumors tragen zu einer Induktion von Zytokinen bei, mit allen sich daraus eventuell ergebenden negativen Einflüssen. Für VEGF im Besonderen konnte ein negativer prognostischer Einfluss nach Kaplan-Meier nachgewiesen werden. Inwiefern autonome Prozesse im Tumor selbst zur Hypoxie beitragen bzw. durch niedrigere Hämoglobin-Serumkonzentrationen im Wirtsorganismus signifikant verstärkt werden, kann durch unsere Arbeit nicht hinreichend beantwortet werden, eine Relevanz der Hämoglobin-Serumkonzentration erscheint jedoch sehr wahrscheinlich.

## 5.3 Interaktionen der Zytokine

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten enge Verbindungen der Zytokine untereinander. So waren hohe Serumkonzentrationen der proinflammatorischen Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-8 miteinander assoziiert. Diese zogen dann konsekutiv hohe Werte für MMP-9 und VEGF nach sich, die einen Kausalzusammenhang nahe legen. Es scheint also ein durch den Tumor induziertes bzw. gefördertes „pathologisches Zytokinprofil“ zu existieren, welches durch Entzündungsmediatoren, wie das CRP und durch hypoxische Verhältnisse im Wirtsorganismus verstärkt werden kann. Wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Tumorentitäten waren nicht zu eruieren, für die gynäkologischen Tumore existierten jedoch tendenziell engere Korrelationen für die o. g. Interaktionen.

Hinsichtlich einer Verwertbarkeit unserer Ergebnisse als prädiktive Marker für den Verlauf einer Tumorerkrankung sowie zur Risikoabschätzung, z. B. für eine Metastasierung, lassen sich nur eingeschränkte Aussagen treffen. TNF- $\alpha$  und IL-6 (hier allerdings nur für die Gynäkologischen Tumore) korrelierten mit einer signifikant häufigeren Tumorprogression bzw. Metastasierung, für andere, wie MMP-9, ließ sich dies jedoch nicht nachweisen. Prognostische Relevanz besaßen in unserer Untersuchung neben dem CRP nur VEGF und IL-6 bzw. IL-8. Die Ergebnisse können als ein Hinweis auf eine schlechtere Prognose für Patienten mit o.g. „pathologischem Zytokinprofil“ gewertet werden. Weitere Untersuchungen sind hier jedoch noch notwendig, unser Patientenkollektiv war, um genauere Aussagen zu treffen, zu klein.

## **5.4 Schlussfolgerung**

Für die Tumorthherapie ergeben sich aus den Ergebnissen unserer Arbeit sowie denen der Literatur verschiedene Konsequenzen: Die Entwicklung eines Tumors ist ein äußerst komplexer Prozess, an der verschiedene Zytokine und Mediatoren einen nicht unwesentlichen Anteil haben. Diese bedingen und beeinflussen sich gegenseitig, sodass eine multimodale Therapie, die an verschiedenen Stellen der malignen Progression angreift, am erfolgversprechendsten erscheint. Die negativen Ergebnisse innerhalb von Studien für die Therapie mit Metalloproteinaseinhibitoren zeigen die Komplexität dieser biologischen Vorgänge und die Notwendigkeit multimodaler Therapieansätze. Viele derzeitig zugelassene Therapien, z. B. mit VEGF-Inhibitoren, werden in metastasierten Stadien eingesetzt, die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten auf einen möglicherweise sinnvollen Einsatz in der primären Therapie in Kombination mit den klassischen Säulen der Tumorthherapie wie Radio- und Chemotherapie bzw. Operation hin. Ein Hämoglobin-Ausgleich bei Anämie im Sinne einer Adjuvanz der Tumorthherapie erscheint ebenfalls notwendig.

Weitere Grundlagenforschung und klinische Forschung ist auf diesem Gebiet erforderlich und sinnvoll.

## 6. Literaturverzeichnis

- 1 Acs G, Zhang PJ, Rebbeck TR, Acs P, Verma A: Immunohistochemical expression of erythropoetin and erythropoetin receptor in breast carcinoma. *Cancer* 95 (5) (2002) 969-981
- 2 Balkwill F, Mantovani A: Inflammation and cancer: back to Virchow? *The Lancet* 357 (2001) 539-545
- 3 Barber MD, Powell JJ, Lynch SF, Fearon KCH, Ross JA: A polymorphism of the interleukin-1 $\beta$  gene influences survival in pancreatic cancer. *Br J Cancer* 83 (2000) 1443-1447
- 4 Becker H: Klinische Wertigkeit von Serum-VEGF-Bestimmungen bei Tumorpatienten. *Med Dissertation* (2002)
- 5 Benassi MS, Gamberi G, Magagnoli G, Molendini L, Ragazzini P, Merli M, Chiesa F, Ballardelli A, Manfrini M, Bertoni F, Mercuri M, Picci P: Metalloproteinase expression and prognosis in soft tissue sarcomas. *Ann Oncol* 12 (2001) 75-80
- 6 Burke F, Relf M, Negus R, Balkwill F: A cytokine profile of normal and malignant ovary. *Cytokine* 8 (1996) 578-585
- 7 Chen Z, Malhotra PS, Thomas GR, Ondrey FG, Duffey DC, Smith CW: Expression of proinflammatory and proangiogenic cytokines in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 5 (1999) 1369-1379
- 8 Chung YC, Chang YF: Serum interleukin-6 levels reflect the disease status of colorectal cancer. *J Surg Oncol* 83 (2003) 222-226
- 9 Crawford HC, Matrisian LM: Tumor and stromal expression of matrix metalloproteinases and their role in tumor progression. *Invasion metastasis* 14 (1994) 234-245
- 10 De Schutter H, Landuyt W, Verbeken E, Goethals L, Hermans R, Nuyts S: The prognostic value of the hypoxia markers CA IX and GLUT-1 and the cytokines VEGF and IL-6 in head and neck squamous cell carcinoma treated by radiotherapy +/- chemotherapy. Department of radiation oncology, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium (2005)
- 11 Dempke W, Schmoll HJ: Mögliche neue Indikationen für die Therapie mit Erythropoetin. *Med Klin* 15 (2001) 467-474
- 12 Dietz A, Rudat V, Vanselow B, Conradt C, Mohler T: Predictive value of serum levels of fibroblast growth factor, vascular endothelial growth factor and



- matrixmetalloproteinase-2 in advanced carcinomas of the head and neck. *HNO* 47 (1999) 695-701
- 13 Dinarello CA : *Eur Cytokine Netw* 5 (1994) 517
  - 14 Dirix LY, Vermeulen PB, Pawinski A, Prove A, Benoy I, De Pooter C, Martin M, Van Oosterom AT: Elevated levels of the angiogenic cytokines basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in the sera of cancer patients. *Br J Cancer* 76 (1997) 238-243
  - 15 Dunst J, Stadler P, Becker A, Kuhnt T, Lautenschläger C, Molls M: Tumor hypoxia and systemic levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in head and neck cancer. *Strahlenther Onkol* 177 (2001) 469-473
  - 16 Dvorak HF: Tumors: wounds that do not heal. *N Engl J Med* 315 (1986) 1650-1659
  - 17 EL-Omar EM, Carrington M, Chow WH: Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 404 (2000) 398-402
  - 18 Fajardo LF, Kwan HH, Kowalski J, Prionas SD, Allison AC: Dual role tumor necrosis factor alpha in angiogenesis. *Am J Pathol* 140 (1992) 539-544
  - 19 Ferrara N, Houck K, Jakeman L, Leung DW: Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocr Rev* 13 (1992) 18-32
  - 20 Folkman J : What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 82 (1990) 4-6
  - 21 Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD et al.: Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 16 (1996) 4604-4613
  - 22 Glaser CM, Millesi W, Kornek GV, Lang S, Schull B, Watzinger F, Selzer E, Lavey RS: Impact of hemoglobin level and use of recombinant erythropoetin on efficacy of preoperative chemoradiation therapy for squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 50 (2001) 705-715
  - 23 Gohji K, Fujimoto N, Fuji A, Komiyama T, Okawa J, Naknjima M: Prognostic significance of circulating matrix metalloproteinase-2 to tissue inhibitor of metalloproteinases-2 ratio in recurrence of urothelial cancer after complete resection. *Cancer Res* 56 (1996) 3196-3198
  - 24 Gong YL, Xu GM, Huang WD, Chen LB: Expression of matrix metalloproteinases and their local invasiveness and metastasis in chinese human pancreatic cancer. *J Surg Oncol* 73 (2000) 95-99

- 25 Gottlob P, Steinert M, Bahren W, Weber L, Gerngross H, Peter RU: Interferon-gamma in 5 patients with cutaneous radiation syndrome after radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 50 (2001) 156-166
- 26 Grander D: How do mutated oncogenes and tumor suppressor genes cause cancer? *Med Oncol* 15 (1998) 20-26
- 27 Harimaya K, Tanaka K, Matsumoto Y, Sato H, Matsuda S, Iwamoto Y: Antioxidants inhibit TNF- $\alpha$  induced motility and invasion fo human osteosarcoma cells: possible involvement of NF-kappaB activation. *Clin Exp Metastasis* 18 (2000) 121-129
- 28 Hanghnegahdar H, Du J, Wang Z: The tumorigenic and angiogenic effects of MGSSA/GRO proteins in melanoma. *J Leukoc Biol* 67 (2000) 53-62
- 29 Holmgren L, O`Reilly M, Folkman J. Dormancy of micrometastases: Balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat Med* 1 (1995) 149-153
- 30 Hong A, Zhang M, Leigh B, Stevens G: Induction of interleukin-6 and oncostatin M by radiation in Kaposi`s sarcoma cell lines. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 50 (2001) 533-540
- 31 Horikawa T, Yoshizaki T, Sheen TS, Lee SY, Furukawa M: Association of latent membrane protein1 and matrix metalloproteinasis 9 with metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer* 89 (2000) 715-723
- 32 Ijzermans JM, Marquet RL: *Immunobiol* 179 (1989) 456
- 33 Jee SH, Shen SC, Chiu HC, Tsai WL, Kuo ML: Overexpression of interleukin-6 in human basal cell carcinoma cell lines increases anti-apoptotic activity and tumorigenic potency. *Oncogene* 20 (2001) 198-208
- 34 Klagsbrun M, D`Amore PA: Regulators of angiogenesis. *Annu Rev Physiol* 53 (1991) 217-239
- 35 Kondo S, Kubota S, Shimo T, Nishida T, Yosimichi G, Eguchi T, Sugahara T, Takigawa M: Connective tissue growth factor increased by hypoxia may initiate angiogenesis in collaboration with matrix metalloproteinases. *Carcinogenesis* 23 (2002) 769-776
- 36 Koong AC, Denko NC, Hudson KM et al.: Candidate genes for hypoxic tumor phenotype. *Cancer Res* 60 (2000) 883-887
- 37 Kupisz K, Chibowski D, Klatka J, Klonowski S, Stepulak A: Tumor angiogenesis in patients with laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 256 (1999) 303-305

- 38 Langman MJ, Cheng KK, Gilman EA, Lancashire RJ: Effect of antiinflammatory drugs on overall risk of common cancer: case-control study in general practise research database. *BMJ* 320 (2000) 1642-1646
- 39 Lejeune FJ, Ruegg C, Lienard D: Clinical applications of TNF- $\alpha$  in cancer. *Curr Opin Immunol* 10 (1998) 573-580
- 40 Leek RD, Harris AL, Lewis CE: Cytokine networks in solid human tumors: Regulation of angiogenesis. *J Leuk Biol* 56 (1994) 423-435
- 41 Liotta LA, Stetler-Stevenson WG: Tumor invasion and metastasis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cancer Res* 51 (1991) 5054-5059
- 42 Loppnow H: Zytokine: Klassifikation, Rezeptoren, Wirkungsmechanismen. *Der Internist* 42 (2001) 13-27
- 43 Lorenzen J, Lewis CE, Mc Cracken D, Horak E, Greenall M, Mc Gee JO'D: Human tumor-associated NK cells secrete amounts of IFN- $\gamma$  and IL-4. *Br J Cancer* 64 (1991) 457-462
- 44 Malik STA, Naylor S, East N, Oliff A, Balkwill FR: Cells secreting tumour necrosis factor show enhanced metastasis in nude mice. *Eur J Cancer* 26 (1990) 1031-1034
- 45 Martone T, Bellone G, Pagano M, Beatrice F, Palonta F, Emanuelli G, Cortesina G: Constitutive expression of interleukin-18 in head and neck squamous carcinoma cells. *Inc Head neck* 26 (2004) 494-503
- 46 Michalaki V, Syrigos K, Charles P, Waxman J: Serum levels of IL-6 and TNF-alpha correlate with clinicopathological features and patient survival in patients with prostate cancer. *Br J Cancer* 90 (2004) 2312-2316
- 47 Miyamoto Y, Hosotani R, Doi R, Wada M, Ida J, Tsuij S et al.: Interleukin-6 inhibits radiation induced apoptosis in pancreatic cancer cells. *Anticancer Res* 21 (2001) 2449-2456
- 48 Moore M, Hamm J, Eisenberg P: A comparison between gemcitabine (GEM) and the matrix metalloproteinase (MMP) inhibitor BAY 12-9566 in patients with advanced pancreatic cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 19 (2000) 930
- 49 Moore R, Owens D, Stamp G: Tumour necrosis factor-a deficient mice are resistant to skin carcinogenesis. *Nat Med* 5 (1999) 828-831
- 50 Muraoka K, Shimizu K, Sun X, Zhang YK, Tani T, Hashimoto T et al.: Hypoxia, but not reoxygenation, induces interleukin 6 gene expression through NF-kappaB activation. *Transplantation* 63 (1997) 466-470

- 51 Murray GI, Duncan ME, O'Neil P: Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in colorectal cancer. *Nat Med* 2 (1996) 461-462
- 52 Naylor MS, Stamp GW, Foulkes WD, Eccles D, Balkwill FR: Tumor necrosis factor and its receptor in human ovarian cancer. Potential role in disease progression. *J Clin Invest* 91 (1993) 2194-2206
- 53 Niedbala MJ, Stein M: Tumor necrosis factor induction of urokinase-type plasminogen activator in human endothelial cells. *Biomed Biochem Acta* 50 (1991) 427-436
- 54 Niederle N, Bergmann L, Ganser A: *Zytokine: Prälinik und Klinik*. Fischer, Jena, Stuttgart, Lübeck (usw.), 1996
- 55 Nishiyama M, Toge T: Selection of adjuvant chemotherapy for gastric cancer using objective criteria. *Gan to Kagaku Ryoho* 24 (1997) 232-238
- 56 Nollert J, Rudat V, Daniel V, Maier H, Dietz A: Einfluß der Radiochemotherapie auf zelluläre und subzelluläre immunologische Parameter. *HNO* 47 (1999) 1058-1062
- 57 Otto B: Aufbau und Wechselwirkung der Zytokine. In: Niederle N, Bergmann L, Ganser A (Hrsg): *Zytokine: Prälinik und Klinik*. Fischer, Jena, Stuttgart, Lübeck, 1996, S.16
- 58 Patterson BC, Sang QA: Angiostatin-converting enzyme activities of human matrilysin (MMP-7) and galatinase b/type IV collagenase (MMP-9). *J Biol Chem* 272 (1997) 28823-28825
- 59 Pinedo HM, Verheul HMW, D'Amato RJ, Folkman J: Involvement of platelets in tumor angiogenesis? *The Lancet* 352 (1998) 1775-1777
- 60 Plate KH, Breier G, Weich HA, Risau W: Vascular endothelial growth factor is a potential tumor angiogenesis factor in human gliomas in vivo. *Nature* 359 (1992) 845-848
- 61 Prosnitz RG, Yao B, Farrell CL: Pretreatment anemia is correlated with the reduced effectiveness of radiation and concurrent chemotherapy in advanced head and neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 61 (2005) 1087-1095
- 62 Pusztai L, Clover LM, Cooper K, Starkey PM, Lewis CE, Mc Gee JO'D: Expression of tumor necrosis factor alpha and its receptors in carcinoma of the breast. *Br J Cancer* 70 (1994) 289-292

- 63 Qiang CN, Zhang CQ, Guo X, Hong HM, Cao SM, Mai WY, Min HQ, Zeng YX: Elevation of serum vascular endothelial growth factor in male patients with metastatic nasopharyngeal carcinoma. *Cancer* 88 (2000) 255-261
- 64 Scannell G, Waxman K, Kami GJ, Ioloi G, Gatanaga T, Yamamoto R, Granger GA: Hypoxia induces a human macrophage cell line to release tumor necrosis factor-alpha and its soluble receptors in vitro. *J Surg Res* 54 (1993) 281-285
- 65 Schmalfeldt B, Prechtel D, Harting K, Spathe K, Rutke S, Konik E, Fridman R, Berger U, Schmitt M, Kuhn W, Lengyel E: Increased expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9), and the urokinase-type plasminogen activator is associated with progression from benign to advanced ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 7 (2001) 2396-404
- 66 Shepherd FA, Giaccone G, Seymour L et al.: Prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of marimastat after response to first-line chemotherapy in patients with small-cell lung-cancer. A trial of the National Cancer Institute of Canada-Clinical Trials Group and the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *J Clin Oncol* 20 (2002) 4434-4439
- 67 Singhal S, Mehta J, Desikan R: Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med* 341 (1999) 1565-1571
- 68 Smylie M, Mercier R, Aboulafia D: Phase III study of the matrix metalloprotease (MMP) inhibitor prinomastat in patients having advanced non-small cell lung cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 20 (2001) 1226
- 69 Sparano J A, Bernardo P, Stephenson P, Gradishar W J, Ingle J N, Zucker S, Davidson NE: Randomised Phase III trial of marimastat versus placebo in patients with metastatic breast cancer who have responding or stable disease after first-line chemotherapy: Eastern cooperative oncology group trial E 2196. *J Clin Oncol* 22 (2004) 4683-4690
- 70 Srivani R, Nagarajan B: A prognostic insight on in vivo expression of interleukin-6 in uterine cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 13 (2003) 331-339
- 71 St John MA, Li Y , Zhou X , Denny P, Ho CM, Montemagno C, Shi W, Qi F, Wu B, Sinha U, Jordan R, Wolinsky L, Park NH, Liu H, Abemayor E, Wong DT: Interleukin 6 and Interleukin 8 as potential biomarkers for oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head neck Surg* 130 (2004) 929-935

- 72 Tamatani T, Azuma M, Ashida Y, Motegi K, Takashima R, Harada K: Enhanced radiosensitization and chemosensitization in NF-kappaB-suppressed human oral cancer cells via the inhibition of gamma-irradiation- and 5-FU-induced production of IL-6 and IL-8. *Int J Cancer* 108 (2004) 912-921
- 73 Teknos TN, Cox C, Yoo S, Chepeha DB, Wolf GT, Bradford CR: Elevated serum vascular endothelial growth factor and decreased survival in advanced laryngeal carcinoma. *Head neck* 24 (2002) 1004-1011
- 74 Thorling EB: Paraneoplastic erythrocytosis and inappropriate erythropoietin production. *Scand J Haematol* 17 (1982) 1
- 75 Thun MJ, Namboodiri MM, Calle EE, Flanders WD, Heath CW Jr: Aspirin use and risk of fatal cancer. *Cancer Res* 53 (1993) 1322-1327
- 76 Tricot G: New insights into role of microenvironment in multiple myeloma. *The Lancet* 355 (2000) 248-250
- 77 Van Trappen PO, Gyselmann VG, Lowe DG, Ryan A, Oram DH, Bosze P, Weekes AR, Shepherd JH, Dorudi S, Bustin SA, Jacobs IJ: Molecular quantification and mapping of lymph-node micrometastases in cervical cancer. *The Lancet* Vol 357 (2001) 15-20
- 78 Vidal-Vanaclocha F, Fantuzzi G, Mendoza L: IL-18 regulates IL-1 $\beta$ -dependent hepatic melanoma metastasis via vascular cell adhesion molecule-1. *PNAS* 97 (2000) 734-739
- 79 Volm M, Rittgen W, Drings P: Prognostic value of ERBB-1, VEGF, Cyclin A, FOS, JUN and Myc in patients with squamous cell lung carcinomas. *Br J Cancer* 77 (1998) 663-669
- 80 Wagener C: *Molekulare Onkologie, Entstehung und Progression maligner Tumoren*. 2. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, 1999
- 81 Wakisaka N, Wen QH, Yoshizaki T, Nishimura T, Furukawa M, Kawahara E, Nakanishi I: Association of vascular endothelial growth factor expression with angiogenesis and lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Laryngoscope* 109 (1999) 810-814
- 82 Wang YF, Chang SY, Tai SK, Li WY, Wang LS : Clinical significance of interleukin-6 receptor expressions in oral squamous cell carcinoma. *Head neck* 24 (2002) 850-858
- 83 Wojtowicz-Praga SM, Dickson RB, Hawkins MJ: Matrix metalloproteinase inhibitors. *Invest new drugs* 15 (1997) 61-75

- 84 Yamamoto H, Itoh F, Iku S: Expression of matrix metalloproteinases in human pancreatic adenocarcinomas: Clinicopathologic and prognostic significance of matrilysin expression. *J Clin Oncol* 19 (2001) 1118-1127
- 85 Yamamoto Y, Toi M, Kondo S, Matsumoto T, Suzuki H, Kitamura M, Tsuruta K, Taniguchi T, Okamoto A, Mori T, Yoshida M, Ikeda T, Tominaga T: Concentrations of vascular endothelial growth factor in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res* 57 (1996) 821-826
- 86 Yoshizaki T, Sato H, Muroso S, Pagano JS, Furukawa M: Matrix metalloproteinase 9 is induced by the Epstein-Barr virus BZLF1 transactivator. *Clin Exp Metastasis* 17 (1999) 431-436

## 7. Tabellenanhang

Die nachfolgenden Tabellen beinhalten die gemessenen Serumkonzentrationen (Mittelwert mit Standardfehler, Median) der verschiedenen Zytokine zu Therapiebeginn, dargestellt sind die Ergebnisse für alle Patienten sowie die Subgruppen Kopf-Hals- und gynäkologische Tumore.

**Tab. 26: Zytokinkonzentrationen bei Therapiebeginn (insgesamt)**

	EPO [mIU/ml] N = 50	VEFG [pg/ml] N = 50	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 50	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 50	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 50	MMP-9 [ng/ml] N = 50	IL-6 [pg/ml] N = 50	IL-8 [pg/ml] N = 50
Mittelwert	17,6 $\pm$ 2,56	698,1 $\pm$ 100,03	5,03 $\pm$ 0,29	1,3 $\pm$ 0,64	6,5 $\pm$ 0,38	6,76 $\pm$ 0,49	9,81 $\pm$ 1,41	21,55 $\pm$ 3,24
Median	12,65	395,55	4,5	1,4	7,0	6,4	5,43	14,0

**Tab. 27: Zytokinkonzentrationen zu Therapiebeginn (gynäkologische Tumore)**

	EPO [mIU/ml] N = 22	VEGF [pg/ml] N = 22	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 22	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 22	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 22	MMP-9 [ng/ml] N = 22	IL-6 [pg/ml] N = 22	IL-8 [pg/ml] N = 21
Mittelwert	18,59 $\pm$ 4,21	611,68 $\pm$ 132,93	5,27 $\pm$ 0,38	1,42 $\pm$ 0,1	6,53 $\pm$ 0,65	6,95 $\pm$ 0,89	9,36 $\pm$ 2,52	15,34 $\pm$ 2,51
Median	13,4	395,55	5,2	1,6	7,35	6,45	4,9	11,5

**Tab. 28: Zytokinkonzentrationen zu Therapiebeginn (Kopf-Hals-Tumore)**

	EPO [mIU/ml] N = 28	VEGF [pg/ml] N = 28	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 28	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 28	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 28	MMP-9 [ng/ml] N = 28	IL-6 [pg/ml] N = 28	IL-8 [pg/ml] N = 28
Mittelwert	16,82 $\pm$ 3,23	766 $\pm$ 145,75	4,84 $\pm$ 0,43	1,2 $\pm$ 0,79	6,48 $\pm$ 0,47	6,6 $\pm$ 0,54	10,16 $\pm$ 1,59	26,2 $\pm$ 5,21
Median	12,4	400,95	4,3	1,3	6,6	6,4	5,58	15,55



**Tab. 29: Zytokinkonzentrationen zu Therapiemitte (insgesamt)**

	EPO [mlU/ml] N = 29	VEGF [pg/ml] N = 31	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 31	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 31	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 31	MMP-9 [ng/ml] N = 30	IL-6 [pg/ml] N = 30	IL-8 [pg/ml] N = 30
Mittelwert	17,47 $\pm$ 2,45	466,73 $\pm$ 87,34	4,44 $\pm$ 0,29	1,34 $\pm$ 0,83	6,11 $\pm$ 0,44	3,93 $\pm$ 0,49	13,15 $\pm$ 2,47	21,45 $\pm$ 3,89
Median	13,9	294,8	4,3	1,2	6,8	3,65	5,9	12,55

**Tab. 30: Zytokinkonzentrationen zu Therapiemitte (gynäkologische Tumore)**

	EPO [mlU/ml] N = 13	VEGF [pg/ml] N = 15	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 15	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 15	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 15	MMP-9 [ng/ml] N = 14	IL-6 [pg/ml] N = 15	IL-8 [pg/ml] N = 15
Mittelwert	16,17 $\pm$ 2,34	468,37 $\pm$ 132,7	4,53 $\pm$ 0,44	1,37 $\pm$ 0,13	6,09 $\pm$ 0,65	3,6 $\pm$ 0,67	11,28 $\pm$ 3,01	16,96 $\pm$ 4,42
Median	13,8	298,1	4,3	1,4	6,5	2,9	4,9	10,6

**Tab. 31: Zytokinkonzentrationen zu Therapiemitte (Kopf-Hals-Tumore)**

	EPO [mlU/ml] N = 16	VEGF [pg/ml] N = 16	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 16	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 15	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 16	MMP-9 [ng/ml] N = 16	IL-6 [pg/ml] N = 15	IL-8 [pg/ml] N = 15
Mittelwert	18,53 $\pm$ 4,08	465,2 $\pm$ 118,95	4,35 $\pm$ 0,41	1,37 $\pm$ 0,13	6,13 $\pm$ 0,61	4,22 $\pm$ 0,72	15,01 $\pm$ 3,95	25,94 $\pm$ 6,34
Median	14,3	218,35	4,2	1,4	7,15	4,15	9,55	20,65

**Tab. 32: Zytokinkonzentrationen zu Therapieende (insgesamt)**

	EPO [mlU/ml] N = 18	VEGF [pg/ml] N = 18	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 17	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 18	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 18	MMP-9 [ng/ml] N = 18	IL-6 [pg/ml] N = 18	IL-8 [pg/ml] N = 18
Mittelwert	28,89 $\pm$ 9,64	351,87 $\pm$ 75,25	6,83 $\pm$ 1,96	1,24 $\pm$ 0,26	5,68 $\pm$ 0,66	4,72 $\pm$ 1,4	16,52 $\pm$ 3,06	17,96 $\pm$ 3,83
Median	15,65	251,7	4,7	1,0	5,2	3,05	14,2	13,55

**Tab. 33: Zytokinkonzentrationen zu Therapieende (gynäkologische Tumore)**

	EPO [mIU/ml] N = 9	VEGF [pg/ml] N = 9	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 8	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 9	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 9	MMP-9 [ng/ml] N = 9	IL-6 [pg/ml] N = 9	IL-8 [pg/ml] N = 9
Mittelwert	23,47 $\pm$ 6,54	325,86 $\pm$ 93,93	8,56 $\pm$ 3,93	1,41 $\pm$ 0,5	5,36 $\pm$ 0,65	4,02 $\pm$ 0,74	8,58 $\pm$ 1,86	10,28 $\pm$ 1,49
Median	16,5	258,2	4,45	0,9	5,6	3,0	4,9	11,8

**Tab. 34: Zytokinkonzentrationen zu Therapieende (Kopf-Hals-Tumore)**

	EPO [mIU/ml] N = 9	VEGF [pg/ml] N = 9	IFN- $\gamma$ [pg/ml] N = 9	IL-1 $\beta$ [pg/ml] N = 9	TNF- $\alpha$ [pg/ml] N = 9	MMP-9 [ng/ml] N = 9	IL-6 [pg/ml] N = 9	IL-8 [pg/ml] N = 9
Mittelwert	34,32 $\pm$ 18,57	377,88 $\pm$ 122,76	5,29 $\pm$ 1,36	1,08 $\pm$ 0,15	6,0 $\pm$ 1,15	5,41 $\pm$ 2,76	24,46 $\pm$ 4,53	25,11 $\pm$ 6,81
Median	14,8	233,8	4,7	1,1	4,2	3,1	28,0	18,2

**Tab. 35: Serumkonzentrationen zu Therapiebeginn (insgesamt)**

	CRP [mg/l] N = 49	Hb [mmol/l] N = 52	Leukoz. [gpt/l] N = 51	Thromb. [gpt/l] N = 51
Mittelwert	36,98 $\pm$ 6,94	7,36 mmol/l $\pm$ 0,16	8,08 gpt/l $\pm$ 0,46	325,59 $\pm$ 18,45
Median	13,7	7,35	7,00	280,00

**Tab. 36: Serumkonzentrationen zu Therapiebeginn (gynäkologische Tumore)**

	CRP [mg/l] N = 21	Hb [mmol/l] N = 22	Leukoz. [gpt/l] N = 22	Thromb. [gpt/l] N = 22
Mittelwert	29,96 $\pm$ 10,23	7,09 $\pm$ 0,22	8,2 $\pm$ 0,84	303,77 $\pm$ 27,81
Median	11,2	7,1	6,9	277,5

## 8. Thesen

1. Dem CRP kam als einem Vertreter der Entzündungsparameter in den eigenen Untersuchungen eine Schlüsselposition zu: Patienten mit hohen CRP-Serumkonzentrationen besaßen häufig ein „pathologisches Zytokinprofil“, d. h. signifikant höhere Konzentrationen an proinflammatorischen sowie proangiogenetischen Zytokinen.
2. Von entscheidender Bedeutung scheint der prätherapeutische CRP-Wert zu sein: Patienten mit signifikant niedrigerer CRP-Serumkonzentration hatten eine bessere Prognose.
3. Hypoxische Verhältnisse im Wirtsorganismus scheinen eine höhere Expression verschiedener Zytokine zur Folge zu haben: In den eigenen Untersuchungen traf dies auf VEGF, TNF- $\alpha$ , MMP-9 und IL-6 zu.
4. Tumorpatienten mit einem signifikant höherem VEGF-Serumspiegel hatten eine signifikant kürzere Überlebensdauer, ebenso bestanden bei diesen Patienten signifikant häufiger niedrigere Serumkonzentrationen. Der in der Literatur vertretene Zusammenhang zwischen Anämie mit konsekutiver Tumorphoxie und VEGF-Expression konnte insofern bestätigt werden.
5. In der eigenen Untersuchung bestand ein enger Zusammenhang der proinflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 und IL-8, d. h., hohe Serumkonzentrationen des einen Parameters waren mit gleichfalls hohen Konzentrationen des anderen Parameters verbunden
6. Ein Kausalzusammenhang zwischen dem unter Punkt fünf beschriebenen Zytokinen und VEGF bzw. MMP-9 ist zu vermuten oder, anders ausgedrückt, ein pathologisches Zytokinprofil kann durch Inflammation bzw. Hypoxie verstärkt oder evtl. induziert werden.
7. Wesentliche Unterschiede in den beiden untersuchten Subgruppen (gynäkologische- und Kopf-Hals-Tumore) waren nicht eruierbar, dies galt auch

hinsichtlich der Prognose. Bei den gynäkologischen Tumoren ergaben sich jedoch tendenziell engere Korrelationen zwischen den untersuchten Zytokinen.

8. Hinsichtlich der Verwertbarkeit der untersuchten Zytokine als prädiktive Marker für Tumorprogression und Metastasierung lassen sich anhand der eigenen Daten nur sehr eingeschränkte Aussagen treffen: Lediglich TNF- $\alpha$  und IL-6 (hier allerdings nur für die gynäkologischen Tumoren) korrelierten mit einer signifikant häufigeren Tumorprogression und Metastasierung.
9. Eine prognostische Relevanz der Serumkonzentration konnte in der eigenen Untersuchung nur für CRP, VEGF, IL-6 und IL-8 nachgewiesen werden. Dies kann als ein Hinweis für eine schlechtere Prognose von Patienten mit pathologischem Zytokinprofil interpretiert werden, weitere Daten und Untersuchungen sind hier jedoch notwendig.
10. IFN- $\gamma$  war als einziger der untersuchten Marker bei einer hohen Serumkonzentration antiinflammatorisch und antiproliferativ wirksam. Dies deckt sich mit Angaben aus der Literatur und der antineoplastischen Wirksamkeit von Interferonen in der Tumorthherapie.
11. Die biologischen Abläufe im Tumormikro- und Tumormakromilieu sind außerordentlich vielseitig und komplex, sodass die Notwendigkeit von multimodalen Therapieansätzen in der Behandlung maligner Tumoren deutlich wird. Die Daten der eigenen Untersuchung und die der Literatur untermauern dies.

## Lebenslauf

Name: Frank Peter Sieker

Geburtstag: 27.02.1973

Geburtsort: Bielefeld

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Eltern: Astrid Sieker, geb. Trautmann  
Günther Sieker

### Schulbildung:

1979-92 Besuch der Grundschule sowie des Gymnasiums in Bielefeld

1992 Abitur

1992-93 Grundwehrdienst

1993-94 Beginn einer Ausbildung zum MTRA in Bielefeld

### Studium:

1994-2001 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

1996 Physikum

1997 Erstes Staatsexamen

2000 Zweites Staatsexamen

2001 Abschluß des Studiums mit dem Dritten Staatsexamen

### Ausbildung:

2001-2002 AiP in der Klinik für Strahlentherapie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

2002 Approbation als Arzt

seit 2002 Assistenzarzt in der Klinik für Strahlentherapie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg in der Weiterbildung zum Facharzt für Strahlentherapie und Radioonkologie

**Eidesstattliche Erklärung:**

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

## **Danksagung**

Die Erstellung der vorliegenden Arbeit wäre ohne die Hilfe von vielen Personen nicht möglich gewesen. Ein ganz besonderer Dank gilt hierbei zunächst meiner Chefin und Betreuerin Frau PD Dr .med .G. Hänsgen, die immer ein offenes Ohr bei Problemen hatte und mich mit einer Vielzahl von Hinweisen und Hilfestellungen ganz besonders unterstützt hat. Sie hatte trotz der großen Arbeitsbelastung immer Zeit, wenn dies erforderlich war.

Für die Überlassung des Themas und die Förderung in vielerlei Hinsicht bedanke ich mich ganz herzlich bei meinem ehemaligen Chef, Herrn Prof. Dr. med. J. Dunst.

Mein Dank gilt ebenso Frau Dr.med. St. Pigorsch, die mir bei der Beschaffung des Themas sowie mit vielen Tipps und Ratschlägen hilfreich zur Seite gestanden hat.

Ganz herzlicher Dank gebührt auch unseren beiden Labor-MTA`s Frau Perl und Frau Rühlmann, die viel zusätzliche Arbeit mit der Bestimmung der Zytokine hatten, aber immer freundliche und hilfsbereite Ansprechpartner waren. Für die Unterstützung bei der Bestimmung von IL-6 und IL-8 bedanke ich mich in diesem Zusammenhang sehr bei Fr. Dr. rer. nat. Fischer. Ebenso gilt mein Dank Herrn Fabritz für die tatkräftige Mithilfe bei der Korrektur der Dissertationsschrift. Großen Dank möchte ich auch meiner Freundin für ihre aufgebrachte Geduld und Unterstützung aussprechen.

Zum Schluß, aber bestimmt nicht an letzter Stelle, möchte ich mich bei meinen Eltern ganz besonders bedanken, ohne die mein Studium der Medizin nicht möglich gewesen wäre und diese Arbeit nicht hätte angefertigt werden können.