

Aus der Abteilung für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
des Bundeswehrkrankenhauses Ulm

Leitender Arzt: Prof. Dr. Dr. Matthias Tisch

Plattenepithelkarzinome des oberen
Aerodigestivtraktes - Therapieansätze in Abhängigkeit
vom HPV- Status

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät
der Universität Ulm

Verfasser: Konstanze Diekmeyer

Geburtsort: Dresden

Jahr der Vorlage im Promotionssekretariat: 2016

Amtierender Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wirth

1. Begutachter: Prof. Dr. med. Kai Johannes Lorenz

2. Begutachter: PD Dr. med. Lars Alexander Schneider

Tag der Promotion: 18.05.2017

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Material Und Methoden	4
2.1. Patientengut	4
2.2. Hpv Screening Kit.....	7
2.3. P16 Immunhistochemie	7
2.4. Statistische Analyse.....	7
3. Ergebnisse Der Statistischen Auswertung	13
3.1. Deskriptive Statistik	13
3.2. Prognose	17
3.3. Cox- Regression	20
4. Diskussion	27
5. Zusammenfassung	37
6. Literaturverzeichnis	39

Abkürzungsverzeichnis

ADT =Aerodigestivtrakt

BwK = Bundeswehr Krankenhaus

Chi²-Test= Chi- Quadrat- Test

CT= Computertomographie

CTLA-4= cytotoxic T-lymphocyte antigen 4

DNS= Desoxyribonucleinsäure

ECOG = Eastern Cooperative Oncology Group

EGFR = epidermal growth factor

FDG- PET-CT = 18F- Fluordeoxyglukose- Positronenemissionstomographie/
Computertomographie

gelegentl.= gelegentlich

HE- Färbung= Hämatoxylin- Eosin Färbung

HNO= Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde

HPV = Humane Papillomaviren

HPV neg= Humane Papillomaviren negativ

HPV pos= Humane Papillomaviren positiv

HR/LR Typen= High risk/ low risk Typen

ISH = In Situ Hybridisierung

kum. Überleben= kumulatives Überleben

m = männlich

Mittelw.= Mittelwert

MRT = Magnetresonanztomographie

neg zensiert= negativ zensiert

OP = operative Tumorentfernung

OP+ RCT= operative Tumorentfernung plus Radiochemotherapie

p = Signifikanz

PCR = Polymerase chain reaction

PECA = Plattenepithelkarzinome

pos zensiert= positiv zensiert

pTNM = Tumorgröße/ -ausdehnung, Nodalstatus, Metastasen

PY = Pack Years

RCT= Radiochemotherapie

regelm.= regelmäßig

Regr.koeff.= Regressionskoeffizient

Std.abw.= Standardabweichung

SE= Standarderror

UICC = Union for international cancer control

w = weiblich

Wald= Waldstatistik

1. Einleitung

Plattenepithelkarzinome stellen weltweit die häufigste Tumorentität im oberen Aerodigestivtrakt dar. Die geschätzte Inzidenz in Deutschland lag 2008 bei 15.583 Neuerkrankungen und 6.100 Todesfällen[32] , insbesondere in Regionen mit hohem Tabak- und Alkoholkonsum. [33]

Allerdings können Plattenepithelkarzinome im oberen Aerodigestivtrakt nicht nur durch Kanzerogene wie Tabak und Alkohol, sondern ebenfalls durch Humane Papillomaviren (HPV) vom High-Risk-Typ (HR) hervorgerufen werden.

Übereinstimmend zu sinkenden Raucherzahlen kann man einen Rückgang der kanzerogen verursachten Karzinome in Mundhöhle und Pharynx beobachten.

Parallel dazu verzeichnet sich ein Anstieg der HPV induzierten

Plattenepithelkarzinome im oberen Aerodigestivtrakt (PECA im oberen ADT), insbesondere im Oropharynx, bei jungen Menschen vor dem 50. Lebensjahr, die weder Raucher sind, noch häufig Alkohol konsumieren. [33] [12]

Die Prävalenz für HPV-16 in Oropharynxkarzinomen liegt in einer Studie von Singhi et al. bei 81%. Betrachtet man die Verteilung auf die Geschlechter haben Männer in 77% der Fälle eine HPV- 16 Infektion bei Oropharynxkarzinomen, Frauen in 52%. [28]

Des Weiteren zeigte eine amerikanische Studie, dass die Anzahl HPV positiver PECA im oberen ADT zwischen 1984 und 2004 um 225% gestiegen ist. Aufgrund dieser Zahlen wird in Erwägung gezogen, dass die Jahresinzidenz HPV bedingter PECA im oberen ADT bis 2020 die des Zervixkarzinoms, welches ebenfalls durch HPV entsteht, überschritten haben wird. [32]

Die Übertragung der HPV soll beim Sexualverkehr, genauer gesagt beim Oralverkehr erfolgen. [2] [6] Bereits bei gesunden Patienten liegt die Prävalenz für HPV Infektionen im Oropharynx bei 14%. [5] In diesen Fällen liegt eine subklinische Infektion vor, die langfristig zu einem Karzinome führen kann.

Die durch onkogene HPV induzierten Karzinome stellen mittlerweile eine eigene Tumorentität dar. Es liegt sowohl biologisch, als auch klinisch ein Unterschied zu den durch Kanzerogene hervorgerufenen Karzinomen vor. [20]

Karzinogen bedingte Tumore entstehen durch eine irreversible Schädigung der Zelle, wohingegen die HPV einen reversiblen Schaden durch die Infektion der Zelle verursachen. Die Infektion bewirkt eine genetische Instabilität und greift durch Virusproteine in den Zellzyklus ein. [23] Prädilektionsstellen für eine HPV

Infektion sind Übergangsepithelien, z.B. vom Plattenepithel ins Flimmerepithel.

[31]

Patienten mit HPV positiven Karzinomen sind deutlich jünger als Patienten mit kanzerogen verursachten PECA im oberen ADT, woraus in der Regel ein besserer Allgemeinzustand resultiert.[4] Jedoch hatten sie früher ihren ersten Sexualkontakt und durchschnittlich eine höhere Anzahl an Sexualpartnern, insbesondere an Oralsexpartnern. [32] Aufgrund dieses veränderten risikohaften Sexualverhaltens werden orale HPV-Infektionen immer häufiger. Laut Syrjänen et al. liegt ein 14fach erhöhtes Risiko für ein Oropharynxkarzinom vor, wenn Humane Papillomaviren in der Mundhöhle detektiert werden und ein 3,8fach erhöhtes Risiko für ein anderes orales Karzinom. [31]

Klinisch wurde in vielen Studien eine bessere Prognose für HPV induzierte PECA im oberen ADT festgestellt.

Man vermutet eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit bei HPV positiven PECA im oberen ADT im Vergleich zu HPV negativen Karzinomen.[13]

Um festzustellen ob eine HPV Infektion vorliegt hat sich der immunhistochemische Nachweis von p16 als Surrogatmarker und, bei einem positiven Ergebnis der Immunhistochemie (IHC), ein anschließender Polymerase- Chain- Reaction- Test (PCR) als Optimum herauskristallisiert. [16, 29]

Das 5- Jahresüberleben liegt im Schnitt bei einem prognostischen Unterschied von 20-30% zugunsten der HPV- induzierten PECA im oberen ADT. [13] Nach der Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) - Studie 2399 hatten Patienten mit HPV- Desoxyribonucleinsäure (DNS) positiven Karzinomen zwei Jahre nach erfolgter Therapie eine statistisch signifikant erhöhte Gesamtüberlebenschance. Sie lag bei HPV positiven Karzinomen bei 95% im Vergleich zu 62% bei HPV negativen Karzinomen. [32]

Aktuell gibt es noch keine Unterschiede im Therapieregime bei HPV verursachten Karzinomen und kanzerogen verursachten Karzinomen. Bisher werden PECA im oberen ADT multimodal mit einer Kombination aus Operation, Radio-/ Chemotherapie oder Radioimmuntherapie therapiert, unabhängig vom HPV Status.[32] Allerdings geht man mittlerweile davon aus, dass HPV positive Karzinome mit dieser Therapieform übertherapiert werden und daraus sogar

negative Langzeitkonsequenzen für den Patienten resultieren. Deshalb ist der allgemeine Tenor in der Wissenschaft, dass klinische Studien benötigt werden, um individuelle Behandlungsstrategien, in Abhängigkeit vom HPV Status evidenzbasiert zu etablieren.

Diese Arbeit ist eine Statuserhebung der PECA im oberen ADT aus der Abteilung für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde (HNO) des Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013, mit dem Ziel zu zeigen, dass HPV positive Karzinome ein anderes Therapieansprechen haben, als HPV negative Karzinome des oberen ADT. Dies soll anhand einer multivariablen Analyse, durch einbeziehen verschiedener Risikofaktoren, histologischer Merkmale und dem Therapieerfolg, erfasst werden.

2. Material und Methoden

2.1. Patientengut

In dieser retrospektiven Studie wurden alle Patientinnen und Patienten des Bundeswehrkrankenhauses Ulm betrachtet, bei denen im Zeitraum von 2003 bis 2013 die Diagnose eines Plattenepithelkarzinoms im oberen Aerodigestivtrakt gestellt wurde. Alle Patienten haben schriftlich in die Teilnahme an dieser Studie eingewilligt, entweder bei einem Termin in der Nachsorgesprechstunde, oder die Patienten wurden angeschrieben und haben ihre Einwilligung zugeschickt.

Die einbezogenen Patienten wurden an Hand der Tumorakten und des Krankenhausinformationssystems ausgewählt und mit den Tumordaten der Abteilung für Pathologie aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm (BwK Ulm) korreliert. Hier wurden nun die Fälle mit der Lokalisation oberer Aerodigestivtrakt herausgefiltert.

Die Patientenakten wurden auf ihre Vollständigkeit überprüft und die für diese Arbeit wichtigen Parameter in einer Excel Tabelle erfasst. Dies waren das Geburtsdatum, das Geschlecht, Alkohol- und Nikotinabusus, die Lokalisation, das Datum der histologisch gesicherten Erstdiagnose, die Tumorlokalisations-, Nodalstatus-, Metastasen (pTNM)- Klassifikation, die basaloide Differenzierung, das Grading, ob und wann eine Operation erfolgte, ob und für welchen Zeitraum eine primäre, sekundäre oder adjuvante Radiochemotherapie erfolgte, der HPV-Status, der p16-Status, ob und wo eine Spätmetastase, ein Zweitkarzinom oder ein Rezidiv auftrat, sowie das Überleben, der letzte Termin und das Todesdatum sofern die Patientin/der Patient verstorben ist.

Beim Alkoholgenuss wurde unterschieden zwischen gelegentlichem Alkoholgenuss, z.B. einmal pro Woche ein Glas Wein oder Bier, und regelmäßigem Alkoholgenuss. In die letzte Spalte fallen alle Patienten die mehrmals pro Woche oder täglich Alkohol trinken, sowie aktueller und ehemaliger Alkoholismus.

Zur Erfassung des Nikotinstatus wurde in Gelegenheitsraucher, regelmäßige Raucher und Patienten, die keine Angaben zum Rauchen gemacht haben unterteilt. Gelegenheitsraucher waren ausdrücklich als solche in der Akte beschrieben. Als regelmäßiger Raucher wurde eingestuft, wer jeden Tag raucht oder dies über mindestens 5 Jahre getan hat. Die Angaben sind in Pack Years

(PY) vermerkt. Sofern in der Akte keine genauen Angaben zur Häufigkeit des Rauchens gemacht wurde, der Patient aber als regelmäßiger Raucher vermerkt war, wurde angenommen, dass seit dem 20. Lebensjahr ein Nikotinkonsum von einer Schachtel pro Tag bis zur Erstdiagnose bestand. Für die statistische Auswertung wurde dieses Merkmal in folgende Gruppen unterteilt:

0 PY, < 15 PY, 15-39 PY, 40-70PY, > 70PY

Als mögliche Lokalisation ergaben sich folgende anatomische Definitionen bzw. Gruppen: das Cavum oris, der Oropharynx, der Hypopharynx, der Larynx, Oro- und Hypopharynx, Hypopharynx und Larynx, Larynx und Oropharynx, sowie der Nasopharynx.

Zur Klassifikation der Karzinome wurde das pTNM Schema der International Union against Cancer (im folgenden UICC) verwendet.

Allerdings wurden die Subklassifikationen wie T4a oder b unter T4 zusammengefasst, da diese Subgruppen statistisch nicht sinnvoll verwertbar sind.

Mit Hilfe des Grading wird der Differenzierungsgrad des Tumorgewebes erfasst. Nach der UICC gilt folgende internationale Einteilung, die auch hier verwendet wurde:

GX Grad der Differenzierung kann nicht bewertet werden

G1 gut differenziertes Gewebe

G2 mittelgradig differenziertes Gewebe

G3 schlecht differenziertes Gewebe

G4 undifferenziertes Gewebe

Die basaloide Differenzierung wurde erfasst um zu veranschaulichen, ob der Tumor die Basalmembran bereits infiltriert hat oder nicht. Es wurde unterschieden zwischen differenzierter und undifferenzierter Basalmembran.

Zur Erfassung der Therapie wurden die Kategorien primäre und sekundäre operative Tumorentfernung, alleinige Neck Dissection mit eventueller Radio-/ Chemotherapie, primäre, adjuvante oder alleinige Chemotherapie, sowie der Name der einzelnen Chemotherapeutika verwendet. Des Weiteren wurde erfasst, mit wieviel Grey die Radiotherapie in der Tumorregion und/oder in der Lymphabflussregion erfolgte. Die Chemotherapie erhielten die betroffenen

Patienten in heimatnahen Strahlenkliniken. Fehlten Angaben aus den standortfernen Kliniken wurden diese nachträglich angefordert.

Eine Spätmetastase ist definiert als ein erneutes Auftreten von Tumormetastasen mindestens ein halbes Jahr nach der histologischen Sicherung des Primarius.

Als Zweitkarzinom wurde ein pathologischer Befund gewertet, der mindestens 5 Zentimeter vom Primarius entfernt liegt, unabhängig von der Zeit. Ein Rezidiv hingegen hat dieselbe Lokalisation wie der Primarius, tritt aber erst nach dessen Behandlung auf.

Überlebt hat ein Patient, sofern er zwischen März 2011 und März 2013 seinen letzten Kontrolltermin hatte oder im März 2013 telefonisch gesprochen wurde. Bei n= 47 Patienten konnte nicht geklärt werden, ob sie noch leben. Hier wurden die in den Akten vermerkten Hausärzte kontaktiert um die Frage nach dem Überleben zu klären. Abschließend blieb ein Patientenstamm von n=271 übrig.

Ausschlusskriterien waren unvollständige Angaben zu den oben genannten Parametern, die nicht mehr rekonstruiert werden konnten. Außerdem wurden Patienten, die vor 2010 zuletzt untersucht wurden ausgeschlossen, da ihre Akten bereits archiviert waren.

Bei diesen Patienten erfolgte die histologisch gesicherte Erstdiagnose, sowie die Therapie im Zeitraum von Januar 2003 bis März 2013. Lediglich die Nachsorge ist zum Zeitpunkt der Datenerfassung bei manchen Patienten noch nicht abgeschlossen.

Bei n= 113 Patienten wurde kein p16- oder HPV-Status in der Akte vermerkt. Von diesen Patienten wurde ein neuer Gewebeschnitt in der Abteilung für Pathologie des BwK Ulm angefertigt und mittels einer immunhistochemischen Färbemethode zunächst auf p16 getestet. Nach einer mikroskopischen Auswertung wurden die p16- positiven Gewebeschnitte mit einer PCR Analyse auf Humane Papillomaviren Typ 16 und 18 getestet.

Bei n= 9 Patienten war die p16 Färbung nicht mehr nachträglich möglich, da die Gewebeschnitte nicht archiviert wurden.

Die Konzeption der Untersuchung wurde von der Ethikkommission Ulm mit dem Votum 70/13 positiv beschieden.

2.2. HPV Screening Kit

Für den HPV-Nachweis wurde das "HPV-screening Kit" von AID benutzt. Dies ist ein Polymerase- Chain- Reaction Test für HPV-Analysen aus zytologischem Abstrich- und Paraffinmaterial, sowie Biopsiematerial. Die zu untersuchenden Gensegmente werden zunächst amplifiziert und anschließend durch eine Hybridisierungsreaktion mit sequenzspezifischen, immobilisierten Oligonukleotiden zugeordnet. Die Waschschritte sind so spezifisch, dass sie eine 100%ige Komplementarität zwischen Gensonde und Amplifikat gewährleisten. Die PCR wurde von der Pathologie im BwK Ulm nach Herstellerangaben durchgeführt und bewertet.

2.3. p16 Immunhistochemie

Zur Detektion des p16 Protein wurde von "Ventana" der AK CINtec p16 Histology benutzt. Es handelt sich um ein vollautomatisches Immunhistochemie Kit. Die Gewebeproben, wurden in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Anschließend erfolgte die Interpretation der Färbung durch einen Pathologen des BwK Ulm bzw. durch mich in Zusammenarbeit mit Dr. Umathum bei den nachträglichen Färbungen.

2.4. Statistische Analyse

Die statistische Analyse erfolgte in Zusammenarbeit mit Privatdozent Dr. Girgensohn der Sanitätsakademie der Bundeswehr mit Hilfe der Software IBM SPSS Statistics 19.

Zunächst wurde eine deskriptive Statistik erstellt, um einen Überblick über Alter, Geschlecht, Nikotin- und Alkoholkonsum, HPV- Status, Therapie, Tumorlokalisation, sowie Rezidive, Zweitkarzinome und Metastasen im untersuchten Patientenkollektiv zu gewinnen. Die, in den, im Folgenden, beschriebenen Kreuztabellen, erfassten Daten wurden in absoluten Zahlen und in Prozent angegeben. In allen Auswertungen wurde mit einem Signifikanzniveau von 0,05 (5%) gearbeitet.

Zunächst wurde in einer Kreuztabelle erfasst welcher Anteil der Patienten männlich bzw. weiblich ist. Anschließend wurde der Anteil der männlichen und auch weiblichen HPV positiven, sowie HPV negativen Patienten berechnet. Zur

Überprüfung der Häufigkeitsverteilung zweier Gruppen wie diesen, die zwei Merkmale haben (Geschlecht und HPV Status), wurde der Chi- Quadrat- Test durchgeführt.

Der Chi-Quadrat-Test überprüft ob eine Abhängigkeit zwischen kategorischen Variablen besteht. Die Prüfgröße berechnet sich nach folgender Formel:

$$\chi^2 = \sum ((\text{beobachtete Häufigkeit} - \text{erwartete Häufigkeit})^2 / \text{erwartete Häufigkeit})$$

Wobei über alle Felder der Kreuztabelle summiert wird. Die beobachteten Häufigkeiten lassen sich aus den Kreuztabellen ablesen. Die erwarteten Häufigkeiten müssen berechnet werden.

Die erwartete Häufigkeit eines Feldes wird berechnet als das Produkt der Randhäufigkeit (h) der zugehörigen Zeile (n) mit der Randhäufigkeit der zugehörigen Spalte (m), dividiert durch die Stichprobengröße N:

$$\text{erwartet Häufigkeit} = [h(n) \times h(m)] / N$$

Die Prüfgröße χ^2 ist annähernd Chi-Quadrat-verteilt mit folgender Anzahl an Freiheitsgraden:

$$(\text{Zeilenzahl} - 1) \times (\text{Spaltenzahl} - 1).$$

Ob der berechnete Wert signifikant ist wird mit der Berechnung des p Wertes unter Berücksichtigung des gewählten Signifikanzniveau geprüft. Liegt der p Wert unterhalb des gewählten Signifikanzniveau von 5% ist der Chi Quadrat Test nicht signifikant und der Zusammenhang zwischen den untersuchten kategorischen Variablen statistisch nicht gegeben.

Anschließend wurde das durchschnittliche Alter dargestellt. Um dabei die HPV positive Gruppe mit der HPV negativen Gruppe zu vergleichen wurde innerhalb der Gruppen jeweils der Mittelwert des Alters gebildet. Damit die Streuung beurteilt werden kann wurde die Standardabweichung bestimmt. Da eine Gruppe mit Normalverteilung vorliegt wurde, um die Signifikanz des Gruppenunterschieds zu prüfen, der t-Test durchgeführt.

Beim t-Test (für zwei unverbundene Stichproben des Umfangs n_1 und n_2) berechnet sich die Prüfgröße zu

$$t = (n_1 - n_2) / (s \times \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}),$$

wobei s die Wurzel aus der gewichteten Varianz ist,

$$s^2 = ((n_1-1) \times s_1^2 + (n_2-1) \times s_2^2) / (n_1+n_2-2),$$

mit den beiden Gruppenvarianzen s_1^2 und s_2^2 . Die Prüfgröße ist dann unter der Nullhypothese t -verteilt mit n_1+n_2-2 Freiheitsgraden.

Zur Auswertung des Alkohol- und Nikotinkonsums des untersuchten Patientenkollektivs wurde ebenfalls eine Kreuztabelle erstellt. Es wurde zunächst dargestellt welcher Anteil des gesamten Patientenkollektivs keinen, gelegentlich oder regelmäßig Alkohol trinkt. Anschließend wurde die Verteilung der HPV positiven und HPV negativen Gruppe auf diese Untergruppen dargestellt. Um die Signifikanz der Häufigkeitsverteilung auf die HPV positive und HPV negative Gruppe zu prüfen wurde auch hier der Chi- Quadrat- Test durchgeführt. Bei der Darstellung des Nikotinkonsums in den genannten Untergruppen war das Vorgehen genauso. Da hier aber die konsumierte Menge in Pack Years erfasst wurde, wurde zudem für die Raucher im gesamten Patientenkollektiv sowie in der HPV-positiven und der HPV-negativen Gruppe der Mittelwert der Pack Years gebildet. Anschließend wurde die Signifikanz des Gruppenunterschieds mit einem t - Test geprüft.

Als nächstes wurde analysiert wie häufig das Plattenepithelkarzinom an den einzelnen Lokalisationen, Mundhöhle, Oropharynx, Hypopharynx, Larynx und anderen Lokalisationen im untersuchten Patientenkollektiv vorkommt. Dies wurde wieder mit Hilfe einer Kreuztabelle gemacht, wobei wieder zunächst das Gesamtkollektiv untersucht wurde und anschließend der Anteil der HPV positiven und HPV negativen Gruppe an den einzelnen Lokalisationen bestimmt wurde. Um

die Signifikanz der Verteilung auf die HPV positive und HPV negative Gruppe zu prüfen wurde ein Chi- Quadrat- Test gemacht.

In der Analyse zur Auswertung, welche Therapie die jeweiligen Patienten aus dem Gesamtkollektiv erhalten haben, gab es folgende Therapiemöglichkeiten: keine, nur Operation, nur Radiochemotherapie, sowie Operation und Radiochemotherapie. Anhand einer Kreuztabelle wurde erfasst wie sich die Therapiemöglichkeiten auf das Gesamtkollektiv sowie auf die HPV positive und die HPV negative Gruppe verteilen. Ob hier ein signifikanter Unterschied vorliegt wurde mit dem Chi- Quadrat- Test überprüft.

Um die Radiotherapie genauer zu untersuchen wurde bei der Analyse unterschieden in keine Radiotherapie, Radiotherapie nur in der Tumorregion und Radiotherapie in der Tumor- und Lymphabflussregion. Anhand einer Kreuztabelle wurde überprüft wie die Optionen auf das Gesamtkollektiv, die HPV negative und die HPV positive Gruppe verteilt sind. Auch hier wurde abschließend der Chi- Quadrat- Test durchgeführt, um den Unterschied zwischen der HPV positiven und HPV negativen Gruppe auf seine Signifikanz zu überprüfen.

Zusätzlich wurde in einer Kreuztabelle erfasst mit wieviel Grey im Mittelwert die Tumorregion, sowie die Lymphabflussregion im Gesamtkollektiv, der HPV positiven und der HPV negativen Gruppe bestrahlt wurde. Nachdem für die einzelnen Gruppenwerte die Standardabweichung bestimmt wurde, wurde zur Überprüfung der Signifikanz ein t-Test gemacht.

Um die Art der Chemotherapie genauer zu untersuchen wurde auch hier in einer Kreuztabelle erfasst welcher Anteil der Patienten des Gesamtkollektivs, sowie der HPV negativen und HPV positiven Gruppe keine Chemotherapie erhielt oder Cysplatin, Carboplatin, Fluorouracil oder Cetuximab als Chemotherapeutikum erhielt. Ob der Unterschied zwischen der HPV positiven und HPV negativen Gruppe signifikant ist wurde anhand des Chi- Quadrat- Testes überprüft.

Ob Rezidive, Zweitkarzinome oder Metastasen im Gesamtkollektiv, der HPV negativen und der HPV positiven Gruppe auftraten wurde ebenfalls in einer

Kreuztabelle erfasst und die Signifikanz des Unterschiedes zwischen der HPV positiven und HPV negativen Gruppe mit einem Chi- Quadrat- Test überprüft.

Zur Analyse der Überlebenszeit von HPV positiven und HPV negativen Patienten wurde zunächst ebenfalls eine Kreuztabelle erstellt. Dabei wurde in lebt, und verstorben unterschieden und der Anteil des Gesamtkollektivs, sowie der HPV positiven und HPV negativen Patienten an diesen zwei Untergruppen bestimmt. Um den Unterschied zwischen der HPV negativen und HPV positiven Gruppe auf seine Signifikanz zu prüfen wurde ein Chi- Quadrat- Test gemacht.

Anschließend wurde ein Mittelwert für die einzelnen Untergruppen der Überlebenszeit in Tagen bestimmt. Hiervon wurde die Standardabweichung berechnet um anschließend mit einem t- Test die Signifikanz zu prüfen.

Außerdem wurden drei weitere Tests angewandt. Die Kaplan-Meier-Methode, die Cox-Regression und der Log-Rank- Test.

Durch die Kaplan-Meier-Methode wird die Überlebenswahrscheinlichkeit für verschiedene Zeitpunkte grafisch in einer Überlebensfunktion dargestellt.

Wobei das kumulative Überleben in Abhängigkeit von der Überlebenszeit in Tagen in einem Graphen für die HPV negative und einem Graphen für die HPV positive Gruppe dargestellt wurde. Hier wurde der Log- Rank- Test hinzugezogen um die Kaplan-Meier Kurven für die HPV positive und die HPV negative Gruppe zu vergleichen und zu überprüfen ob der Unterschied signifikant ist.

Um die Hauptfragestellung zu beantworten, welche der untersuchten Faktoren einen Einfluss auf die Überlebenszeit haben, wurde eine schrittweise Cox-Regression durchgeführt. Mit Hilfe der Cox- Regression kann eingeschätzt werden, welchen Einfluss verschiedenen Variablen, z.B. der HPV Status oder die Therapie, auf das Überleben haben. Zusätzlich können die Daten an die restlichen Einflussgrößen angepasst werden.

Die Cox-Regression erzeugt für jeden Faktor im Modell einen Regressionskoeffizienten und einen Standardfehler. Wenn man deren Quotient quadriert, erhält man als Prüfgröße die Waldstatistik, welche Chi-Quadrat-verteilt mit einem Freiheitsgrad ist:

$$\text{Wald} = (\text{Regressionskoeffizient} / \text{Standardfehler})^2,$$

so dass die Signifikanz jedes Faktors im Gesamtmodell, d. h. für die Überlebenszeit, geprüft werden kann.

Dabei wurde der HPV-Status (negativ / positiv) unbedingt in jedem Modell berücksichtigt. Alle anderen Faktoren wurden schrittweise in das Modell aufgenommen, sofern sie einen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit (unter Berücksichtigung der bereits im Modell vorhandenen Faktoren) haben. Diese weiteren Faktoren sind: Geschlecht, Alter, Tumorlokalisation (Mundhöhle / Oropharynx / Hypopharynx / Larynx / andere), Therapie (keine / nur Operation / nur Radiochemotherapie / Operation und Radiochemotherapie), Auftreten weiterer Tumore (ja / nein).

Der Alkohol- und Nikotinkonsum kann dabei in der Hauptauswertung zunächst nicht berücksichtigt werden, da er bei zu vielen der Patienten nicht bekannt ist. Diese Patienten müssten dann von der Auswertung ausgeschlossen werden, was die Fallzahl zu sehr verringern würde.

Um den Einfluss von Alkohol- und Nikotinkonsum zu testen wurden beide Faktoren in das Modell mit HPV Status, Alter und Therapie aufgenommen. Wobei beim Alkohol- und Nikotinkonsum, wie oben beschrieben, in keinen, gelegentlichen und regelmäßigen Konsum unterschieden wurde.

Anschließend wurden weitere Überlebenskurven nach dem gleichen Muster wie bereits beschrieben angefertigt und die Signifikanz mit dem Log- Rank- Test überprüft. Dies sind eine Überlebensfunktion für alle Therapien, also nur Operation, nur Radiochemotherapie, sowie Operation und Radiochemotherapie, sowie Überlebensfunktionen für die einzelne Therapie auf den HPV Status bezogen. Abschließend wurde der Einfluss der Tumorlokalisation unabhängig vom HPV Status in einer Überlebensfunktion nach dem genannten Prinzip dargestellt.

3. Ergebnisse der statistischen Auswertung

3.1. Deskriptive Statistik

Von den 271 untersuchten Patienten waren 219 HPV negativ (80,8%) und 41 HPV positiv (15,1%) . Bei 11 Patienten (4,1%) ist der HPV- Status nicht bekannt. Darunter waren 230 Männer (84,9%) und 41 Frauen (15,1%). Von der HPV-negativen Gruppe waren 86,8% Männer (190) und 13,2% Frauen (29). In der HPV- positiven Gruppe waren 75,6% Männer (31) und 24,4% Frauen (10). Die HPV- Gruppen unterscheiden sich hinsichtlich des Geschlechts nicht signifikant ($p= 0,067$). Dies trifft auch auf das Alter zu ($p= 0,715$). Der Mittelwert liegt bei den HPV- positiven Patienten bei 60,7 Jahren, bei den HPV- negativen Patienten bei 60,1 Jahren.

Tabelle 1: Verteilung von Geschlecht und Alter bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt im Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

m= männlich; w= weiblich; HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV pos= Humane Papillomaviren positiv; Std. abw. = Standardabweichung; Mittelw.= Mittelwert; p= Signifikanzwert; Chi ^2- Test= Chi-Quadrat-Test

Gruppe	Geschlecht			Alter bei Diagnose		
	m	w	Chi^2-Test	Mittelw.	Std.abw.	t-Test
gesamt	230 (84.9 %)	41 (15.1 %)		60.4	10.069	
davon HPV neg	190 (86.8 %)	29 (13.2 %)	Chi^2 = 3.366	60.1	10.053	t(258) = 0.366
davon HPV pos	31 (75.6 %)	10 (24.4 %)	p = 0.067	60.7	9.689	p = 0.715

Als nächstes wurde der Alkohol- und Nikotinkonsum betrachtet. Insgesamt trinken 17,3% (28) der Gesamtkohorte keinen Alkohol, 11,7% (19) trinken gelegentlich Alkohol und 71,0% (115) trinken regelmäßig Alkohol.

Schaut man sich die Gruppen genauer an, wird in der Gruppe der HPV negativen Patienten signifikant mehr Alkohol konsumiert ($p=0,002$). In dieser Gruppe trinken 75,9% (104) regelmäßig Alkohol. Gelegentlich trinken 10,2% (14) der HPV negativen Patienten Alkohol und 13,9% (19) dieser Gruppe trinken keinen Alkohol. In der Gruppe der HPV positiven Patienten fallen diese Zahlen deutlich anders aus. Nur 35,3% (6) trinken regelmäßig Alkohol, 23,5% (4) trinken gelegentlich Alkohol und 41,2% (7) trinken keinen Alkohol.

Tabelle 2: Alkoholkonsum bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt im Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV pos= Humane Papillomaviren positiv; gelegentl.= gelegentlich; regelm.= regelmäßig; p= Signifikanzwert; Chi²- Test= Chi-Quadrat- Test

Gruppe	Alkoholkonsum			Chi ² -Test
	kein	gelegentl.	regelm.	
gesamt	28 (17.3 %)	19 (11.7 %)	115 (71.0 %)	
davon HPV neg	19 (13.9 %)	14 (10.2 %)	104 (75.9 %)	Chi ² = 12.465
davon HPV pos	7 (41.2 %)	4 (23.5 %)	6 (35.3 %)	p = 0.002

Der Nikotinkonsum ist auf die beiden Gruppen ähnlich verteilt wie der Alkoholkonsum. Im Durchschnitt haben die Raucher der HPV negativen Gruppe 39,3 PY, die Raucher der HPV positiven Gruppe 26,4 PY.

Von den Patienten der HPV negativen Gruppe rauchen 88,9% (144) regelmäßig, 1,9% (3) gelegentlich und 9,3% (15) sind Nichtraucher.

Bei den HPV positiven Patienten sind 50,0% Nichtraucher (9) und 44,4% (8) rauchen regelmäßig. Der Unterschied zu der HPV negativen Gruppe ist signifikant, in der HPV positiven Gruppe wird deutlich seltener geraucht (p= 0,040).

Tabelle 3: Nikotinkonsum bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt im Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV pos= Humane Papillomaviren positiv; gelegentl.= gelegentlich; regelm.= regelmäßig; p= Signifikanzwert; Chi²- Test= Chi-Quadrat- Test; PY= Pack Years

Gruppe	Nikotinkonsum				Menge (PY; nur bei Rauchern)		
	kein	gelegentl.	regelm.	Chi ² -Test	Mittelwert	Std.abw.	t-Test
gesamt	28 (14.7 %)	4 (2.1 %)	159 (83.2 %)		38.6	16.050	
davon HPV neg	15 (9.3 %)	3 (1.9 %)	144 (88.9 %)	Chi ² = 24.956	39.3	16.034	t(149) = 2.076
davon HPV pos	9 (50.0 %)	1 (5.6 %)	8 (44.4 %)	p < 0.001	26.4	15.197	p = 0.040

Die untersuchten Tumore befanden sich zum Großteil im Oropharynx (41,7%), im Larynx (23,6%) und im Hypopharynx (17,3 %). Weitere 9,2% waren in der Mundhöhle lokalisiert und 8,1% in anderen Regionen.

Vergleicht man die HPV positive Gruppe nun im Bezug auf die Lokalisation des Tumors mit der HPV negativen Gruppe, befinden sich signifikant mehr HPV positive Tumore im Oropharynx (82,9% der HPV positiven PECA) als HPV negative (34,2% der HPV negativen PECA).

Die restlichen 17% waren auf die anderen Lokalisationen verteilt, siehe Tabelle 4.

Tabelle 4: Lokalisation der Tumore der Patienten mit Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt im Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

Hypoph. = Hypopharynx; HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV positiv= Humane Papillomaviren positiv; p= Signifikanzwert; Chi²- Test= Chi-Quadrat- Test

Gruppe	Tumorlokalisation					Chi ² -Test
	Mundhöhle	Oropharynx	Hypoph.	Larynx	andere	
gesamt	25 (9.2 %)	113 (41.7 %)	47 (17.3 %)	64 (23.6 %)	22 (8.1 %)	
davon HPV neg	24 (11.0 %)	75 (34.2 %)	43 (19.6 %)	58 (26.5 %)	19 (8.7 %)	Chi ² = 35.348
davon HPV pos	1 (2.4 %)	34 (82.9 %)	2 (4.9 %)	1 (2.4 %)	3 (7.3 %)	p < 0.001

Als nächstes wurde verglichen, welche Therapie bei den HPV positiven bzw. bei den HPV negativen Tumoren gewählt wurde.

Es gab drei Optionen:

1. keine Therapie, wobei eine reine Neck Dissection ebenfalls als keine Therapie gewertet wurde
2. operative Entfernung des Tumors
3. Radiochemotherapie
4. operative Entfernung des Tumors in Kombination mit Radiochemotherapie.

In der statistischen Auswertung wurde nicht zwischen neoadjuvanter und adjuvanter Radiochemotherapie unterschieden. Beim Vergleich der beiden Gruppen wurde bei den HPV positiven Tumoren signifikant öfter die Kombination aus Operation und Radiochemotherapie angewandt, als in der HPV negativen Gruppe (p=0,045). Dies war bei 53,7% der HPV positiven PECA der Fall. Die Bestrahlung erfolgte im Mittelwert mit 63,4Grey (Gy) in der Tumorregion. Diese Therapie wurde in 31,5% der Fälle auch bei den HPV negativen PECA angewandt, mit einer durchschnittlichen Bestrahlung von 64Gy.

Die HPV negativen PECA wurden allerdings am häufigsten mit einer alleinigen Radiochemotherapie behandelt. Dies war bei 42,0% der Fall. Bei den HPV positiven fielen lediglich 29,3% in diese Kategorie.

Die Chemotherapie wurde in den meisten Fällen, sowohl in der HPV positiven, als auch in der HPV negativen Gruppe mit Cisplatin durchgeführt (siehe Tabelle 8).

Eine reine operative Entfernung des Tumors erfolgte bei 23,7% der HPV negativen PECA und bei 17,1% der HPV positiven PECA.

Insgesamt unterschieden sich die HPV positiven und HPV negativen Gruppen nicht signifikant in den Details der gewählten Therapie.

Tabelle 5: Verteilung der durchgeführten Therapien bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt im Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV positiv= Humane Papillomaviren positiv; p= Signifikanzwert
 OP= operative Tumorentfernung; RCT= Radiochemotherapie; OP+ RCT= operative Tumorentfernung und Radiochemotherapie; Chi²- Test= Chi-Quadrat- Test

Gruppe	Therapie				Chi ² -Test
	keine	nur OP	nur RCT	OP + RCT	
gesamt	7 (2.6 %)	65 (24.0 %)	107 (39.5 %)	92 (33.9 %)	
davon HPV neg	6 (2.7 %)	52 (23.7 %)	92 (42.0 %)	69 (31.5 %)	Chi ² = 8.044
davon HPV pos	0 (0.0 %)	7 (17.1 %)	12 (29.3 %)	22 (53.7 %)	p = 0.045

Tabelle 6: Art der Radiotherapie, die bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003- 2013, durchgeführt wurde

HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV pos= Humane Papillomaviren positiv; Chi²- Test= Chi-Quadrat-Test; p= Signifikanzwert

Gruppe	Art der Radiotherapie			Chi ² -Test
	keine	nur Tumorregion	Tumor- und Lymphabflussregion	
gesamt	76 (28.0 %)	23 (8.5 %)	172 (63.5 %)	
davon HPV neg	61 (27.9 %)	20 (9.1 %)	138 (63.0 %)	Chi ² = 1.586
davon HPV pos	8 (19.5 %)	3 (7.3 %)	30 (73.2 %)	p = 0.453

Tabelle 7: Stärke der Radiotherapie in Grey (Gy), bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003- 2013, die eine Radiotherapie erhalten haben
 HPV pos= Humane Papillomaviren positiv; HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; Std.abw.= Standardabweichung; p= Signifikanzwert

Gruppe	Stärke der Radiotherapie (Gy; nur für Patienten mit Radiotherapie)					
	Tumorregion			Lymphabflussregion		
	Mittelwert	Std.abw.	t-Test	Mittelwert	Std.abw.	t-Test
gesamt	63.9	9.369		54.9	8.475	
davon HPV neg	64.0	10.107	t(187) = 0.318	54.5	9.039	t(165) = 1.384
davon HPV pos	63.4	5.140	p = 0.751	56.8	5.261	p = 0.168

Tabelle 8: Art der ersten Chemotherapie bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt im Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003- 2013
 HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV pos= Humane Papillomaviren positiv; Chi²- Test= Chi-Quadrat- Test; p= Signifikanzwert

Gruppe	Art der Chemotherapie (nur erstes Therapeutikum)					
	keine	Cysplatin	Carboplatin	Fluoruracil	Cetuximab	Chi ² -Test
gesamt	132 (48.7 %)	106 (39.1 %)	25 (9.2 %)	6 (2.2 %)	2 (0.7 %)	
davon HPV neg	107 (48.9 %)	85 (38.8 %)	20 (9.1 %)	5 (2.3 %)	2 (0.9 %)	Chi ² = 1.948
davon HPV pos	16 (39.0 %)	20 (48.8 %)	4 (9.8 %)	1 (2.4 %)	0 (0.0 %)	p = 0.745

3.2. Prognose

In der Prognose konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Auftretens von Rezidiven, Zweitkarzinomen oder Metastasen, sowie der Überlebenszeit in Relation zum Infektionsstatus nach der Erstdiagnose gezeigt werden.

Rezidive, Zweitkarzinome und Metastasen wurden in der statistischen Auswertung für die Berechnung der Prognose zusammengefasst. Mindestens eines dieser Ereignisse trat bei 26,5% (58) der HPV negativen Tumorpatienten auf. 73,5% (161) dieser Gruppen hatten keines dieser Ereignisse. In der HPV positiven Gruppe fiel diese Auswertung etwas positiver aus. Nur 14,6% (6) der HPV positiven Tumorpatienten hatten mindestens eines dieser Ereignisse in ihrer Krankengeschichte. Dementsprechend hatten 85,4% (35) keines dieser Ereignisse

in ihrer Krankengeschichte. Dieser Unterschied war allerdings statistisch nicht signifikant ($p = 0,106$).

Tabelle 9: Auftreten von Rezidiven, Zweitkarzinomen oder Metastasen bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt, nach erfolgter Therapie, im Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003- 2013

HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV pos= Humane Papillomaviren positiv; Chi²- Test= Chi-Quadrat- Test; p= Signifikanzwert

Gruppe	Rezidive, Zweitkarzinome oder Metastasen		Chi ² -Test
	nein	ja	
gesamt	204 (75.3 %)	67 (24.7 %)	
davon HPV neg	161 (73.5 %)	58 (26.5 %)	Chi ² = 2.613
davon HPV pos	35 (85.4 %)	6 (14.6 %)	p = 0.106

Bei der Überlebensanalyse zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den HPV positiven und HPV negativen Patienten ($p = 0,335$) (s. Tabelle 10). Die HPV positiven Patienten scheinen aber im Trend besser zu überleben, als die HPV negativen Patienten. Insgesamt sind von den HPV negativen Patienten 32,0% (70) verstorben. Von den HPV positiven Patienten hingegen nur 24,4% (10) verstorben. Überlebt haben bei den HPV negativen Patienten 68,0% (149), von den HPV positiven Patienten haben immerhin 75,6% (31) überlebt.

Die Überlebenszeit in Tagen betrug bei den verstorbenen HPV negativen Patienten im Mittelwert 715,3 Tage nach der Erstdiagnose. Die HPV positiven Patienten hatten eine durchschnittliche Überlebenszeit von 802,8 Tagen.

Tabelle 10: Überleben der Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt im Bundeswehrkrankenhaus Ulm, die von 2003 bis 2013 behandelt wurden, zum Stichtag 31.03.2013, sowie die Überlebenszeit in Tagen bei verstorbenen Patienten zum Stichtag 31.03.2013
 HPV neg= Humane Papillomaviren negativ; HPV pos= Humane Papillomaviren positiv; Chi²- Test= Chi-Quadrat- Test; p= Signifikanzwert; Std.Abw.= Standardabweichung

Gruppe	Überleben			Überlebenszeit (Tage; nur bei Verstorbenen)		
	lebt	verstorben	Chi ² -Test	Mittelwert	Std.abw.	t-Test
gesamt	188 (69.4 %)	83 (30.6 %)		712.9	763.15	
davon HPV neg	149 (68.0 %)	70 (32.0 %)	Chi ² = 0.930	715.3	795.72	t(78) = 0.333
davon HPV pos	31 (75.6 %)	10 (24.4 %)	p = 0.335	802.8	623.26	p = 0.740

Es wurde eine Überlebensfunktion, Kaplan- Meier- Kurve, angefertigt. Die Analyse mit dem Log-Rank-Test bestätigt die oben getroffene Aussage, dass die Unterschiede in der Überlebenszeit nicht signifikant sind (Chi² = 1.629, p = 0.202).

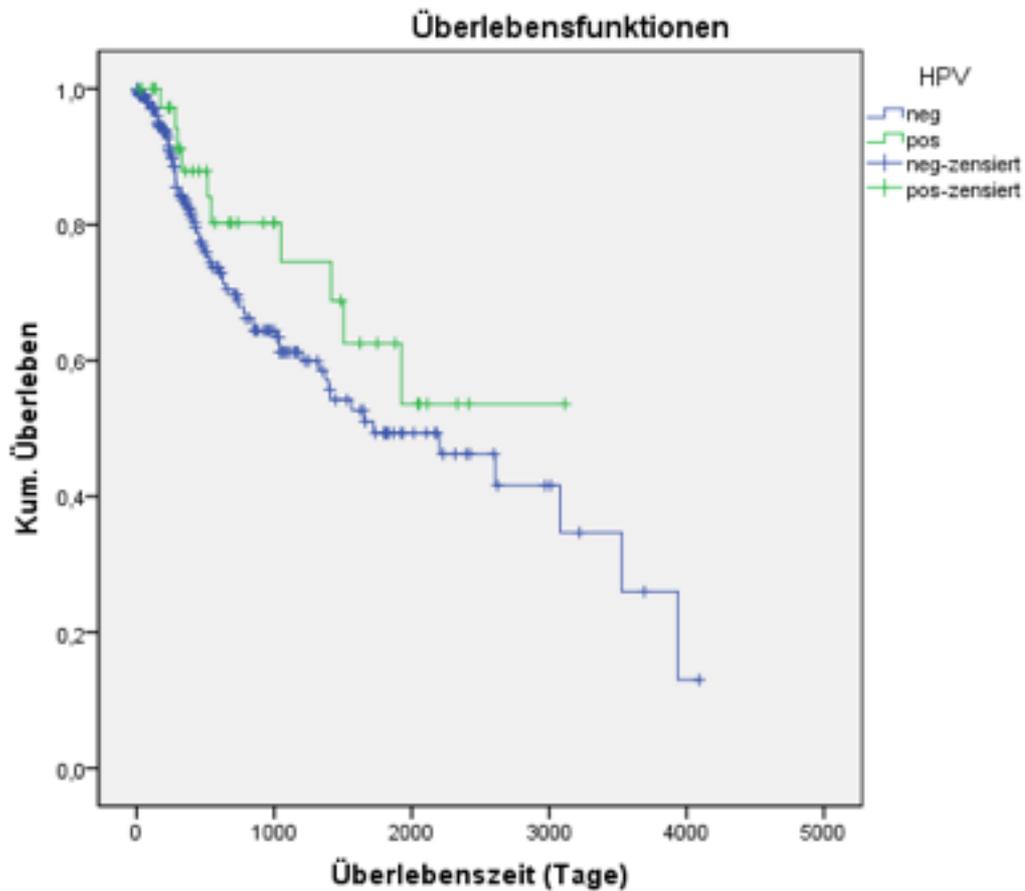


Abbildung 1: Kaplan- Meier- Kurve: Vergleich der Überlebenszeit Humane Papillomaviren positive und Humane Papillomaviren negative Tumoren im oberen Aerodigestivtrakt von Patienten aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

Kum.Überleben= kumulatives Überleben

HPV= Humane Papillomaviren

neg= negativ

pos= positiv

neg- zensiert= negativ zensiert= Humane Papillomaviren negativer Patient der bis zum Ende des Beobachtungszeitraums überlebt hat

pos- zensiert= positiv zensiert= Humana Papillomaviren positiver Patient der bis zum Ende des Beobachtungszeitraums überlebt hat

3.3. Cox- Regression

Wie bereits im Material und Methoden Teil beschrieben wurde eine schrittweise Cox- Regression durchgeführt, welche alle wichtigen Faktoren, die Einfluss auf das Überleben haben könnten berücksichtigt.

Tabelle 11: multivariable Analyse der Überlebenszeit unter Einbezug vom Humanen Papillomaviren Status, Alter und den einzelnen Therapieoptionen von Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

HPV: Humane Papillomaviren positiv

OP= operative Tumorentfernung

RCT= Radiochemotherapie

OP+RCT= operative Tumorentfernung und Radiochemotherapie

Regr.koeff.= Regressionskoeffizient

SE= Standard Error= Standardfehler

Wald= Wald Statistik

p= Signifikanzwert

Überlebenszeit	Regr.koeff.	SE	Wald	Signifikanz
HPV	0.397	0.343	1.336	p = 0.248
Alter	0.063	0.016	14.761	p < 0.001
Therapie			49.068	p < 0.001
Therapie: nur OP gegen keine	-3.972	0.647	37.704	p < 0.001
Therapie: nur RCT gegen keine	-2.398	0.552	18.900	p < 0.001
Therapie: OP + RCT gegen keine	-3.320	0.574	33.449	p < 0.001

Wie bereits beschrieben hat der HPV Status keinen signifikanten Einfluss auf das Überleben, allerdings liegt in der HPV positiven Gruppe ein Trend zum besseren Überleben vor. Von den restlichen Einflussgrößen haben lediglich das Alter und das Therapieregime einen signifikanten Einfluss auf das Überleben. Hierbei ist jede Therapie besser, als keine Therapie und dies lässt sich noch weiter differenzieren. Werden die Patienten, die keine Therapie erhalten aus der Analyse ausgeschlossen stellt sich heraus, dass die Patienten, die keine Operation erhalten, sondern nur mit Radiochemotherapie therapiert wurden, signifikant früher versterben als Patienten mit einer Operation. Diese Aussagen bestätigt der Log-Rank Test, siehe Abbildung 2 (Log-Rank-Test: $\chi^2 = 29.155$, $p < 0.001$).

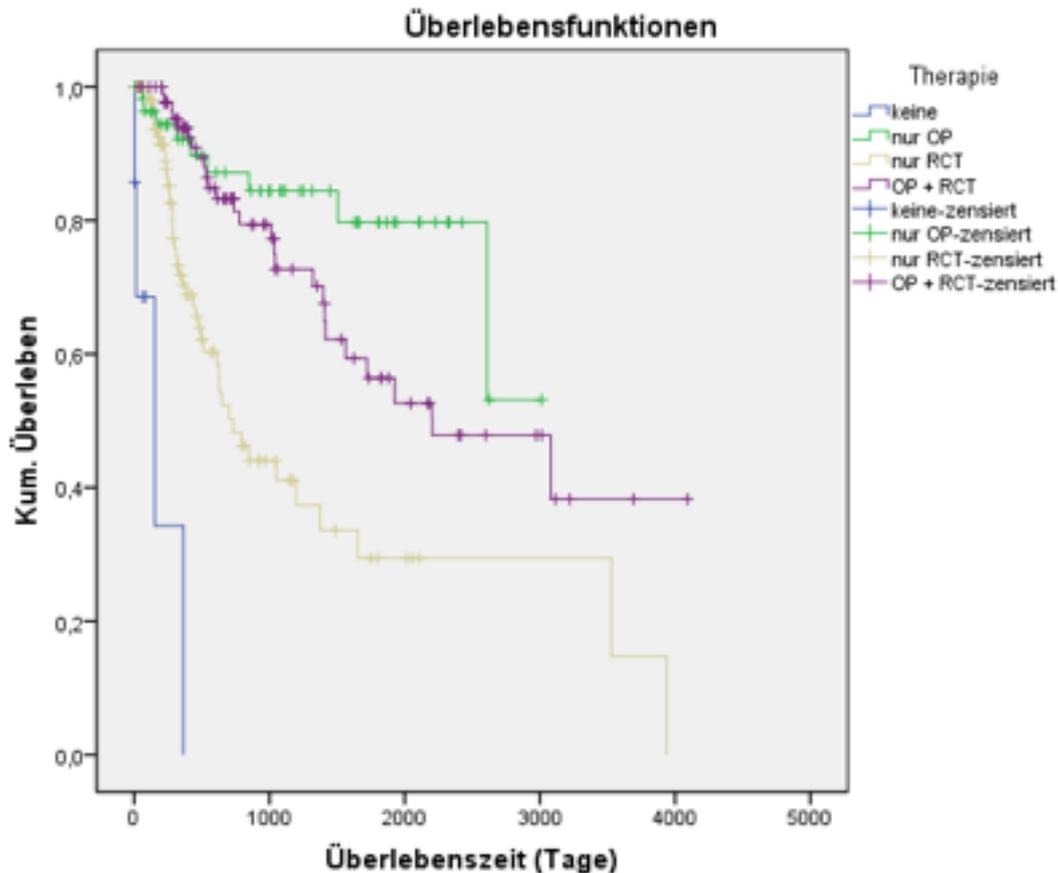


Abbildung 2 : Einfluss der Therapien auf das Überleben in Tagen, bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

Kum.Überleben= kumulatives Überleben

OP= operative Tumorentfernung

RCT= Radiochemotherapie

OP+RCT= operative Tumorentfernung und Radiochemotherapie

OP- zensiert= operative Tumorentfernung zensiert

RCT- zensiert= Radiochemotherapie zensiert

OP+ RCT zensiert= operative Tumorentfernung und Radiochemotherapie zensiert.

zensiert= Patient ist am Ende des Beobachtungszeitraums nicht verstorben

Weiterhin wurden die drei echten Therapien, nur Operation, nur Radiochemotherapie und Operation in Kombination mit einer Radiochemotherapie daraufhin untersucht, ob sich die HPV positiven Patienten hinsichtlich der anschließenden Überlebenszeit von den HPV negativen Patienten unterscheiden. Der Einfluss auf das Überleben der einzelnen Therapien stellte sich hierbei als nicht signifikant heraus.

1.) nur Operation

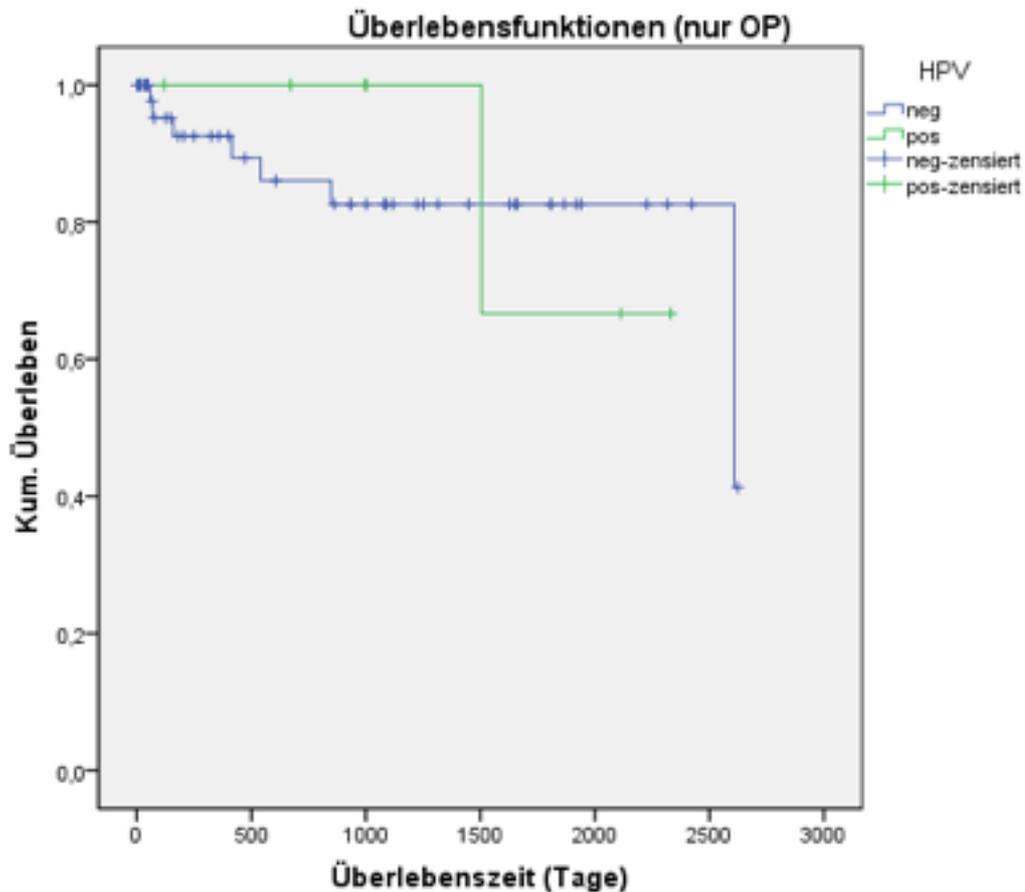


Abbildung 3: Einfluss einer alleinigen Operation auf das Überleben in Tagen bei Humanen Papillomaviren positiven und Humanen Papillomaviren negativen Tumorpatienten, mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt, aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

Kum. Überleben= kumulatives Überleben

HPV= Humane Papillomaviren

neg= Humane Papillomaviren negativ

pos= Humane Papillomaviren positiv

neg- zensiert= Humane Papillomaviren negativ zensiert

pos- zensiert= Humane Papillomaviren positiv zensiert

zensiert= Patient ist am Ende des Beobachtungszeitraums nicht verstorben

Unter den Patienten, die nur operiert wurden, haben demnach alle HPV-positiven Patienten überlebt. Der Unterschied zwischen den beiden Kurven ist nicht signifikant (Log-Rank-Test: $\chi^2 = 0.021$, $p = 0.884$).

2.) nur Radiochemotherapie

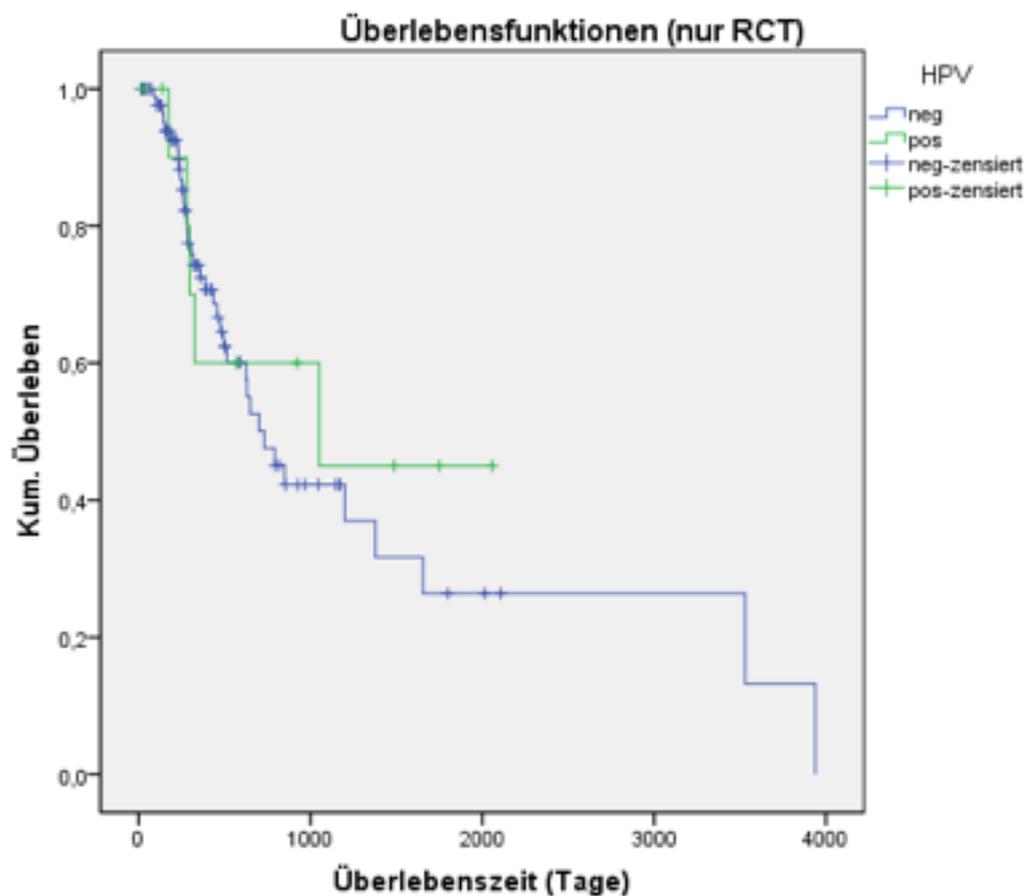


Abbildung 4: Einfluss einer alleinigen Radiochemotherapie auf das Überleben in Tagen bei Humanen Papillomaviren positiven und Humanen Papillomaviren negativen Tumorpatienten, mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt, aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

Kum. Überleben= kumulatives Überleben

HPV= Humane Papillomaviren

neg= Humane Papillomaviren negativ

pos= positiv

neg- zensiert= Humane Papillomaviren negativ zensiert

pos- zensiert= Humane Papillomaviren positiv zensiert

zensiert= Patient ist am Ende des Beobachtungszeitraums nicht verstorben

p= Signifikanzwert

Chi²= Chi- Quadrat- Wert

Der Unterschied zwischen den beiden Kurven ist nicht signifikant (Log-Rank-Test: Chi² = 0.350, p = 0.554).

3.) Operation in Kombination mit einer Radiochemotherapie

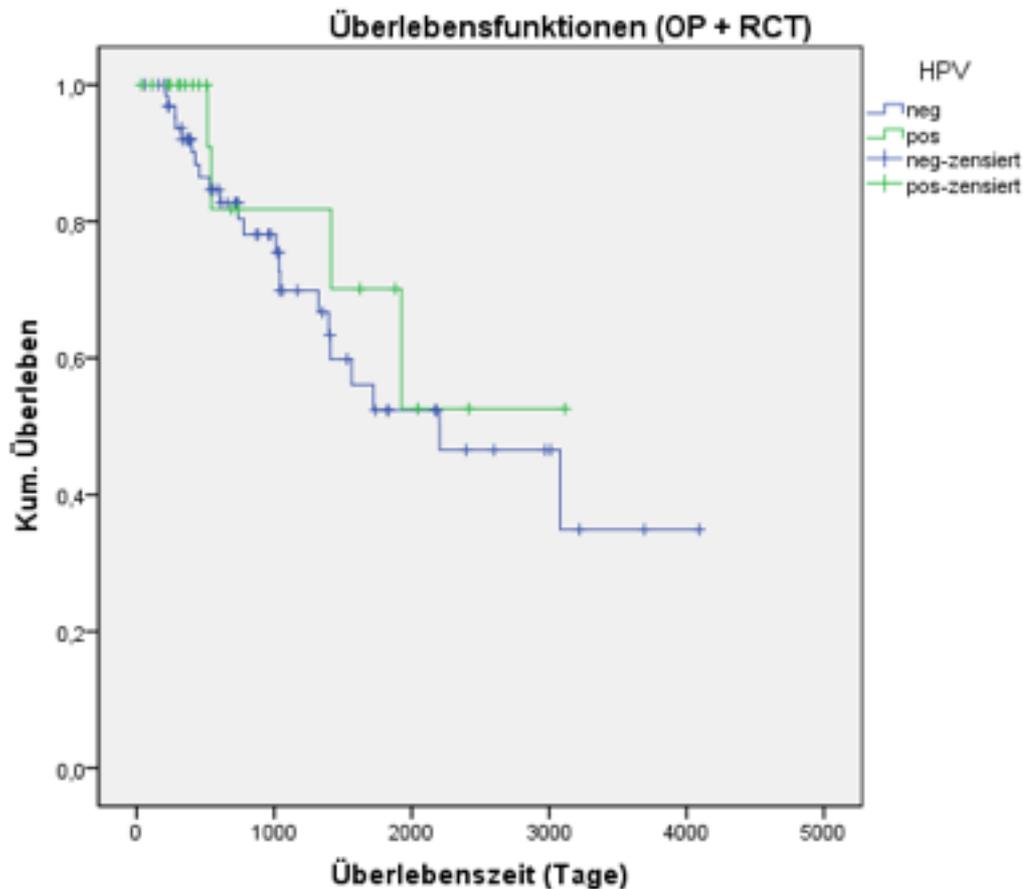


Abbildung 5: Einfluss einer kombinierten Therapie auf das Überleben in Tagen von Humanen Papillomaviren positiven und Humanen Papillomaviren negativen Tumorpatienten, mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt, aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003 bis 2013

Kum. Überleben= kumulatives Überleben

HPV= Humane Papillomaviren

neg= Humane Papillomaviren negativ

pos= Humane Papillomaviren positiv

neg- zensiert= Humane Papillomaviren negativ zensiert

pos- zensiert= Humane Papillomaviren positiv zensiert

zensiert= Patient ist am Ende des Beobachtungszeitraums nicht verstorben

p= Signifikanzwert

Chi²= Chi- Quadrat- Wert

Der Unterschied zwischen den beiden Kurven ist nicht signifikant (Log-Rank-Test: Chi² = 0.627, p = 0.428).

Geschlecht, Tumorlokalisierung (Abb. 6, Log-Rank-Test: Chi² = 9.055, p = 0.060). und das Auftreten weiterer Tumore beeinflussen das Überleben ebenfalls nicht signifikant.

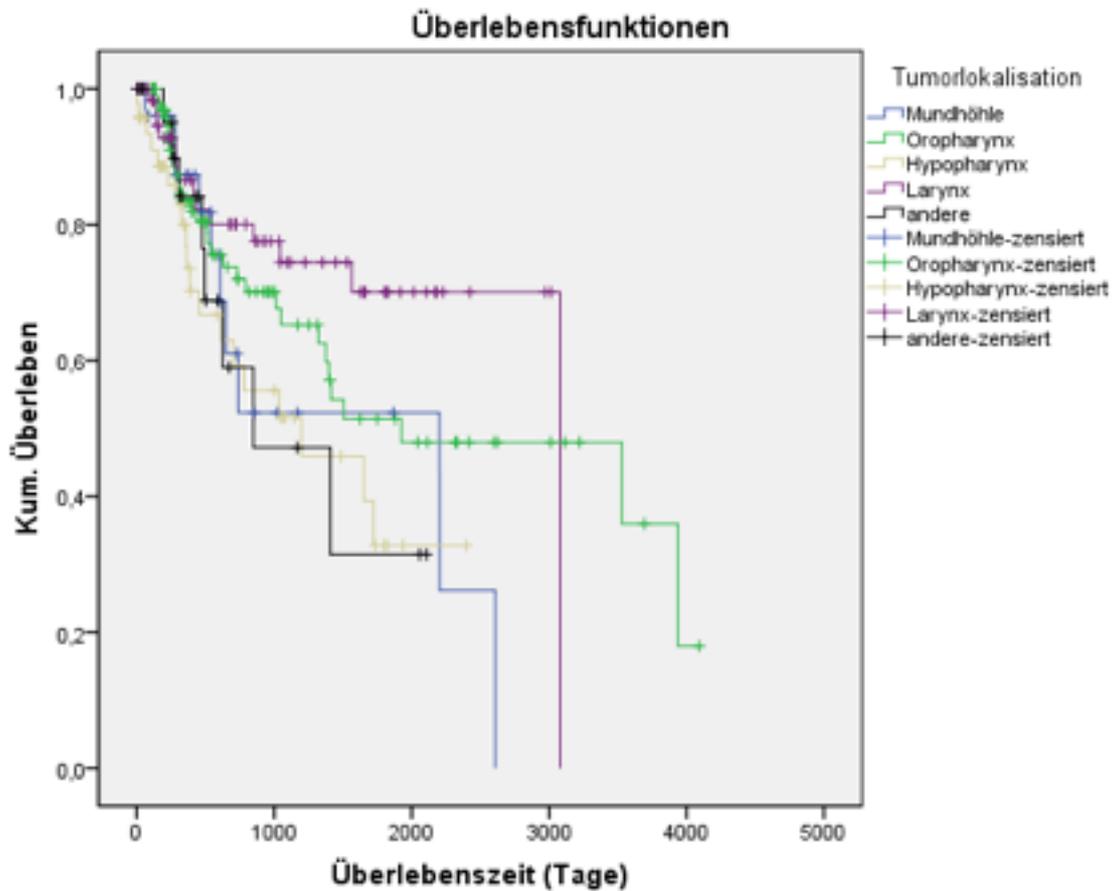


Abbildung 6: Einfluss der Tumorlokalisation auf die Überlebenszeit in Tagen bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt aus dem Bundeswehrkrankenhaus Ulm von 2003- 2013

Kum. Überleben= kumulatives Überleben

p= Signifikanzwert

Chi²= Chi- Quadrat- Wert

Um den Einfluss von Alkohol- und Nikotinkonsum zu testen, können beide als zusätzlicher Faktor in das Modell mit HPV, Alter und Therapie aufgenommen werden. Hier zeigt sich, dass beide Variablen keinen signifikanten Einfluss auf die Überlebenszeit haben.

4. Diskussion

Um die Fragestellung dieser Arbeit, ob HPV positive Karzinome im oberen ADT ein besseres Therapieansprechen haben, als HPV negative Karzinome im oberen ADT beantworten zu können, wurden von n= 271 Patienten Daten retrospektiv erfasst und ausgewertet.

Hierbei zeigte sich, dass die Gesamtaussage der gesammelten Daten dem Stand der Literatur entspricht. Allerdings sind einige Aussagen aufgrund einer zu geringen Patientenzahl, insbesondere der HPV positiven Tumorpatienten, kritisch zu betrachten.

Von den 271 untersuchten Patienten waren lediglich 41 HPV positiv. Diese recht kleine Kohorte wird in der statistischen Auswertung mit 219 HPV negativen Patienten verglichen.

Somit sind die Aussagen über die HPV negative Gruppe natürlich viel genauer, als die Aussagen über die HPV positive Gruppe in dieser Untersuchung. Diese Tatsache muss bei allen Ergebnissen der Auswertung bedacht werden. Nichts desto trotz kann ein Trend erkannt werden, der dem bisheriger Studien folgt.

Anamnese

Patienten, die ein HPV positives PECA im oberen ADT haben sind vor allem junge Männer mit einem durchschnittlichen Alter von weniger als 52 Jahren. [26] Dies konnte durch die in dieser Untersuchung vorliegenden Daten nur teilweise bestätigt werden. Die Patienten der HPV positiven Tumorgruppe sind im Durchschnitt zwar jünger als HPV negative Tumorpatienten, jedoch nicht signifikant. Der Unterschied des Durchschnittsalters liegt lediglich bei 0,6 Jahren. Das durchschnittliche Alter bei HPV negativen Kopf- Hals- Karzinomen liegt hingegen bei 64 Jahren. [26] In dieser Studie hat die HPV negative Patientengruppe ein durchschnittliches Alter von 60,1 Jahren. Somit sind die HPV negativen Patienten sogar jünger als die HPV positiven Patienten. Wie bereits geschildert, sind diese Ergebnisse allerdings nicht signifikant.

Dasselbe trifft auf die Geschlechterverteilung zu. In den erfassten Daten sind mehr männliche Patienten HPV positiv als Frauen.

In der Literatur liegt ein genereller Trend vor, dass Patienten, die ein HPV positives PECA im oberen ADT haben Nichtraucher sind oder zumindest weniger rauchen, als Patienten mit einem HPV negativen PECA im oberen ADT. [14]

Es treten Fälle auf, in denen die Patienten ein HPV induziertes Karzinom haben, zusätzlich starke Raucher sind und regelmäßig Alkohol konsumieren. Jedoch ist die Assoziation zwischen, speziell dem HPV Typ 16 und einem Oropharynxkarzinom, höher bei Patienten, die Nichtraucher sind und keinen Alkohol trinken, als bei denen, die Raucher sind und regelmäßig Alkohol trinken. [12]

Tabak- und Alkoholgenuss gelten somit als ein weiterer Risikofaktor, der sich auf die Prognose auswirkt. In der HPV induzierten Karzinogenese wirken sie jedoch nicht als Cofaktor. [6] Insgesamt ist ein Trend in die Richtung zu beobachten, dass Patienten mit HPV positiven Kopf- Hals- Karzinomen Nichtraucher sind oder nur selten rauchen. [14] Es steigt nach Berechnungen das Risiko zu sterben mit jedem Pack Year um 1% sowohl bei HPV negativen, als auch bei HPV positiven PECA im oberen ADT. [1]

Diese Aussage konnte mit den erfassten Daten bestätigt werden. Die Raucher der HPV negativen Tumorpatienten haben im Durchschnitt 12,9 PY mehr, als die Raucher der HPV positiven Tumorpatienten. Außerdem sind 50% der HPV positiven Tumorpatienten Nichtraucher, wohingegen 88,9% der HPV negativen Tumorpatienten regelmäßig rauchen. Ebenso wird in der HPV negativen Gruppe signifikant mehr Alkohol getrunken. Nicht optimal für die Datenauswertung ist sicherlich, dass nicht bei allen Patienten genau erfasst wurde wieviel sie geraucht haben. In diesen Fällen wurde mit einem durchschnittlichen Wert gerechnet.

In den meisten Studien zeigt sich, wie auch in dieser Studie, dass vor allem der Oropharynx von HPV positiven PECA betroffen ist [24], andere Lokalisationen sind deutlich seltener von HPV Infektionen betroffen. [15] Laut Klassemann et al. haben sogar 90% der Karzinome im Oropharynx eine HPV Infektion. [13] Hier liegt ebenfalls eine Schwäche in der Arbeit, da bei Karzinomen retrospektiv nicht unterschieden werden kann, ob sie durch HPV oder durch Tabak-/Alkoholkonsum entstanden sind.

In dieser Studie waren insgesamt 82,9% der HPV positiven PECA im Oropharynx lokalisiert. Lediglich 4,9% im Hypopharynx und jeweils 2,4% in der Mundhöhle und im Larynx. Auch hier ist die Anzahl gering, aber die Häufung im Oropharynx ist signifikant. Im Vergleich sind die Lokalisationen bei HPV negativen PECA im oberen ADT deutlich anders. Im Oropharynx finden sich nur 34,2%, im Larynx

26,5%, im Hypopharynx 26,5% und in der Mundhöhle 11% der HPV negativen PECA .

Histologische Merkmale

HPV assoziierte PECA im oberen ADT weisen keine Dysplasien im oberflächlichen Epithel oder eine signifikante klinische Keratinisierung auf. Sie wachsen lobulär, sind von Lymphozyten durchdrungen und haben eine auffällige basaloide Morphologie. Kanzerogen induzierte PECA im oberen ADT hingegen sind eher gering differenziert und verhornt. [14] Smith et al. zeigten in ihrer Studie, dass HPV assoziierte PECA zweimal so häufig die Lymphknoten befallen, wie die klassischen PECA. Außerdem wurden sie in einem späteren Stadium diagnostiziert und waren ebenfalls schlechter differenziert.[30]

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem HPV-Status und der TNM-Klasse wurde bisher noch nicht gezeigt. [14] Fakhry et al. zeigten allerdings einen Zusammenhang zwischen HPV Positivität und einem höherem Lymphknotenstatus zum Zeitpunkt der ersten Diagnose, verglichen mit HPV negativen Tumoren. [9] Das T-Stadium hingegen ist unabhängig vom HPV Status bei Kopf-Hals-Karzinomen.[27]

Allerdings ist zu lesen, dass die HPV bedingten Karzinome kleinere Primärtumore haben, als die durch Nikotin und Alkohol hervorgerufenen Karzinome. [19]

Die histologischen Daten der Patienten wurden in dieser Arbeit zwar mit erfasst, jedoch nicht detailliert untersucht.

Um auch hierzu Aussagen treffen zu können hätte man noch einen Vergleich und eine Prüfung der Signifikanz eines Unterschiedes der histologischen Daten (TNM und Grading) von den HPV positiven und den HPV negativen Karzinomen durchführen können. Dies wurde hier nicht gemacht, da der Schwerpunkt der Arbeit auf das Therapieansprechen gelegt wurde.

Nachweis Humaner Papillomaviren

Zum Nachweis Humaner Papillomaviren hat man sich die Vorgehensweise bei Zervixkarzinom zum Vorbild genommen und eine in Formalin fixierte, in Paraffin gebadete Gewebeprobe auf HPV untersucht. Bisher erfolgte die HPV Detektion, mittels einer klassischen PCR (Polymerase chain reaction) Analyse, welche höchst sensitiv ist. Allerdings kann man anhand des Ergebnisses einer PCR

Analyse nicht sagen, ob die HPV DNA aktiv ist und somit biologisch relevant für die Karzinogenese ist. Es ist lediglich die transkriptionell aktive Form der HPV DNA biologisch und klinisch relevant, da diese Einfluss auf die Transkription der Wirtszelle nimmt. [21]

In einer Studie von Bergeron et al. wurde die alleinige Untersuchung auf HPV von zervikalen Läsionen mittels einer Hämatoxylin- Eosin- (HE) Färbung aus diesem Grund in Frage gestellt. Die Studie untersuchte, ob es zu einer höheren Sensitivität und Spezifität kommt, wenn zur Beurteilung einer zervikalen Läsion zusätzlich zur HE- Färbung eine Immunhistochemie mit einer p16INK4a Färbung angefertigt wird. Es wurden 500 HE gefärbte Präparate von 12 Pathologen beurteilt, vier Wochen später erhielten die Pathologen erneut die von ihnen untersuchten Präparate, dieses Mal allerdings in Kombination mit einem p16INK4a immungefärbtem Präparat. Das Ergebnis war eindeutig: die Anzahl nicht erkannter high grade CIN Läsionen wurde um 45% reduziert und CIN3 Fälle wurden häufiger diagnostiziert. Wobei die richtig positiven Fälle bei Kombination der Präparate in 10% häufiger erkannt wurden, falsch positive Fälle stiegen in der Kombination nur um 1% an. Die Ergebnisse der Pathologen wurden mit denen von drei Gynäkologen, deren Ergebnisse als Goldstandard festgelegt wurden, verglichen. Durch die Kombination aus HE-Färbung und p16INK4a Immunhistochemie stieg die Übereinstimmung um 31,5% an. [3]

In vielen Studien wurde eine 100%ige Korrelation zwischen transkriptionell aktiven HPV und einer p16 Überexpression gezeigt. [29] So wurde in einer klinischen Studie von Reimers et al. in 94 von 100 Kopf-Hals-Karzinomen HPV DNA gefunden und parallel eine p16 Überexpression. Lediglich zwei Karzinome waren HPV positiv und p16 negativ. Der Grund dafür war, dass beide Patienten sehr starke Raucher waren und die HPV Infektion auf dem Boden des kanzerogen hervorgerufenen Karzinoms entstanden ist. [22]

Als weitere Möglichkeit gibt es die In Situ Hybridisierung (ISH) um p16 nachzuweisen und so auf eine HPV Infektion zu schließen. [8] Die ISH ist eine molekularbiologische Untersuchung, bei der synthetisierte Nukleinsäuresonden über das System der Basenpaarung die nachzuweisende Nukleinsäure binden. Das Ganze erfolgt direkt an der zu beurteilenden Struktur. Korreliert man die Ergebnisse jedoch mit dem Gesamt- und krankheitsfreiem Überleben fallen die Zahlen etwas besser für die IHC aus. Deshalb wird sie als sensitiver bewertet. [16]

Betrachtet man die zitierten Studien kristallisiert sich die Immunhistochemie des p16 Proteins immer weiter als verlässlicher Surrogatmarker für eine HPV Infektion heraus. Sie ist sehr sensitiv für die Anwesenheit von HPV DNS, die in die Transkription der Wirtszelle eingreift, korreliert mit klinischen Untersuchungen und ist einfach in der Durchführung.[16]

Lewis et al. sowie Smeets et al. schlagen vor, bei einem Karzinom mit möglichem viralem Ursprung zunächst eine p16 Immunhistochemie durchzuführen. [29] Ist diese positiv soll ein HPV spezifischer Test, z.B. eine PCR Analyse oder eine In Situ Hybridisierung, angeschlossen werden, um das Ergebnis zu validieren. Die Reihenfolge ist aus Kostengründen so gewählt. Eine IHC ist günstiger als eine PCR Analyse und parallel sehr sensitiv. Außerdem wird so geprüft, ob die HPV-DNA in die Transkription der Wirtszelle eingreift und klinisch relevant ist. [16] Aufgrund dieser Studienlage wurde in dieser Arbeit ebenfalls zunächst eine IHC und bei positivem Ergebnis anschließend eine PCR Analyse gemacht.

Sexualverhalten

Studien belegen, dass es einen deutlichen Zusammenhang zwischen dem Sexualverhalten, der Anzahl an Sexualpartnern, dem Zeitpunkt des ersten Sexualkontaktes und einer oralen HPV Infektion gibt. Des weiteren ist dies auch ein Unterschied in der Anamnese von Patienten mit karzinogen bedingten PECA im oberen ADT und HPV positiven PECA im oberen ADT.

Der Zeitpunkt des ersten sexuellen Kontaktes ist früher gelegen [6], sie haben häufiger ihren Sexualpartner gewechselt und die HPV positiven Patienten hatten mehr Oralsexpartner, als Patienten, die ein kanzerogen induziertes PECA im oberen ADT haben. [30] Insgesamt zeigen die Ergebnisse vieler Studien diese Merkmale in der Anamnese von Patienten mit HPV positivem PECA im oberen ADT, allerdings variieren die Zahlen.

In der Case-to-Case Studie von Dahlstrom et al. hatten Patienten mit einem Oropharynxkarzinom im Schnitt 37,7 Sexpartner und 25,9 Oralsexpartner. Patienten mit einem anders lokalisierten PECA hingegen nur 9,7 Sexpartner und 4,5 Oralsexpartner. Insgesamt liegt nach dieser Studie jedoch schon ab >9 Sexpartnern und/oder >4 Oralsexpartnern ein 34-fach erhöhtes Risiko für ein Oropharynxkarzinom vor. Von den beobachteten Oropharynxkarzinomen waren 50% HPV positiv, von den anderen Kopf-Hals-PECA nur 12,5%. [7]

Im Vergleich wurde von Schwartz et al. gezeigt, dass Patienten mit HPV positiven PECA im oberen ADT ≥ 15 Sexualpartner im Leben hatten.[26]

Bei Furniss et al. zeigte sich für Patienten mit >10 Oralsexpartnern ein 3,7fach erhöhtes Risiko für HPV Seropositivität und ein 12,8fach erhöhtes Risiko für HPV DNA bei Kopf-Hals- Karzinomen. [10]

D'Souza et al. zeigten ein angehobenes Risiko für eine orale HPV Infektion wenn >10 Oralsexpartner und >25 Vaginalverkehrspartner, sowie aktueller Nikotingenuss anamnestisch erhoben wurden. [5] Hier muss in Betracht gezogen werden, dass der Zusammenhang zur malignen Entartung durch eine HPV Infektion nicht aufgezeigt wird. Zusätzlich wurde gezeigt, dass das Risiko für eine orale HPV Infektion mit jedem Jahr ab dem 30.Lebensjahr um 6% abnimmt. [5]

Insgesamt liegt also ein eindeutiger Tenor in der Wissenschaft vor, dass viele Sexualpartner und/oder Oralsexpartner, junges Lebensalter und ein geringer Tabak- und/oder Alkoholkonsum in Zusammenhang mit HPV Typ 16 positiven PECA im Oropharynx stehen.

Das Sexualverhalten der untersuchten Patienten wurde in dieser Studie nicht untersucht, da dies aufgrund des Studienaufbaus nicht möglich war. Die meisten Daten wurden bereits vor Beginn der Studie in den Patientenakten erfasst und das Sexualverhalten war kein Bestandteil davon. Für zukünftige Studien sollte dies anders gehandhabt werden um fundiertere Aussagen zur Infektionsquelle treffen zu können.

Prognose und Therapieansprechen

In dieser Studie wurden die vorgenommenen Therapien im Hinblick auf die Überlebensprognose untersucht. Es stellte sich heraus, dass die HPV positiven Tumorpatienten eine bessere Prognose haben, sofern sie operiert wurden. Ansonsten zeigte sich kein Unterschied im Therapieansprechen, sowohl im Vergleich der Therapien miteinander, als auch im Vergleich der HPV positiven mit der HPV negativen Gruppe. Die vorhandenen Studien haben zwar untersucht welche Therapien bei PECA im oberen ADT mit welchem Erfolg durchgeführt werden, aber ohne einen Unterschied zwischen HPV positiven und HPV negativen PECA im oberen ADT zu machen.

Ang et al. haben eine Studie zur Prognose von PECA im oberen ADT mit positiven oder negativen HPV Status vorgenommen. Hier wurde untersucht ob eine

beschleunigte Radiotherapie in Kombination mit einer Cysplatintherapie eine bessere Prognose bei PECA im oberen ADT bewirkt, als eine standardisierte Radiotherapie plus Cysplatintherapie. Ebenso wurde eine Prognose für die HPV positiven und HPV negativen Karzinome berechnet, allerdings nicht auf die unterschiedlichen Therapieregime bezogen.

In der genannten Studie weisen die HPV positiven PECA im oberen ADT eine signifikant bessere Gesamtprognose auf, als die HPV negativen PECA im oberen ADT. Erstere haben ein um 51% verringertes Rezidivrisiko. Dies wurde ebenfalls in einer Kaplan Meier Analyse untersucht.

Außerdem unterscheiden sich die drei-Jahresprognosen der beiden Hauptgruppen signifikant.

In der multivariablen Analyse zeigte sich für HPV positive PECA im oberen ADT ein um 58% verringertes Sterberisiko und ein um 51% verringertes Rezidivrisiko im Vergleich zu HPV negativen PECA im oberen ADT. Dies bestätigt auch eine Studie von Sedaghat et al. . [27] Ang et al. hatten im Vergleich zu dieser Untersuchung eine viel höhere Patientenzahl (433), von denen die Mehrzahl HPV positiv war (63,8%). Bezogen auf das Therapieregime ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für die Prognose. [1]

In dieser Studie wurde untersucht welche Therapie insbesondere bei den HPV positiven PECA im oberen ADT eine bessere Prognose bewirkt. Zwar konnten keine signifikanten Ergebnisse festgestellt werden, allerdings ist es definitiv so, dass jede Therapie besser ist als keine. Bekamen die Patienten eine alleinige Radiochemotherapie verstarben sie signifikant früher als die Patienten, die eine Operation oder Operation plus Radiochemotherapie erhielten.

Hierbei ist kritisch zu hinterfragen woran es lag das die Patienten nur eine Radiochemotherapie erhalten haben. Wie bereits oben erwähnt wurde in dieser Arbeit das Therapieansprechen nicht im Bezug auf die TNM Klassifikation des Tumors untersucht. Es wäre also naheliegend, dass vor allem die inoperablen Tumore nur mit einer Radiochemotherapie behandelt wurden, wodurch aus der allgemeinen Situationen des Patienten bereits eine schlechtere Prognose seit der Diagnose bestand.

Das der HPV Status die Hauptdeterminante ist um eine Gesamtüberlebensprognose zu stellen, gefolgt von der Anzahl von Pack-Years,

dem N- Stadium bei HPV positiven, bzw. dem T-Stadium bei HPV negativen Tumoren zeigte eine rekursive Berechnung in einer Studie von Sedaghat et al.. Hier wurde auch gezeigt, dass das Risiko auch bei HPV positiven Karzinomen für Nah- oder Fernrezidive und Tod infolge der Erkrankung erhöht ist, wenn die Tumorformel einen hohen T-Wert hat. [27] Zwar haben HPV positive PECA im oberen ADT häufiger eine Tumorformel mit $N > 0$, dies wirkt sich aber nicht auf die Prognose aus. [32]

Laut einer Studie von van Haring et al. von 2008 haben 13% der Patienten mit einem Mundhöhlen- oder Oropharynxkarzinom nach 5 Jahren ein metachrones Zweitkarzinom. Nach 10 Jahren sind es bereits 21 %. Diese waren zumeist im oberen Aerodigestivtrakt oder in der Lunge lokalisiert. Aufgrund dessen sollten Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom im oberen Aerodigestivtrakt 10 Jahre in ein regelmäßiges Recall eingebunden werden.

Im Mittel wurde nach 2,6 Jahren ein metachrones Zweitkarzinom diagnostiziert. In Abhängigkeit von der Lokalisation wurden im Mittel nach 2,5 Jahren ein Zweitkarzinome in der Mundhöhle und dem Oropharynx entdeckt, nach 3,4 Jahren in Pharynx, Larynx und Oesophagus, nach 2,1 Jahren in der Trachea und der Lunge. Alle anderen metachronen Zweitkarzinome wurden nach 3,7 Jahren entdeckt.

Für Patienten mit einem Oropharynxkarzinom als Primärtumor war die Prognose am schlechtesten. Viele bekamen ein synchrones und anschließend ein metachrones Zweitkarzinom, was daran liegen könnte, dass diese Patienten nur bestrahlt wurden und der Primärtumor nicht rezidiert wurde. Allerdings unterscheidet diese Studie nicht zwischen HPV positiven und HPV negativen Tumoren. [11]

Im untersuchten Patientenkollektiv wurde kein signifikanter Unterschied in der Prognose, bezogen auf Zweitkarzinome, Metastasen und Rezidive zwischen der HPV positiven und der HPV negativen Gruppe festgestellt. Aber auch hier liegt ein Trend für ein geringeres Risiko für Zweitkarzinome, Rezidive und Metastasen vor. Der Anteil der HPV positiven Patienten, die erneut in einer dieser Formen erkrankten ist deutlich geringer als der, der HPV negativen Patienten.

Wie bereits oben erwähnt sind die Fallzahlen der HPV positiven PECA in dieser Untersuchung zu gering, um sie sinnvoll mit größer angelegten Studien zu vergleichen. Die ermittelten Daten gehen allerdings in dieselbe Richtung und bezogen auf das Therapieansprechen von HPV positiven und HPV negativen PECA im oberen ADT zeigt diese Studie, dass es einen klaren Trend gibt, dem zukünftige Studien folgen sollten. Es mangelt hier lediglich an der statistische Aussagekraft. Die HPV positiven Patienten überleben im Trend besser, als die HPV negativen Patienten. Sie leben länger, haben seltener Rezidive, Zweitkarzinome oder Metastasen und überlebten immer, sofern sie operiert wurden. Obwohl diese Unterschiede nicht signifikant sind, ist, mit Blick auf den Stand der Wissenschaft, davon auszugehen, dass die Ergebnisse bei einer höheren Fallzahl, insbesondere an HPV positiven Patienten, aussagekräftiger ausfallen würden und hieraus Rückschlüsse auf zukünftige Therapieregime von unterschiedlichen PECA im oberen ADT gezogen werden könnten.

Fazit

Schätzungen zufolge werden 70-90% der kommenden diagnostizierten Oropharynxkarzinome HPV bedingt sein. [19]

In einer Studie von Mc Carthy et al. von 2015 wurde gezeigt, dass in England die Inzidenz für HPV assoziierte PECA im OADT um 47,1% bei Männern und um 37,5% bei Frauen von 2002 bis 2011 gestiegen ist. [18] Somit ist sowohl bei Männern, als auch bei Frauen ein Anstieg der HPV induzierten PECA im oberen ADT zu verzeichnen.

Geografisch betrachtet ist die Prävalenz für ein HPV induziertes PECA im oberen ADT, sehr unterschiedlich verteilt: Schweden 90%, Niederlande 40%, Deutschland 30- 40% und in den USA 40- 80%. [3, 7, 37]

In Schweden stieg der Anteil HPV bedingter Oropharynxkarzinome von 23% im Jahr 1970 auf 57% im Jahr 1990 und 93% im Jahr 2007 an. [17] In Asien ist sie sowohl in der Mundhöhle, als auch für den Larynx größer, im Oropharynx ist sie in Nordamerika größer als in Europa. [15]

Aus diesen Gründen und den diskutierten Studienergebnissen sollte weiterhin im Bereich der HPV positiven PECA im oberen ADT geforscht werden. Nicht nur was das Therapieansprechen auf die aktuelle Standardtherapie betrifft, sondern

ebenfalls im Bereich von Therapiealternativen wie der Immuntherapie [25] [34] und generalisierten Impfungen gegen HR HPV um eine Herdenimmunität zu erzeugen. Zwar wurde dies bisher nur für HPV bedingte Karzinome im anogenitalen Bereich wissenschaftlich bestätigt, es wird aber vermutet, dass die Impfung gegen HPV auch im oberen ADT wirken kann. [31] [4]

5. Zusammenfassung

In den vergangenen Jahren wurde ein Anstieg von Plattenepithelkarzinomen im oberen Aerodigestivtrakt (PECA im oberen ADT) bei Menschen unter 50 Jahren verzeichnet, die weder einen Nikotin-, noch einen Alkoholabusus haben. Bei diesen Patienten wurde festgestellt, dass die Tumore durch Humane Papillomaviren (HPV) vom High-Risk Typ (HR Typ) hervorgerufen wurden.

Da die Tumorgenese von den Tumoren, die durch Karzinogene wie Tabak und Alkohol entstehen unterschiedlich ist, wird vermutet, dass die HPV-bedingten PECA im oberen ADT ein anderes Therapieansprechen haben. Aktuell wird in der Therapie kein Unterschied gemacht. Es scheint aber so zu sein, dass die HPV positiven PECA im oberen ADT mit einer multimodalen Therapie aus Operation, Radio-/Chemotherapie und Immuntherapie übertherapiert werden.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob ein unterschiedliches Therapieansprechen zwischen HPV positiven und HPV negativen PECA im oberen ADT vorliegt. Hierzu wurde eine Statuserhebung der Patienten der Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde im Bundeswehrkrankenhaus Ulm mit PECA im oberen ADT von 2003-2013 gemacht. Dabei wurden alle für diese Arbeit wichtigen Parameter über Patient, Tumor, Diagnose, Therapie und Verlauf erfasst. Daraus resultierte ein Patientenstamm von n= 217.

Es wurde eine multivariable Analyse der Daten gemacht. Insgesamt sind 219 Patienten HPV positiv, von denen 75,1% Männer sind und 24,4% Frauen. 41 Patienten sind HPV negativ, von denen 86,8% Männer sind und 13,2% Frauen. Das durchschnittliche Alter liegt bei 60,4 Jahren. Allerdings ist weder das Alter, noch das Geschlecht signifikant für einen HPV positiven oder HPV negativen Befund.

Signifikant ist aber der Alkohol- und Nikotinabusus in der HPV negativen Gruppe. 75,9% trinken regelmäßig Alkohol und 88,9% Rauchen regelmäßig. Die HPV positiven Karzinome treten signifikant häufiger im Oropharynx auf, als im Larynx, der Mundhöhle oder dem Hypopharynx.

In der Therapie der HPV positiven und HPV negativen Gruppe gab es kaum signifikante Unterschiede. Es stellte sich heraus, dass jede Therapie besser ist als keine und dass die HPV positiven PECA im oberen ADT signifikant häufiger eine Operation in Kombination mit einer Radiochemotherapie (RCT) erhalten haben.

Wurden die Patienten nur operiert, trat der Tod früher ein als bei den Patienten mit zusätzlicher RCT. Hier zeigte sich, dass alle HPV positiven Patienten, die operiert wurden, überlebt haben.

Allgemein zeigt sich ein Trend dorthin, dass die HPV positiven Tumore eine bessere Prognose haben. Es treten seltener Rezidive, Metastasen oder Zweitkarzinome auf. Mindestens eines dieser Ereignisse trat lediglich bei 14,6% der HPV positiven Patienten, aber bei 26,5% der HPV negativen Patienten auf. Außerdem verstarben nur 24,4% der HPV positiven Patienten und 32% der HPV negativen. Der Nikotin- und Alkoholabusus hat ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Prognose. Aber auch hier ist der Trend zu erkennen, dass die Nichtraucher und Patienten, die keinen Alkohol trinken, eine bessere Prognose haben.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Anzahl der HPV positiven Patienten in dieser Studie sehr klein im Vergleich zur Gruppe der HPV negativen Patienten ist, woraus eine geringere Aussagekraft resultiert. Dennoch entsprechen die Ergebnisse den Aussagen der aktuellen Literatur und geben eine klare Tendenz vor.

In Zukunft sollten prospektive, groß angelegte Studien gemacht werden, bei denen auch das Sexualverhalten und ein Immunstatus der Patienten erfasst wird und die Therapie der klassischen PECA im oberen ADT mit einer individuellen Therapie für HPV positive Karzinome verglichen wird.

Außerdem sollten die Allgemeinmediziner und Frauenärzte intensiv über eine prophylaktische Impfung gegen HR HPV aufklären um den HPV bedingten Karzinomen im oberen ADT und der anogenitalen Region präventiv entgegen zu wirken.

Ein weiterer Baustein ist die Erforschung der molekularen Grundlagen von PECA im oberen ADT und der Testung verschiedenster Immuntherapeutika um dieses Therapieregime zu optimieren und auszuweiten.

6. Literaturverzeichnis

1. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tan PF, Westra WH, Chung CH, Jordan RC, Lu C, Kim H, Axelrod R, Silverman CC, Redmond KP, Gillison ML: Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 363: 24-35 (2010)
2. Baseman JG, Koutsky LA: The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 32: 16-24 (2005)
3. Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, Trunk MJ, Keller T, Ridder R: Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 133: 395-406 (2010)
4. Chaturvedi AK: Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head Neck Pathol* 6: 16-24 (2012)
5. D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison ML: Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 199: 1263-1269 (2009)
6. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML: Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 356: 1944-1956 (2007)
7. Dahlstrom KR, Li G, Tortolero-Luna G, Wei Q, Sturgis EM: Differences in history of sexual behavior between patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma and patients with squamous cell carcinoma at other head and neck sites. *Head Neck* 33: 847-855 (2011)
8. El-Naggar AK, Westra WH: p16 expression as a surrogate marker for HPV-related oropharyngeal carcinoma: A guide for interpretative relevance and consistency. *Head Neck* 34: 459-461 (2012)
9. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, Forastiere A, Gillison ML: Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 100: 261-269 (2008)
10. Furnier CS, McClean MD, Smith JF, Bryan J, Nelson HH, Peters ES, Posner MR, Clark JR, Eisen EA, Kelsey KT: Human papillomavirus 16 and head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 120: 2386-2392 (2007)
11. van der Haring IS, Schaapveld MS, Roodenburg JL, de Bock GH: Second primary tumours after a squamous cell carcinoma of the oral cavity or oropharynx

using the cumulative incidence method. *Int J Oral Maxillofac Surg* 38: 332-338 (2009)

12. Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P, Rajkumar T, Sridhar H, Rose B, Pintos J, Fernández L, Idris A, Sánchez MJ, Nieto A, Talamini R, Tavani A, Bosch FX, Reidel U, Sniggers PJ, Meijer CJ, Viscidi R, Muñoz N, Franceschi S: Human papillomavirus and oral cancer: The International agency for research on cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst* 95: 1772-1783 (2003)

13. Klusmann JP, Preuss SF, Speel EJ: Human papillomavirus and cancer of the oropharynx. Molecular interaction and clinical implications *HNO* 57: 113-122 (2009)

14. Klusmann JP, Weissenborn SJ, Wieland U, Dries V, Kolligs J, Jungehuelsing M, Eckel HE, Dienes HP, Pfister HJ, Fuchs PG: Prevalence, distribution, and viral load of human papillomavirus 16 DNA in tonsillar carcinomas. *Cancer* 92: 2875-2884 (2001)

15. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S: Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 467-475 (2005)

16. Lewis Jr JS: p16 immunohistochemistry as a standalone test for risk stratification in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck Pathol* 6: 75-82 (2012)

17. Mazur S, D'Souza G, Westra WH, Forastiere AA: HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol*, 11: 781-789 (2010)

18. McCarthy CE, Field JK, Rajlawat BP, Field AE, Marcus MW: Trends and regional variation in the incidence of head and neck cancers in England: 2002 to 2011. *Int J Oncol* 47: 204-210 (2015)

19. Moore KA 2nd, Mehta V: The growing epidemic of HPV-positive oropharyngeal carcinoma: A clinical review for primary care providers. *J Am Board Fam Med* 28: 498-503 (2015)

20. Preuss SF, Klusmann JP, Semrau R, Huebbers C: Update on HPV-induced oropharyngeal cancer. *HNO* 59: 1031-1037 (2011)

21. Psyrrri A, DiMaio D: Human papillomavirus in cervical and head-and-neck cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 5: 24-31 (2008)

22. Reimers N, Kasper HU, Weissenborn SJ, Stützer H, Preuss SF, Hoffmann TK, Speel EJ, Dienes HP, Pfister HJ, Guntinas-Lichius O, Klusmann JP:

- Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. *Int J Cancer* 120: 1731-1738 (2007)
23. Riechelmann H: Human papilloma virus in head and neck cancer. *Laryngorhinootologie* 89: 43-48 (2010)
24. Ritchie JM, Smith EM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang D, Klusmann JP, Turek LP, Haugen TH: Human papillomavirus infection as a prognostic factor in carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *Int J Cancer* 104: 336-344 (2003)
25. Scholar PJ, Hoffmann TK, Gauler TC, Bergmann C, Brandau S, Lang S: Immunotherapy of head and neck cancer. Current developments. *HNO* 61: 559-572 (2013)
26. Schwartz SM, Daling JR, Doody DR, Wipf GC, Carter JJ, Madeleine MM, Mao EJ, Fitzgibbons ED, Huang S, Beckmann AM, McDougall JK, Galloway DA: Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst* 90: 1626-1636 (1998)
27. Sedaghat AR, Zhang Z, Begum S, Palermo R, Best S, Ulmer KM, Levine M, Zinreich E, Messing BP, Gold D, Wu AA, Niparko KJ, Kowalski J, Hirata RM, Saunders JR, Westra WH, Pai SI, Prognostic significance of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Laryngoscope* 119: 1542-1549 (2009)
28. Singhi AD, Westra WH: Comparison of human papillomavirus in situ hybridization and p16 immunohistochemistry in the detection of human papillomavirus-associated head and neck cancer based on a prospective clinical experience. *Cancer* 116: 2166-2173 (2010)
29. Smeets SJ, Hesselink AT, Speel EJ, Haesevoets A, Snijders PJ, Pawlita M, Meijer CJ, Braakhuis BJ, Leemans CR, Brakenhoff RH: A novel algorithm for reliable detection of human papillomavirus in paraffin embedded head and neck cancer specimen. *Int J Cancer* 121: 2465-2472 (2007)
30. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Klusmann JP, Lee JH, Wang D, Haugen TH, Turek LP: Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer* 108: 766-772 (2004)
31. Syrjanen S, Termine N, Capra G, Paderni C, Panzarella V, Campisi G: Oral HPV infection: current strategies for prevention and therapy. *Curr Pharm Des* 18: 5452-5469 (2012)
32. Tribius S, Hoffmann M: Human papilloma virus infection in head and neck cancer. *Dtsch Arztebl Int* 110: -184-190 (2013)

33. Wittekindt C, Wagner S, Mayer CS, Klussmann JP: Basics of tumor development and importance of human papilloma virus (HPV) for head and neck cancer. *Laryngorhinootologie* 91: 1-26 (2012)
34. Wolf GT, Fee Jr WE, Dolan RW, Moyer JS, Kaplan MJ, Spring PM, Suen J, Kenady DE, Newman JG, Carroll WR, Gillespie MB, Freeman SM, Baltzer L, Kirkley TD, Brandwein HJ, Hadden JW: Novel neoadjuvant immunotherapy regimen safety and survival in head and neck squamous cell cancer. *Head Neck* 33:1666-1674 (2011)

Danksagung

Ich möchte mich bei Professor Dr. Kai Johannes Lorenz für die Bereitstellung des Promotionsthemas bedanken. Des weiteren danke ich Dr. Vincent Umathum für seine Unterstützung bei den histologischen Untersuchungen, so wie Privatdozent Dr. Roland Girgensohn für seine Unterstützung bei der statistischen Untersuchung der gesammelten Daten.

Außerdem bedanke ich mich bei der Johannes Gutenberg Universität Mainz für die Bereitstellung des Literaturverwaltungsprogrammes.

Mein Dank geht außerdem an die Arzthelfer/-innen der Ambulanz der HNO im BwK Ulm, meine Familie und Freunde, vielen Dank für eure Unterstützung, Motivation und Hilfe.

Lebenslauf

Persönliches

Name: Konstanze Diekmeyer

Geburtsdatum: 09.02.1990

Geburtsort: Dresden

Ausbildung

1996- 2000 Grundschule Pestalozzi, Nordhorn

2000- 2002 Orientierungsstufe Deegfeld

2002- 2009 Stadtring Gymnasium, Nordhorn

2009 Allgemeine Grundausbildung für Sanitätsoffiziere,
Offiziersschule der Luftwaffe, Fürstenfeldbruck

2009- 2014 Studium der Zahnmedizin, Johannes Gutenberg Universität
Mainz

2014- 2017 Truppenzahnärztin im Sanitätsversorgungszentrum
Stadtallendorf

04/ 2107 Leiterin Zahnarztgruppe Germersheim