

Aus der Abteilung für Chirurgie des Universitätsklinikums Rostock
der Medizinischen Fakultät der Universität Rostock
Direktor: Herr Prof. Dr. med. Ernst Klar

Titel der Arbeit:
Die Expression des Epitops Sialyl Lewis X als prognostischer Faktor
beim kolorektalen Karzinom

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Fabian Benedikt Schwarz
geboren am 25. Mai 1981 in Nürnberg

Rostock, 2009

Dekan: Prof. Dr. med. E. C. Reisinger

1. Gutachter: Prof. Dr. E. Klar - Abteilung für Allgemein-, Thorax-, Gefäß- und Transplantationschirurgie des Universitätsklinikums Rostock
2. Gutachter: Prof. Dr. Ch. Junghanß - Abteilung für Hämatologie und Onkologie des Universitätsklinikums Rostock
3. Gutachter: Prof. Dr. K. Ludwig - Klinik für Chirurgie des Klinikums Südstadt Rostock

Datum der Verteidigung: 24.11.2010

INHALTSVERZEICHNIS

Inhaltsverzeichnis	3
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	8
1. EINLEITUNG	10
1.1. Epidemiologie und histogenetische Klassifikation	10
1.2. Ätiologie und Pathogenese	11
1.2.1. Adenom-Karzinom-Sequenz und Genetik	11
1.2.2. Positive Familienanamnese	12
1.2.3. Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen	12
1.2.4. Westliche Ernährungsgewohnheiten	13
1.2.5. Weitere Risikofaktoren	14
1.3. Früherkennung und Diagnostik	15
1.3.1. Früherkennungsuntersuchungen	15
1.3.2. Endoskopie und Biopsie	17
1.3.3. Präoperatives Staging und Grading	17
1.4. Therapie	19
1.4.1. Chirurgische Resektion	19
1.4.2. Postoperatives Staging	20
1.4.3. Adjuvante Therapie des nicht-fernmetastasierten Kolonkarzinoms	20
1.4.3.1. UICC-Stadium I	20
1.4.3.2. UICC-Stadium II	21
1.4.3.3. UICC-Stadium III	21
1.4.4. Neoadjuvante Therapie des nicht-fernmetastasierten Rektumkarzinoms	21
1.4.4.1. UICC-Stadium I	22
1.4.4.2. UICC-Stadium II und III	22

1.4.5. Adjuvante Therapie des nicht-fernmetastasierten Rektumkarzinoms	22
1.4.5.1. Nicht-neoadjuvant vorbehandeltes Rektumkarzinom	23
1.4.5.2. Neoadjuvant vorbehandeltes Rektumkarzinom	23
1.4.6. Weiterführende Therapie fernmetastasierter Kolon- und Rektumkarzinome	23
1.4.6.1. Primär resektable Metastasen	24
1.4.6.2. Potentiell resektable Metastasen	24
1.4.6.3. Palliative Therapie	25
1.5. Nachsorge	25
2. AUFGABENSTELLUNG	27
2.1. Stand der Forschung	27
2.1.1. Das Problem der Fernmetastasierung beim kolorektalen Karzinom	27
2.1.2. Das Antigen Sialyl LeX	28
2.1.2.1. Aufbau und physiologische Funktion	28
2.1.2.2. Bedeutung für das kolorektale Karzinom	29
2.2. Fragestellung	30
3. MATERIAL UND METHODEN	31
3.1. Patientengut und histopathologisches Material	31
3.2. Datenerfassung	31
3.3. Materialbeschaffung und –aufbereitung	33
3.4. Immunhistochemische Färbung	33
3.4.1. Grundlegende Methodik	33
3.4.2. Verwendete Substanzen und Geräte	34
3.4.3. Positivkontrolle des Primärantikörpers	35
3.4.4. Protokoll der immunhistochemischen Färbung	36
3.5. Histologisches Scoring	38
3.6. Statistische Auswertung	38

4. ERGEBNISSE	39
4.1. Patientengut	39
4.1.1. Patienten- und Tumorcharakteristika	39
4.1.2. Operatiosarten und postoperative Komplikationen	39
4.1.3. Adjuvante und palliative Therapie	42
4.2. Färbemuster und Färbescore	43
4.2.1. Keine positiv gefärbten Zellen (Score 0)	43
4.2.2. Vereinzelte positiv gefärbte Zellen (Score 1)	44
4.2.3. Einzelne positiv gefärbte Zellen + kräftig angefärbter Schleim (Score 2)	44
4.2.4. „Schrotschussartig“ verteilte positiv gefärbte Zellen (Score 3)	45
4.2.5. Komplette Anfärbung nahezu aller Tumorzellen (Score 4)	45
4.2.6. Häufigkeitsverteilung der Färbemuster	46
4.3. Etablierte prognostische Faktoren	47
4.3.1. UICC-Stadium	47
4.3.2. Tumorinfiltrationstiefe „T“	47
4.3.3. Lymphknotenbefall „N“	48
4.3.4. Histologischer Differenzierungsgrad „G“	49
4.4. Sialyl LeX-Expression als prognostischer Faktor	50
4.4.1. Überlebensraten aufgeteilt nach dem fünfstufigen Färbescore	50
4.4.2. Berechnung des Cutoff-Wertes	51
4.4.3. Überlebensraten aufgeteilt nach starker und schwacher Expression	52
4.4.4. Rezidivfreiheit	54
4.4.5. Abhängigkeiten der Sialyl LeX-Expression	55
5. DISKUSSION	57
6. ZUSAMMENFASSUNG	64
Literaturverzeichnis	66
Danksagung	73
Thesen	74
Selbstständigkeitserklärung	76
Lebenslauf	77

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1	Genetisches Modell der Adenom-Karzinom-Sequenz.....	12
Abbildung 2	Adhäsion und Extravasation von Leukozyten	29
Abbildung 3	Erfassungsbogen zur Dokumentation der perioperativen Daten.....	32
Abbildung 4	Schematische Darstellung der indirekten immunhistochemischen Färbung.....	34
Abbildung 5	Ergebnis der Positivkontrolle des Primärantikörpers mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie.....	36
Abbildung 6	Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-0-Präparat	43
Abbildung 7	Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-1-Präparat	44
Abbildung 8	Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-2-Präparat	44
Abbildung 9	Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-3-Präparat	45
Abbildung 10	Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-4-Präparat	45
Diagramm 1	Prozentualer Anteil an der geschätzten Zahl der Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2004.....	10
Diagramm 2	Häufigkeitsverteilung der Färbemuster.....	46
Diagramm 3	Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem UICC-Stadium	47
Diagramm 4	Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach der Tumorerinvasionstiefe „T“	48
Diagramm 5	Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem Lymphknotenbefall „N“	48
Diagramm 6	Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem histologischen Differenzierungsgrad „G“	49
Diagramm 7	5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem 5-stufigen Färbescore	50
Diagramm 8	Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem 5-stufigen Färbescore	51
Diagramm 9	Martingale Residuen als Funktion des 5-stufigen Färbescores	52
Diagramm 10	Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach starker und schwacher Sialyl LeX-Expression	52
Diagramm 11	Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten im UICC-Stadium III aufgeteilt nach starker und schwacher Sialyl LeX-Expression	53

Diagramm 12 Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten im UICC-Stadium IV aufgeteilt nach starker und schwacher Sialyl LeX-Expression	53
Diagramm 13 Rezidivfreie Zeit aufgeteilt nach dem 5-stufigen Färbescore	54
Diagramm 14 Rezidivfreie Zeit aufgeteilt nach starker und schwacher Sialyl LeX-Expression	54
Diagramm 15 Häufigkeit starker und schwacher Färberesultate in Abhängigkeit vom UICC-Stadium	56

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1 Empfohlene Früherkennungsuntersuchungen in Abhängigkeit von der Risikogruppe	16
Tabelle 2 Erweiterte TNM-Kriterien	18
Tabelle 3 Einteilung des histologischen Differenzierungsgrads	18
Tabelle 4 Postoperatives Staging	20
Tabelle 5 Fong-Score mit Überlebensraten	24
Tabelle 6 Programmierte Untersuchungen im Rahmen der Nachsorge	26
Tabelle 7 5-Jahres-Überlebensraten nach UICC-Stadium	27
Tabelle 8 Beispiele für terminale Kohlenhydratreste bei Membranglykoproteinen und -lipiden	28
Tabelle 9 Für die immunhistochemische Färbung verwendete Substanzen	35
Tabelle 10 Protokoll der initialen Entparaffinierung und Antigendemaskierung	37
Tabelle 11 Protokoll der immunhistochemischen Färbung einschließlich abschließender Dehydrierung	37
Tabelle 12 Patientencharakteristika	40
Tabelle 13 Tumorcharakteristika	40
Tabelle 14 Operationsarten	41
Tabelle 15 Postoperative Komplikationen und Mortalität	41
Tabelle 16 Adjuvante und palliative (Radio-) Chemotherapie	42
Tabelle 17 Übersicht über den 5-stufigen Färbescore	43
Tabelle 18 Klinische und histopathologische Kriterien in Abhängigkeit von der Sialyl LeX-Expression	55

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°C	Grad Celsius
5-FU	5-Fluoruracil
AP	alkalische Phosphatase
APC	Adenomatosis polyposis coli
ASA	American Society of Anesthesiologists
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
BD [®]	Becton Dickinson
Best.-Nr.	Bestellnummer
BMI	Body-Mass-Index
bzw.	beziehungsweise
CEA	Carcino-Embryonales Antigen
CT	Computertomographie
DAB	3,3'-Diaminobenzidin
DCC	deleted in colorectal carcinoma
e.V.	eingetragener Verein
EGFR	Epidermal-Growth-Factor-Receptor
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
engl.	englisch
f	weiblich
FACS [®]	fluorescence activated cell sorting
FITC	fluorescein isothiocyanate
FOLFIRI	Folinsäure, Fluorouracil und Irinotecan
FOLFOX	Folinsäure, Fluorouracil und Oxaliplatin
FOLFOXIRI	Folinsäure, Fluorouracil, Oxaliplatin und Irinotecan
H.-E.	Hämatoxylin-Eosin
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HAI	hepatic arterial infusion

HROC24	Zelllinie „Hansestadt Rostock Colonkarzinom 24“
Ig	Immunglobulin
IgM	Immunglobulin der Klasse M
IHC	Immunohistochemistry
K-ras	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
LDH	Lactatdehydrogenase
LJ	Lebensjahr
LOESS	locally weighted scatterplot smoothing
m	männlich
min	Minute
mRNA	messenger ribonucleic acid
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
n	Anzahl
NCI	National Cancer Institute
neoadj.	neoadjuvant
OP	Operation
p	probability-value
PCR	polymerase chain reaction
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
(R)CT	(Radio-) Chemotherapie
Sialyl LeX	Sialyl Lewis X
SIRT	selective internal radiation therapy
sog.	so genannt
SPSS [®]	Statistical Package for the Social Sciences
TS	Tymidylatsynthase
UICC	Union internationale contre le cancer
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel

1 EINLEITUNG

1.1 EPIDEMIOLOGIE UND HISTOGENETISCHE KLASSIFIKATION

Mit einer geschätzten Zahl von 73.250 Neuerkrankungen alleine im Jahr 2004 stellt das kolorektale Karzinom mittlerweile die häufigste Krebserkrankung in Deutschland dar. Sowohl bei Frauen als auch bei Männern rangiert es jeweils auf Platz zwei hinter den geschlechtsspezifisch auftretenden bösartigen Brust- bzw. Prostatatumoren. Betrachtet man die tumorassoziierten Sterbefälle, so forderten die Malignome des Darms mit 27.782 Todesopfern im Jahre 2004 die zweitmeisten Menschenleben in Deutschland, übertroffen nur von den malignen Neubildungen der Lunge ^[1].

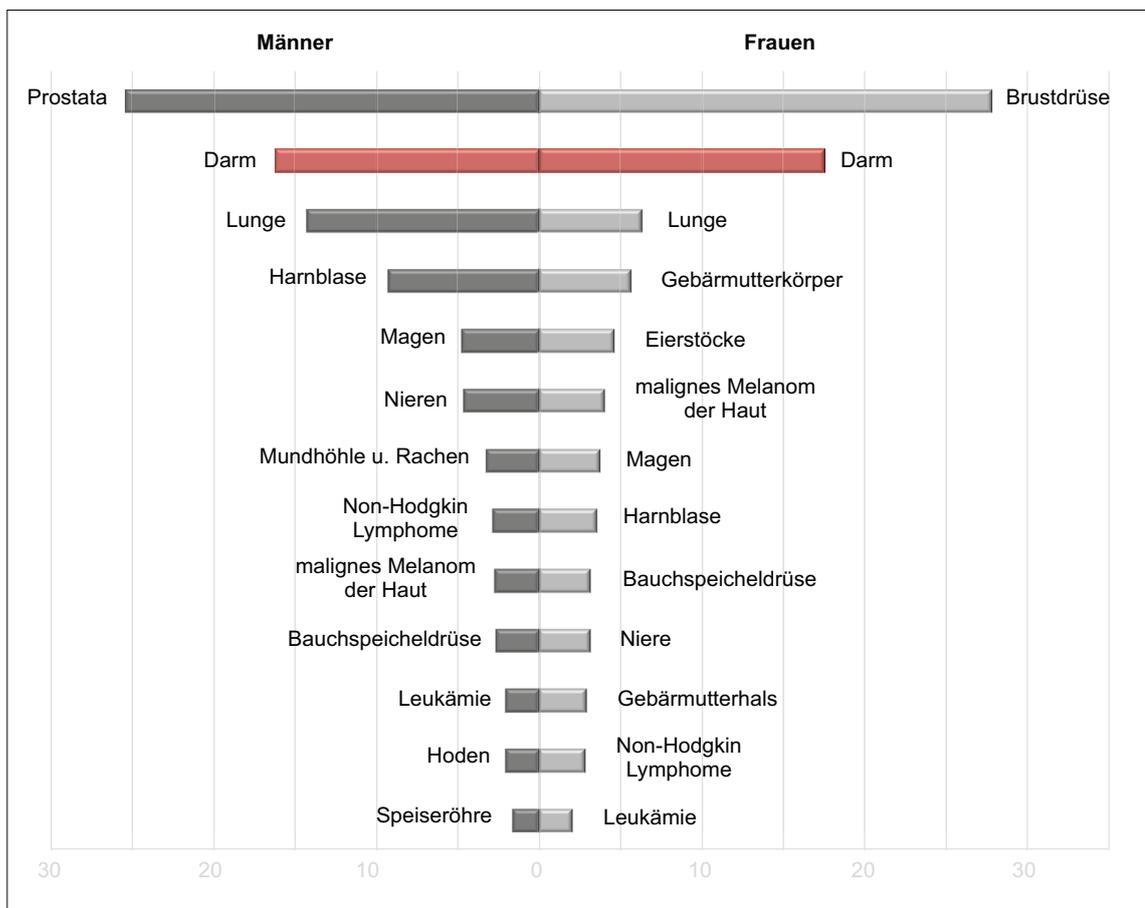


Diagramm 1: Prozentualer Anteil an der geschätzten Zahl der Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2004 ^[1]

Bei relativ ausgeglichener Inzidenz zwischen Männern und Frauen von 92,3 : 85,4 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner pro Jahr, erkrankten Männer mit 69 Jahren im Mittel aber deutlich früher als Frauen mit 75 Jahren. Verglichen mit den Neuerkran-

kungsraten anderer EU-Länder belegt die männliche Bevölkerung Deutschlands Platz zwei, die weibliche sogar den ersten Platz in Europa ^[1].

Bei der weitaus überwiegenden Zahl der Darmtumoren handelt es sich um Adenokarzinome des Dick- und Mastdarms (97%), wobei hiervon etwa 66% das Kolon und 34% das Rektum betreffen. Die seltenen Plattenepithelkarzinome (1%) und Karzinoide (1%) sowie Raritäten wie Lymphome (0,3%) oder Sarkome (0,1%) des Dickdarms spielen statistisch gesehen nur eine untergeordnete Rolle ^[2]. Gelegentlich auftretende Tumoren des Dünndarmkonvoluts werden in der deutschen epidemiologischen Literatur auf Grund ihrer abweichenden klinischen und pathologischen Charakteristika aus der Gruppe „Darmkrebserkrankungen“ ausdrücklich ausgeklammert und sind damit auch nicht Bestandteil der im Vorangegangenen genannten Zahlen ^[3].

1.2 ÄTIOLOGIE UND PATHOGENESE

1.2.1 Adenom-Karzinom-Sequenz und Genetik

Schon 1926 formulierte Dukes in London die Hypothese, Karzinome des Dick- und Enddarms entstünden auf dem Boden benigner Schleimhautadenome ^[4]. Für diese Theorie prägten Jackman und Mayo 1951 den bis heute gebräuchlichen Begriff der Adenom-Karzinom-Sequenz ^[5]. Nachdem diese Theorie lange Jahre mit der Vermutung der „De-Novo-Entstehung“ kolorektaler Karzinome ohne benigne Adenomvorstufen konkurrieren musste, kann sie heute als weitgehend akzeptiert angesehen werden. Selbst das oft als Gegenbeispiel angeführte HNPCC-Syndrom kann nicht länger zur Untermauerung der De-Novo-Hypothese dienen. Auch hierbei muss entgegen häufiger Fehlinterpretationen der Krankheitsbezeichnung von einer Zahl an Adenomvorstufen im Kolon ausgegangen werden, welche der von Patienten mit sporadisch aufgetretenem Kolonkarzinom entspricht, wenngleich auch nicht der von Patienten mit FAP ^[6]. Die von Vogelstein et al. erstmals beschriebenen grundlegenden molekulargenetischen Mechanismen bei der Entstehung von Polypen der Kolonschleimhaut und deren möglicher Entartung zu Karzinomen sind in Abbildung 1 dargestellt.

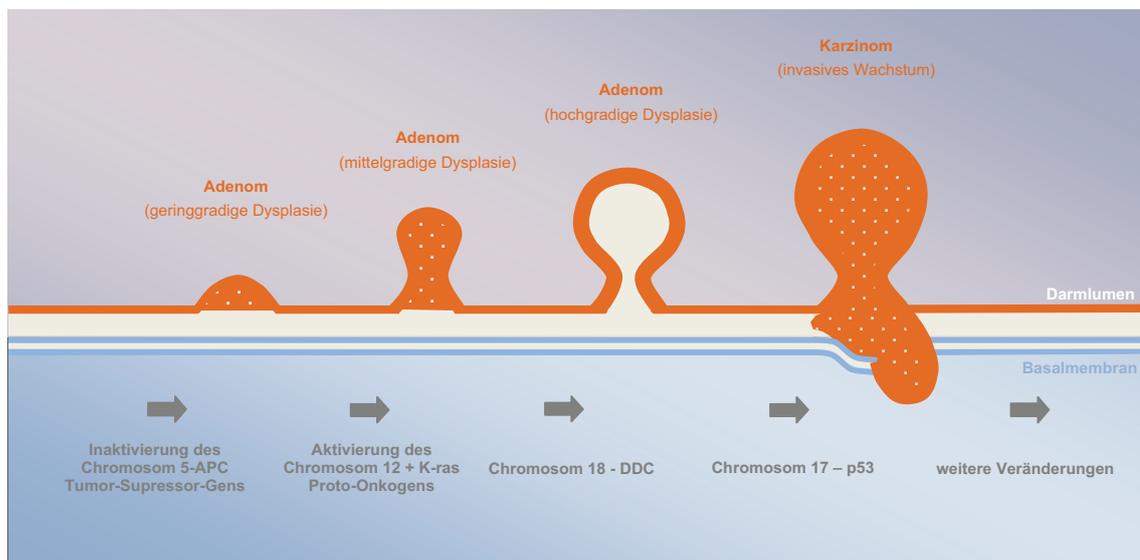


Abbildung 1: Genetisches Modell der Adenom-Karzinom-Sequenz [7, 8]

1.2.2 Positive Familienanamnese

Neben anderen konnten Fuchs et al. in einer großangelegten Studie zeigen, dass das relative Risiko an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken bei Personen mit einem an Darmkrebs erkrankten Verwandten ersten Grades 1,72 beträgt, bei zwei oder mehr erkrankten Verwandten ersten Grades sogar 2,75 [9].

1.2.3 Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen

Bei den chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen Colitis ulcerosa und Morbus Crohn stellt das kolorektale Karzinom eine gefürchtete Komplikation dar. Sowohl bei der Colitis ulcerosa [10] als auch beim Morbus Crohn [11] muss mit einem etwa fünffach erhöhten relativen Darmkrebsrisiko gerechnet werden. Hierbei wirken sich bei der Colitis ulcerosa vor allem ein Krankheitsverlauf über mehr als 10 Jahre sowie ein Krankheitsbeginn schon in der Kindheit weiter zunehmend auf das Risiko aus. Als protektiver Faktor hingegen wird schon seit längerem eine Langzeittherapie der Grunderkrankung mit 5-ASA vermutet [12]. Beim Morbus Crohn ist hinsichtlich des Darmkrebsrisikos v.a. ein Krankheitsbeginn vor dem 30. Lebensjahr als prognostisch ungünstig beschrieben [11].

1.2.4 Westliche Ernährungsgewohnheiten

Aufgrund der Angleichung des Darmkrebsrisikos der afroamerikanischen Bevölkerung bei Adaptation westlicher Ernährungsgewohnheiten wurde von Burkitt 1971 ^[13] eine ballaststoffarme Ernährung mit einem hohen Anteil an tierischen Fetten als Risikofaktor ins Gespräch gebracht.

Die Hypothese des negativen Effekts tierischer Fette konnte in der Folgezeit durch mehreren Studien ^[14, 15] untermauert werden, was jedoch nicht für Fette aus Milchprodukten ^[14] sowie die meisten pflanzlichen Fette wie z.B. Oliven- oder Kokosnussöl ^[16] gilt. Generell scheint gerade der Langzeitkonsum roten Fleisches ^[17-19] zu einem erhöhten Risiko der Karzinomentstehung vornehmlich im distalen Kolon ^[20] zu führen, wohingegen für den Verzehr von Geflügel und Fisch ^[18, 19] in einigen Arbeiten sogar ein gegenläufiger Zusammenhang beobachtet wurde. Als Ursache des Risikocharakters zumindest mancher tierischer Nahrungsmittel stehen indirekte Faktoren wie erhöhte Gallensäure- und Cholesterinspiegel im distalen Darm ^[21] sowie toxische Metaboliten des Proteinabbaus ^[22] im Verdacht.

Kontrovers wird nach wie vor der protektive Effekt einer ballaststoffreichen Ernährung diskutiert. Obwohl selbst einige groß angelegte Studien hierzu keinen signifikanten Zusammenhang finden konnten ^[23-25], so beschreibt zumindest die größte je zu diesem Thema veröffentlichte Arbeit eine signifikante Risikoreduktion ^[26]. Als weitere protektiv wirkende Nahrungsbestandteile wurden Calcium ^[27], Magnesium ^[28], das Spurenelement Selen ^[29] sowie einige weitere Bestandteile pflanzlicher Nahrungsmittel wie z.B. Vitamine oder die in Knoblauch und Zwiebeln vorkommenden Thioether angeführt ^[30, 31].

Keinen Nahrungsbestandteil im engeren Sinne, jedoch auch häufiger oral aufgenommen, stellt die Acetylsalicylsäure dar, welcher auch protektive Eigenschaften zugeschrieben werden ^[32].

Für langjähriges Zigarettenrauchen ^[33] sowie den übermäßigen Konsum von Alkohol ^[34] muss neben den diversen anderen bekannten negativen Effekten auch ein negativer Einfluss auf das Darmkrebsrisiko konstatiert werden.

1.2.5 Weitere Risikofaktoren

Ein bekanntermaßen vielfach erhöhtes Darmkrebsrisiko tragen Patienten nach Implantation der Ureteren in das Sigma (sog. Ureterosigmoidostomie) ^[35, 36], meist im Rahmen einer onkologischen Blasenresektion.

Auch die strahlentherapeutische Behandlung maligner Erkrankungen der Beckenorgane muss als Risikofaktor für die Entstehung kolorektaler Tumoren in Betracht gezogen werden. Baxter et al. konnten zumindest für die direkt im Strahlengang befindlichen Darmanteile ein relatives Karzinomrisiko von 1,7 ermitteln ^[37].

Die Auswirkungen einer Cholezystektomie auf das Darmkrebsrisiko sind bis heute noch nicht abschließend geklärt. Zwar konnten diverse Studien einen statistischen Zusammenhang zwischen Gallensteinleiden und dem Auftreten kolorektaler Karzinome zeigen, ob hierbei jedoch der therapeutischen Cholezystektomie eine ätiologische Rolle zukommt oder aber übergeordnete Risikofaktoren wie z.B. Ernährungsgewohnheiten das verbindende Element zwischen dem Auftreten beider Erkrankungen darstellen, bleibt bis dato offen ^[38].

Ebenso wurde die zweifelsohne auftretende Koexistenz von Divertikulose und kolorektalen Adenomen wie auch Karzinomen schon des Öfteren untersucht ^[39, 40]. Ein signifikant erhöhtes Tumorrisiko für an Divertikulose erkrankte Patienten konnte hierbei jedoch bislang nicht nachgewiesen werden ^[38].

1.3 FRÜHERKENNUNG UND DIAGNOSTIK

1.3.1 Früherkennungsuntersuchungen

Als derzeit etablierte Untersuchungstechniken zur Früherkennung kolorektaler Karzine können der fäkale okkulte Bluttest nach der Guaiak-Methode sowie die endoskopischen Verfahren Koloskopie und Sigmoidoskopie angesehen werden. Immunologische oder molekulare Stuhltestverfahren wie auch die CT- oder MRT-Kolonografie finden auf Grund mangelnder Sensitivität oder Spezifität, unzureichender Datenlage und teilweise sehr hoher Kosten bislang außerhalb von Studien keine Anwendung ^[41].

Für die Durchführung des fäkalen okkulten Bluttests wird empfohlen, aus drei konsekutiven Stühlen je zwei Proben zu entnehmen und diese jeweils auf ein mit Guaiak-Harz beschichtetes Testfeld (drei Testbriefe à zwei Auftragsfelder) zu übertragen ^[42]. Bei Anwesenheit von Hämoglobin im Stuhl kommt es nach Zugabe von Wasserstoffperoxid zu einer Blaufärbung. Jeglichem positiven Testergebnis sollte die komplette endoskopische Untersuchung des Dickdarms angeschlossen werden. Die Durchführung der Koloskopie sollte grundsätzlich den Krebsfrüherkennungsrichtlinien entsprechen ^[41].

Bei der Empfehlung von Früherkennungsuntersuchungen unterscheidet die Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. zwischen der Bevölkerungsgruppe mit durchschnittlichem Risiko und Personen, für die ein erhöhtes Risiko an einem kolorektalen Karzinom zu erkranken angenommen wird. Hierzu werden zum einen alle Verwandte ersten Grades von Patienten mit kolorektalem Karzinom oder vor dem 50. Lebensjahr diagnostizierten Kolonadenomen gerechnet. Weitere Risikogruppen bilden die Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen wie Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn. Als Hochrisikogruppen müssen Patienten mit den erblichen Erkrankungen FAP, AAPC, HNPCC sowie den hamartomatösen Polyposis-Syndromen angesehen werden ^[41]. Das jeweilige, in den aktuellen Leitlinien der AWMF empfohlene Früherkennungsschema, ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Empfohlene Früherkennungsuntersuchungen in Abhängigkeit von der Risikogruppe ^[41]

Risikogruppe	empfohlene Untersuchungen
durchschnittliches Risiko	ab 50. LJ: ⇒ alle 10 Jahre Koloskopie bei Ablehnung der Koloskopie: ⇒ jährlich Guaiak-Test + alle 5 Jahre Sigmoidoskopie bei Ablehnung der Sigmoidoskopie: ⇒ jährlich Guaiak-Test
positive Familienanamnese	
kolorektales Karzinom bei Verwandtem 1.Grades	ab 10 Jahre vor Erkrankungsalter des Verwandten, spätestens aber ab 50. LJ: ⇒ mindestens alle 10 Jahre Koloskopie
kolorektales Adenom vor 50.LJ bei Verwandtem 1.Grades	ab 10 Jahre vor Diagnosealter des erkrankten Verwandten: ⇒ mindestens alle 10 Jahre Koloskopie
entzündliche Risikoerkrankung	
Colitis ulcerosa	bei Pancolitis seit > 8 Jahren oder linksseitiger Kolitis seit > 15 Jahren: ⇒ jährliche Koloskopie mit Stufenbiopsien
Morbus Crohn	keine generelle Empfehlung
hereditäre Risikoerkrankung	
FAP bei nachgewiesener Mutation oder trotz positiver Familienanamnese nicht ausgeschlossener Mutation	spätestens ab 10. LJ: ⇒ jährlich Rekto-Sigmoidoskopie bei Nachweis von Adenomen: ⇒ jährlich Koloskopie bis zur Proktokolektomie
AAPC da oft kein Mutationsnachweis möglich, immer bei positiver Familienanamnese	im 15. LJ: ⇒ Koloskopie bei Nachweis von Adenomen: ⇒ jährlich Koloskopie bis zur Kolektomie ohne Nachweis von Adenomen: ⇒ ab 20. LJ jährlich Koloskopie bis zur Kolektomie
HNPCC bei nachgewiesener Mutation oder trotz Einstufung als Risikoperson nicht ausgeschlossener Mutation	5 Jahre vor niedrigstem Erkrankungsalter in der Familie, spätestens aber ab 25. LJ: ⇒ jährlich Koloskopie
hamartomatöse Polyposis-Syndrome	keine generelle Empfehlung Überwachung in ausgewiesenen Zentren

1.3.2 Endoskopie und Biopsie

Die endoskopische Untersuchung des Dickdarms dient zunächst der Erkennung und Lokalisation von Polypen und Karzinomen. Gleichzeitig ermöglicht sie aber auch die therapeutische Abtragung von Polypen sowie die Gewinnung histologisch untersuchbaren Materials. Es konnte gezeigt werden, dass die Polypektomie im Rahmen der diagnostischen Koloskopie die Inzidenz von Darmkrebskrankungen um 66-90% senkt ^[43, 44]. Hierzu wird empfohlen, Polypen kleiner als 5mm, abgesehen von typischen hyperplastischen Polypen im Rektum, generell per Zangenbiopsie komplett zu entfernen. Bei größeren Polypen ist nach Risikoabwägung möglichst die vollständige Abtragung mittels einer endoskopisch eingebrachten Drahtschlinge anzustreben, bei zu hohem Risiko oder eindeutigen makroskopischen Malignitätskriterien erfolgt die bioptische Materialentnahme. Eine Notierung der jeweiligen Lokalisation sowie die Bergung und histologische Aufarbeitung des entfernten Materials ist obligat ^[41]. Die Nachsorge in Form von Kontrollkoloskopien richtet sich nach Histologie, Anzahl und Größe der abgetragenen Polypen und sollte je nach Befund nach Zeitintervallen von zwei Monaten bis hin zu den generell gültigen Screeningintervallen (s. 1.3.1) erfolgen ^[41, 45]. Beim Nachweis eines die Submukosa oder tiefere Darmwandanteile infiltrierenden Karzinoms ist bis auf den endoskopisch R0-entfernten T1-L0-G1/2-Tumor (s. 1.3.3.) ^[46] die onkologisch-chirurgische Therapie angezeigt.

1.3.3 Präoperatives Staging und Grading

Ergebnisse der Ausbreitungsdiagnostik (engl. Staging) werden wie bei vielen soliden Tumoren so auch bei Kolon- und Rektumkarzinomen anhand des TNM-Systems beschrieben ^[47]. Grundsätzlich stehen hierfür die in Tabelle 2 aufgelisteten Kriterien zur Verfügung. Zusätzlich wird der histologische Differenzierungsgrad (engl. Grading) des Tumors nach den Tabelle 3 zu entnehmenden Entartungsabstufungen eingeteilt.

Tabelle 2: Erweiterte TNM-Kriterien ^[47, 48]

Abkürzung	Beschreibung
Infiltrationstiefe	
Tis	intraepiteliale Neoplasie, welche die Lamina muscularis mucosae respektiert
T1	Tumor, der die Tela submucosa infiltriert
T2	Tumor, der die Tunica muscularis infiltriert
T3	Tumor, der die Tela subserosa oder perikolisches Gewebe ohne Peritonealüberzug infiltriert
T4	Tumor, der andere Organe oder Strukturen infiltriert und / oder das Peritoneum viszerale perforiert
Lymphknotenbefall	
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in 1 bis 3 regionären Lymphknoten
N2	Metastasen in 4 oder mehr regionäre Lymphknoten
Fernmetastasierung	
M0	Keine Fernmetastasierung
M1	Fernmetastasierung
Lymphgefäßbefall	
L0	Kein Lymphgefäßbefall
L1	Lymphgefäßbefall
Venenbefall	
V0	Kein Venenbefall
V1	mikroskopisch erkennbarer Venenbefall
V2	makroskopisch erkennbarer Venenbefall
Residualgrenzen	
R0	histologisch tumorfreie Resektionsränder
R1	Resektionsränder histologisch nicht tumorfrei
R2	Resektionsränder makroskopisch nicht tumorfrei

Tabelle 3: Einteilung des histologischen Differenzierungsgrads ^[47]

Abkürzung	Beschreibung
G1	gut differenziertes bösartiges Gewebe
G2	mäßig differenziertes bösartiges Gewebe
G3	schlecht differenziertes bösartiges Gewebe
G4	nicht differenziertes bösartiges Gewebe

Für das präoperative Staging sollten nach den aktuellen Leitlinien neben der diagnosestellenden Koloskopie einschließlich Biopsie und histopathologischer Beurteilung (Bestimmung von T, L, G und evtl. R) eine Sonographie des Abdomens sowie eine Röntgenuntersuchung des Thorax in zwei Ebenen zur Detektion von Fernmetastasen (Bestimmung von M) herangezogen werden. Zusätzlich werden präoperativ eine digital-

rektale Untersuchung zur orientierenden Beurteilung der Sphinkterfunktion sowie die serologische Bestimmung des prognostisch interessanten CEA-Wertes empfohlen ^[41]. Speziell bei Rektumkarzinomen sollte außerdem eine starre Rektoskopie zur exakten Messung des das Operationsverfahren bestimmenden Abstands des distalen Tumorrands von der Linea dentata sowie eine Endosonographie (sehr genaue Bestimmung von T und N) durchgeführt werden ^[49]. Auch die abdominelle Ausbreitungsdiagnostik mittels CT sowie die labordiagnostische Bestimmung der LDH- und AP-Spiegel sowie der absoluten Leukozytenzahl können im Einzelfall nützlich sein ^[41]. Vor allem bei histologisch und endosonographisch als ausgedehnter beschriebenen Tumoren ($T > 2$, $N > 0$) kommt der magnetresonanztomographischen Ausbreitungsdiagnostik eine immer größere Bedeutung zu ^[50, 51].

1.4 THERAPIE

1.4.1 Chirurgische Resektion

Therapie der Wahl ist bei histologisch gesicherten Karzinomen des Kolons wie auch des Rektums die radikalchirurgische Resektion des befallenen Darmabschnitts. Das Ausmaß der Darmresektion wird beim Kolontumor primär durch die Mitresektion der versorgenden Gefäße, welche auch das zugehörige Lymphabflussgebiet definieren, bestimmt, sollte jedoch 10cm beidseits der Entartung nicht unterschreiten ^[41]. Bei Rektumalignomen werden als Sicherheitsabstand nach aboral in der Regel 5cm, für gut oder mäßig differenzierte Tumoren des unteren Rektumdrittels auch 2cm als ausreichend erachtet ^[41, 52, 53]. Dieser geringere Sicherheitsabstand kommt kontinenserhaltenden Operationstechniken zu Gute. Zusätzlich zur Entfernung des Darmteilstücks ist bei Karzinomen des Enddarms im oberen Rektumdrittel die partielle, bei tieferer Lokalisation die totale Entfernung des mesorektalen Fettkörpers angezeigt, welcher hier das regionale Lymphabflussgebiet beinhaltet ^[54, 55].

Obwohl Adhärenzen des Tumors an Nachbarorganen neben einem infiltrativen Tumorstadium prinzipiell auch eine peritumoröse Entzündungsreaktion zu Grunde liegen kann, ist nach Möglichkeit eine En-Bloc-Resektion der betroffenen Organe durchzuführen, um eine eventuelle Tumorzeldisseminations durch weiterführende diagnostische Maßnahmen wie eine Biopsie zu vermeiden ^[56].

Eine intraoperative Inspektion und Palpation der Leber als dem häufigsten Lokalisationssort von Fernmetastasen wird generell empfohlen. Die intraoperative Leberultrasonographie sollte bei unklarem präoperativem Leberbefund in Betracht gezogen werden ^[57].

1.4.2 Postoperatives Staging

Auch bei der postoperativen histopathologischen Beurteilung des chirurgisch entfernten Gewebes finden zunächst die unter 1.1.3. erläuterten Kriterien des TNM-Systems Anwendung. Anhand dieser kann dann die Zuordnung zu einem der vier von der UICC definierten Tumorstadien nach dem in Tabelle 4 dargestellten System erfolgen ^[47]. Je nach Stadium unterscheiden sich Therapie und Prognose des kolorektalen Karzinoms.

Tabelle 4: Postoperatives Staging ^[47]

UICC-Stadium	TNM-Klassifikation		
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
II	T3	N0	M0
	T4	N0	M0
III	T1-4	N1	M0
		N2	M0
IV	T1-4	N0-2	M1

1.4.3 Adjuvante Therapie des nicht-fernmetastasierten Kolonkarzinoms

Nach der generell anzustrebenden chirurgischen R0-Resektion eines Kolonkarzinoms dient als Grundlage für die Wahl des adjuvanten therapeutischen Vorgehens primär das postoperativ bestimmte UICC-Stadium. Kontraindikationen für eine, je nach Stadium eventuell indizierte adjuvante Chemotherapie, müssen hierbei selbstverständlich berücksichtigt werden. Das Patientenalter per se sollte hingegen kein Ausschlusskriterium für eine tumorspezifische Nachbehandlung darstellen ^[58]. Eine neoadjuvante Therapie ist beim Kolonkarzinom ohne Nachweis von Fernmetastasen nicht angezeigt.

1.4.3.1 UICC-Stadium I

Für radikal resezierte Kolontumoren des UICC-Stadiums I wird eine adjuvante Nachbehandlung nicht empfohlen ^[41].

1.4.3.2 UICC-Stadium II

Im Stadium UICC II sollte nur beim Vorliegen von mindestens einem der Risikofaktoren T4-Klassifikation, Tumorperforation, Notfalloperation oder einer zu geringen Anzahl an histologisch untersuchten Lymphknoten (mindestens 12) eine adjuvante Chemotherapie in Erwägung gezogen und mit dem Patienten erörtert werden. Andere Parameter wie CEA-Spiegel, G-, V- und L-Befund, Mikrosatelliten-Status, TS/p53-Expression u.a. werden von der AWMF für die Indikationsstellung bis dato nicht befürwortet. Im Fall der Entscheidung für eine adjuvante Chemotherapie im UICC-Stadium II erscheint eine Monotherapie mit Fluoropyrimidinen nach aktuellem Wissensstand adäquat ^[41].

1.4.3.3 UICC-Stadium III

Für Kolonkarzinompatienten mit regionären Lymphknotenmetastasen (UICC III) ist eine signifikante Prognoseverbesserung durch eine adjuvante Chemotherapie belegt ^[59-62]. Hierbei werden unter Berücksichtigung der verschiedenen Nebenwirkungsprofile bis jetzt die besten Ergebnisse für das FOLFOX-Schema, eine Kombinationstherapie mit Oxaliplatin, 5-FU und Folinsäure, beschrieben ^[63, 64]. Nach Möglichkeit sollte Oxaliplatin deshalb nur noch bei Unverträglichkeit durch Irinotecan ersetzt werden (FOLFIRI). Eine orale Monotherapie mit Fluoropyrimidinen stellt nur beim Vorliegen von Kontraindikationen gegen eine Kombinationstherapie eine Option dar. Grundsätzlich sollte die adjuvante Chemotherapie nach Möglichkeit innerhalb acht Wochen nach erfolgter Tumorresektion begonnen werden. Die Nachbehandlungsdauer beträgt in etwa sechs Monate ^[41].

1.4.4 Neoadjuvante Therapie des nicht-fernmetastasierten Rektumkarzinoms

Wie beim Kolonkarzinom, so wird auch beim nicht-fernmetastasierten Rektumkarzinom für die Festlegung der die chirurgische Resektion ergänzenden Therapie das UICC-Stadium herangezogen. Da jedoch bei Rektumtumoren der neoadjuvanten Therapie ein immer höherer Stellenwert zukommt, muss hier zunächst auf die Befunde des präoperativen Stagings zurückgegriffen werden. Die Behandlung des Rektumkarzinoms im oberen Drittel des Enddarms wird weiterhin kontrovers diskutiert. Sowohl ein adjuvantes Vorgehen wie beim Kolonkarzinom als auch ein neoadjuvantes Therapiere-

gime wie bei weiter aboral gelegenen Rektumkarzinomen kommen hierfür bis dato quasi gleichberechtigt zum Einsatz.

1.4.4.1 UICC-Stadium I

Bei Rektumkarzinomen im UICC-Stadium I ist vor der chirurgischen Resektion der bösartigen Geschwulst keine neoadjuvante Therapie vorgesehen, da zumindest seit Einführung der TME kein wesentlicher Benefit für ein solches perioperatives Vorgehen in diesem Stadium mehr gezeigt werden konnte ^[65].

1.4.4.2 UICC-Stadium II und III

In den höheren UICC-Stadien II und III ist eine neoadjuvante Radio- oder Radiochemotherapie indiziert. Es konnte gezeigt werden, dass sich durch das neoadjuvante Vorgehen im Vergleich zur postoperativen Bestrahlung sowohl die Zahl der Lokalrezidive senken als auch eine höhere Rate an sphinktererhaltenden Operationen erreichen lässt ^[66-69]. Des Weiteren werden bei der präoperativ applizierten Radiochemotherapie seltener schwere Nebenwirkungen beobachtet als bei einem adjuvanten Vorgehen. Prinzipiell stehen für die präoperative Strahlentherapie sowohl die Kurzzeitbestrahlung über fünf Tage als auch die neoadjuvante Radiochemotherapie mit häufigerer, niedriger dosierter Bestrahlung und paralleler 5-FU-Gabe über etwa einen Monat zur Verfügung. Jedoch sollte die Kurzzeitbestrahlung höchstens bei Patienten Anwendung finden, bei denen keine Größenreduktion des Tumors (engl. Downsizing) angestrebt werden muss, da ein ausreichender Sicherheitsabstand zur Sphinktermuskulatur sowie der mesorektalen Faszie gewährleistet ist und kein T4-klassifiziertes Karzinom vorliegt. Eine Ergänzung der 5-FU-Gabe durch Folinsäure bei der neoadjuvanten Therapie ist möglich. Der Einsatz neuerer Substanzen und Kombinationen befindet sich noch in der Erprobung ^[70].

1.4.5 Adjuvante Therapie des nicht-fernmetastasierten Rektumkarzinoms

Das adjuvante Vorgehen bei Rektumalignomen bildet im Regelfall die Fortsetzung der neoadjuvanten Behandlung, kann jedoch bei Korrektur des präoperativ bestimmten UICC-Stadiums im Rahmen der histopathologischen Beurteilung des OP-Resektats zum Negativen auch postoperativ noch einmal komplett neu ausgerichtet werden müssen.

1.4.5.1 Nicht neoadjuvant vorbehandeltes Rektumkarzinom

Bei nicht neoadjuvant vorbehandelten Rektumtumoren besteht im Regelfall keine Indikation für ein adjuvantes Vorgehen. Ausnahmen bilden hierbei intraoperativ eingerissene bzw. versehentlich eröffnete Tumoren sowie makroskopisch oder mikroskopisch nicht im Gesunden entfernte Resektate (R1- oder R2-Klassifikation). Aber auch alle postoperativ mit einem schlechteren UICC-Stadium als I bewerteten Karzinome ohne Vorbehandlung, sei es auf Grund eines präoperativ zu niedrig bestimmten UICC-Stadiums (engl. Understaging), einer Notfalloperation, oder anderer Kontraindikation gegen eine neoadjuvante Therapie, bedürfen einer adäquaten Nachbehandlung. In den genannten Fällen sollte der Operation möglichst nach vier bis sechs Wochen eine kombinierte Radiochemotherapie mit 5-FU z.B. nach dem NCI-Schema angeschlossen werden^[71].

1.4.5.2 Neoadjuvant vorbehandeltes Rektumkarzinom

Im Anschluss an die radikalchirurgische Tumorsektion sollte unabhängig vom postoperativ bestimmten Tumorstadium bei neoadjuvant vorbehandelten Rektumkarzinomen möglichst immer eine ergänzende Chemotherapie mit 5-FU oder einer Kombination aus 5-FU und Folinsäure erfolgen^[41].

1.4.6 Weiterführende Therapie fernmetastasierter Kolon- und Rektumkarzinome

Die Entscheidungsgrundlage für das tumortheraeutische Vorgehen bei einem fernmetastasierten kolorektalen Karzinom stellt die Resektabilität der Fernmetastasen dar. Prinzipiell sollte eine Resektion von Leber- und Lungenmetastasen sowie seltener auftretenden Hirnmetastasen angestrebt werden. Auch bei primär irresektablen Metastasen kann eine Remissionsinduktion durch eine intensivierete systemische Chemotherapie im neoadjuvanten Sinn unter Umständen die sekundäre Metastasenresektion ermöglichen. Bei Patienten mit multiplen Metastasen, welche auch nach einer möglichen Remissionsinduktion als nicht resektabel angenommen werden müssen, sollte sich die Intensität der palliativen Chemotherapie nach dem Auftreten tumorbedingter Symptome, Organkomplikationen oder eines schnellen Progresses richten^[41].

1.4.6.1 Primär resektable Metastasen

Während die aktuellen Leitlinien für primär R0-resektable Lungen- und Hirnmetastasen nur eine generelle Empfehlung zur Resektion enthalten, kann für den häufigsten Fall der Lebermetastasierung auf differenziertere Erkenntnisse zurückgegriffen werden. So lässt sich die Prognose nach Resektion kolorektaler Lebermetastasen schon präoperativ z.B. anhand des in Tabelle 5 dargestellten Fong-Scores abschätzen ^[72]. Da die chirurgische Entfernung von Metastasen nur nach Ausschluss weiterer, nicht resektabler Tumormanifestationen in anderen Organen erfolgversprechend ist, wird zumindest für Patienten mit einem prognostisch ungünstigen Fong-Score > 2 zusätzlich zu den generell empfohlenen Staging-Untersuchungen der präoperative Ausschluss eventuell noch unentdeckter Metastasen mittels PET-CT gefordert. Neuere Risikoscores, wie z.B. von Lee et al. vorgeschlagen, weisen im Gegensatz zum Fong-Score häufig die Breite des tumorfreien Resektionsrandes in der Leber als wichtigen prognostischen Faktor aus, wohingegen den Parametern „Metastasengröße“ und „krankheitsfreies Intervall“ keine zentrale Bedeutung zugemessen wird ^[73].

Tabelle 5: Fong-Score mit Überlebensraten ^[72]

prognostisch ungünstige Kriterien	5-Jahres-Überlebensrate	
nodal positiver Primärtumor	Score 0:	57%
krankheitsfreies Intervall < 12 Monate	Score 1:	57%
Metastasengröße > 5cm	Score 2:	47%
Metastasenanzahl > 1	Score 3:	16%
CEA präoperativ > 200ng/dl	Score 4:	8%
	Score 5:	0%

Postoperativ sollte trotz limitierter Datenlage zur adjuvanten Chemotherapie in dieser Patientensubgruppe eine solche Nachbehandlung mittels Übertragung der Erkenntnisse für Patienten im UICC-Stadium III in Erwägung gezogen werden. Eine neoadjuvante Therapie scheint nur in begründeten Ausnahmefällen angebracht ^[74].

1.4.6.2 Potentiell resektable Metastasen

Bei primär irresektablen Leber- und / oder Lungenmetastasen ist zunächst die Frage der potentiellen Resektabilität nach Remissionsinduktion durch eine neoadjuvante Therapie zu klären. Ist diese gegeben, sollte eine systemische Chemotherapie mit der jeweils ef-

ektivsten verfügbaren Kombinationstherapie begonnen werden. Erwähnung finden hierzu in den aktuellen Leitlinien Publikationen zum FOLFOXIRI-Schema ^[75] sowie der Kombination des FOLFIRI-Schemas mit dem EGFR-Antikörper Cetuximab ^[76]. Die regelmäßige Evaluation einer möglichen Remissionsinduktion mit resultierender sekundärer Resektabilität ergänzt das neoadjuvate Prozedere. Die Hepatotoxizität der genannten Protokolle sollte bei der Therapieplanung besondere Beachtung finden. Lokoregionäre Verfahren wie die Lasertherapie, die Radiofrequenzablation, die SIRT oder HAI sollten bis dato nicht oder nur im Rahmen kontrollierter Studien zur Anwendung kommen.

1.4.6.3 Palliative Therapie

Indikationen für eine Intensivierung der palliativen Therapie im Sinne einer möglichst effektiven Kombinationschemotherapie können tumorbedingte Symptome, Organkomplikationen oder ein schnelles Fortschreiten der Erkrankung sein. In diesen Fällen kann auch in der Palliativsituation ein interventionelles Vorgehen angezeigt sein. Ansonsten wird als primäres Therapieziel bei Patienten mit nicht mehr resektablen Metastasen eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens sowie des Gesamtüberlebens bei guter Lebensqualität angestrebt. Auch hierbei werden jedoch inzwischen weniger intensive Kombinationstherapien den sequentiellen Monotherapien meist vorgezogen. Ein wechselnder Einsatz möglichst aller zur Verfügung stehenden aktiven Substanzen im Lauf einer solchen Therapie wird empfohlen ^[77].

1.5 NACHSORGE

Nach der kurativen Therapie eines kolorektalen Karzinoms wird für die folgenden 5 Jahre das Risiko an einem Lokalrezidiv, Fernmetastasen oder einem metachronen Zweitumor zu erkranken mit 3 - 24%, 25% und 1,5 - 10% angegeben. Zentrales Ziel regelmäßiger Nachsorgeuntersuchungen sollte es sein, Rezidive so frühzeitig zu entdecken, dass eine operative Reintervention mit kurativem Ansatz möglich ist. Es sei jedoch erwähnt, dass nach aktueller Datenlage zumindest die Verbesserung des Langzeitüberlebens durch die heute verfügbaren Nachsorgeverfahren als gering einzustufen ist ^[78].

Für Patienten mit einem R0-resezierten kolorektalen Karzinom im Stadium UICC I wird von der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. keine regelmäßige Nachsorge für notwendig erachtet. Abweichungen hiervon können bei individuellen Risikofaktoren wie intraoperativer Tumoreröffnung oder histologischer Beurteilung mit V1/2, L1, G3/4 oder T2 angebracht sein. Die empfohlene programmierte Untersuchungsabfolge für Patienten mit kurativ behandelten Darmkrebserkrankungen im Stadium UICC II und III ist in Tabelle 6 dargestellt. Zusätzlich wird für Patienten mit einem Rektumkarzinom drei Monate nach Abschluss der tumorspezifischen Therapie eine CT-Untersuchung als Ausgangsbefund angeregt. Ein Konsens über die Integrierung von Röntgenaufnahmen des Thorax in die Nachsorgeempfehlungen konnte von der Expertenkommission bis dato nicht erzielt werden.

Tabelle 6: Programmierte Untersuchungen im Rahmen der Nachsorge ^[41]

Untersuchung	Jahre						
	½	1	1½	2	3	4	5
Anamnese, körperliche Untersuchung, CEA-Bestimmung, Abdomensonographie	x	x	x	x	x	x	x
Koloskopie	(x)*				x		
Sigmoidoskopie	(x	x	x	x)**			

* nur wenn präoperativ keine vollständige Koloskopie erfolgt ist

** nur bei Rektumkarzinom ohne (neo)adjuvante RCT

2 AUFGABENSTELLUNG

2.1 STAND DER FORSCHUNG

2.1.1 Das Problem der Fernmetastasierung beim kolorektalen Karzinom

Unter der Annahme, dass bei der weitaus überwiegenden Zahl von Darmkrebserkrankungen nicht der Primärtumor, sondern vielmehr die Fernmetastasierung den die Therapie verkomplizierenden und letztendlich die Überlebenszeit limitierenden Faktor darstellt, fallen bei Betrachtung der nach UICC-Stadien aufgetrennten Überlebensraten die unbefriedigenden Werte für Patienten in Stadium II und III ins Auge. Obwohl in dieser Patientensubgruppe bei den Staginguntersuchungen vor radikaler chirurgischer Entfernung des Primärtumors per definitionem keine Fernmetastasen dargestellt werden konnten, muss auf Grund der deutlich reduzierten Überlebenszeit eine schon präoperativ vorgelegene Mikrometastasierung bei einem Teil der Patienten vermutet werden.

Tabelle 7: 5-Jahres-Überlebensraten nach UICC-Stadium ^[79, 80]

Stadium	Definition	5-Jahres-Überlebensrate
UICC I	keine Metastasen	86 – 96%
UICC II	keine Metastasen	70 – 87%
UICC III	regionäre Lymphknotenmetastasen	41 – 52%
UICC IV	Fernmetastasen	3 – 40%

Dies ist insofern von großer Bedeutung, als die Entscheidung für oder gegen eine gerade diese Metastasierung bekämpfende adjuvante Chemotherapie bis dato nahezu ausschließlich nach UICC-Stadium getroffen wird (s. 1.4.3. und 1.4.4.). Da wiederum eine generelle Applikation einer adjuvanten Therapie beim kolorektalen Karzinom aufgrund der nur geringen Verbesserung des Langzeitüberlebens (etwa 2-6% im UICC-Stadium II ^[81, 82]) bei gleichzeitig massiven Nebenwirkungen wie z.B. der peripheren Neuropathie in etwa 12% der Fälle ^[64] nicht adäquat erscheint, wäre eine noch exaktere Identifikation der Patienten mit hohem Metastasierungsrisiko unabhängig von der Größe des Primärtumors als Entscheidungsgrundlage für eine zytostatische Nachbehandlung wünschenswert.

2.1.2 Das Antigen Sialyl LeX

Auf den Zelloberflächen maligner Tumoren lässt sich nicht selten eine Überexprimierung veränderter Blutgruppenantigene beobachten, welche schon verschiedentlich mit einer ungünstigen Prognose der Erkrankungen in Verbindung gebracht wurden ^[83, 84]. Im Zusammenhang mit dem kolorektalen Karzinom stellt insbesondere die Struktur Sialyl LeX ein interessantes Untersuchungsobjekt dar, da neben klinisch-pathologischer Korrelationsstudien (s. 2.1.2.2.) auch die inzwischen beschriebene physiologische Bedeutung des Epitops (s. 2.1.2.1.) eine prognostische Bedeutung vermuten lässt.

2.1.2.1 Aufbau und physiologische Funktion

Bei dem Antigen Sialyl LeX handelt es sich um ein terminales Tetrasaccharid verschiedener Membranglykoproteine und -lipide, welches im gesunden Gewebe vor allem auf epithelialen und lymphatischen Zellen exprimiert wird. In Tabelle 8 ist Sialyl LeX strukturell ähnlichen terminalen Kohlenhydratresten hohen Bekanntheitsgrades gegenübergestellt.

Tabelle 8: Beispiele für terminale Kohlenhydratreste bei Membranglykoproteinen und -lipiden ^[85]

Bezeichnung	Strukturformel
Blutgruppenantigen A	- Galaktose α -2- Fucose α -3- N-Acetylgalaktosamin
Blutgruppenantigen Lewis ^A	- Galaktose α -4- Fucose β -3- Galaktose
Lewis ^X	- Galaktose α -3- Fucose β -4- Galaktose
Sialyl Lewis ^X	- Galaktose α -3- Fucose β -4- Galaktose α -3- N-Acetylneuraminsäure

Sialylierte (d.h. mit dem Sialinsäurederivat N-Acetylneuraminsäure konjugierte) Oligosaccharide wie Sialyl LeX oder Sialyl LeA stellen physiologische Liganden für die Zelladhäsionsmoleküle P-, E- und L-Selektin dar. Während L-Selektin auf Leukozyten exprimiert wird und dort eine Verstärkerfunktion bei Immunreaktionen einnimmt, spielen P- und E-Selektin eine wichtige Rolle bei der Extravasation von Leukozyten aus dem Blutkreislauf in geschädigtes Gewebe. P- und E-Selektine werden hierbei erst nach Aktivierung der Endothelzellen durch Zytokine auf der Endotheloberfläche exprimiert (sog. chemoattraction), woraufhin die im Blutstrom zirkulierenden Leukozyten durch vorübergehende, schwache Bindungen zwischen ihren sialylierten Glykoproteinen und den endothelialen Selektinen entlang der Gefäßwand abgebremst und schließlich zum Stehen gebracht werden (sog. rolling adhesion). Während dieses Rollings erfolgt außer-

dem eine Aktivierung der Leukozyten über Zytokine, was zu einer Festigung der Leukozyten-Endothel-Bindung über Integrine (sog. tight adhesion) und letztendlich zu einer Auswanderung der Leukozyten aus dem Gefäß (sog. transmigration) führt ^[86].

Nachgewiesen werden konnte das Epitop Sialyl LeX in der beschriebenen Funktion sowohl auf Granulozyten und Monozyten ^[87-89] als auch auf aktivierten B- und Th1-Lymphozyten, nicht aber auf Th2-Zellen ^[90] oder ruhenden B- und Th1-Zellen ^[91, 92].

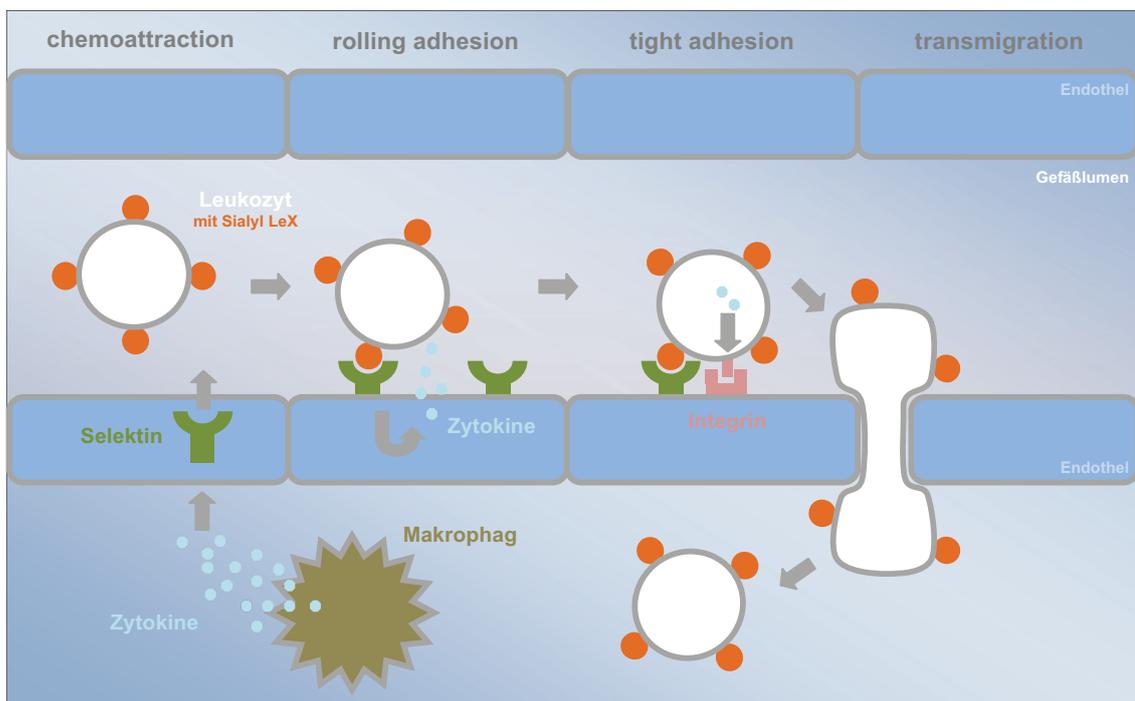


Abbildung 2: Adhäsion und Extravasation von Leukozyten

Da die Extravasation von Tumorzellen aus dem Blutkreislauf in parenchymatöses Gewebe für den hämatogenen Metastasierungsweg einen entscheidenden Schritt darstellt, liegt die Vermutung einer prognostischen Bedeutung der Sialyl LeX-Expression bei hämatogen metastasierenden Karzinomen nahe.

2.1.2.2 Bedeutung für das kolorektale Karzinom

Fukushi et al. beschrieben 1984 erstmals das Vorkommen von Sialyl LeX auf Zellen kolorektaler Adenokarzinome, wohingegen das Antigen auf gesunder Dickdarmschleimhaut nicht nachzuweisen war ^[93]. Die Hypothese einer erhöhten Metastasierungstendenz Sialyl LeX-exprimierender Darmtumoren veröffentlichten Hoff et al. bereits 1989 auf der Grundlage klinisch-pathologischer Korrelationen ^[94], während zu die-

sem Zeitpunkt die physiologische Funktion des Tetrasaccharids noch gar nicht als geklärt betrachtet werden konnte. In der Zwischenzeit wurden von verschiedenen Forschungsgruppen Arbeiten zur prognostischen Bedeutung von Sialyl LeX für das kolorektale Karzinom veröffentlicht ^[95-97], wobei in den frühen Studien, wohl auf Grund einer geringeren Sensitivität der dabei verwendeten Antikörper FH6 bzw. CSLEX, deutlich kleinere Anteile Sialyl LeX exprimierender Tumoren beschrieben wurden als mit dem Antikörper AM-3. Mit Letzterem konnten mittels ELISA sogar geringste Mengen an Sialyl LeX auch auf gesunder Darmschleimhaut nachgewiesen werden, zu wenig jedoch für eine immunhistochemische Darstellung ^[98]. In einer weiterführenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass auf der physiologischen Kolonmukosa fast ausschließlich eine O-acetylierte, nicht durch die bekannten Antikörper detektierbare, Variante von Sialyl LeX anzutreffen ist. Erst während der epithelialen Entartung im Sinne der Adenom-Karzinom-Sequenz findet eine Verschiebung hin zur biologisch aktiven N-acetylierten Form statt ^[99].

2.2 FRAGESTELLUNG

Ziel der hier vorliegenden Studie war es, eine Korrelation zwischen der Sialyl LeX-Expression kolorektaler Karzinome und dem Langzeitüberleben sowie dem rezidivfreien Überleben der Patienten mittels immunhistochemischer Verfahren an einem gut nachgesorgten Patientengut zu überprüfen. Dabei musste für die Auswertung der immunhistochemisch dargestellten Sialyl LeX-Expression ein möglichst zuverlässiger Score im Sinne einer Rationalskala entwickelt werden. Die statistische Verknüpfung der ermittelten Expressionswerte mit den recherchierten Überlebenszeiten sowie die kritische Interpretation dieser Ergebnisse stellen die Antwort auf die Fragestellung dar.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 PATIENTENGUT UND HISTOPATHOLOGISCHES MATERIAL

Von den 516 Patienten, welche sich im Zeitraum zwischen dem 01. Januar 2000 und dem 31. Dezember 2004 in der Chirurgischen Klinik der Universität Rostock der primären chirurgischen Resektion eines kolorektalen Karzinoms unterzogen, wurde jeweils eine umfassende Erhebung prä-, intra- und postoperativer Daten sowie eine Nachsorgeerfassung durchgeführt. Hierbei wurden sowohl die primär kurativ behandelten, als auch die im Rahmen eines palliativen Therapieansatzes lokal radikal operierten Patienten mit einbezogen.

Für die immunhistochemische Darstellung der Sialyl LeX-Exprimierung wurde auf die in Paraffin eingebetteten und archivierten OP-Präparate im Institut für Pathologie der Universität Rostock zurückgegriffen. Auf Grund von Knappheit an Tumormaterial bei den kleineren Karzinomen mit UICC-Stadium I oder II wurde die Untersuchungsgruppe auf die 278 Patienten mit Tumoren im Stadium III und IV reduziert, wobei letztendlich wegen verschiedener Ursachen nur für 215 Patienten ein geeigneter Block identifiziert werden konnte.

Die Anfertigung mikroskopierbarer Schnitte von den Paraffinblöcken erfolgte im histologischen Labor des Instituts für Experimentelle Chirurgie. Die eigentliche immunhistochemische Färbung wiederum wurde am Neurodegeneration Research Laboratory der Klinik für Neurologie durchgeführt.

3.2 DATENERFASSUNG

Für die Erfassung der perioperativen Daten wurde sowohl auf die archivierten klassischen Patientenakten als auch auf das digitale Krankenhausinformationssystem der Universitätsklinik zurückgegriffen. Die hierbei ermittelten Daten wurden zunächst in einem speziell entwickelten Fragebogen festgehalten und später in eine SPSS[®]-Datenbank zur weiteren Auswertung übertragen. Die erfassten Datensätze können grob in die sechs Teilbereiche allgemeine Patientendaten, präoperative Befunde, Angaben zur Operation, postoperativer Verlauf, histopathologischer Befund sowie Angaben zur geplanten Nachsorge gegliedert werden (s. Abbildung 3).

Erhebungsbogen für Kolon-Rektum-Chirurgie	
Patientendaten	
Name	Aufnahmedatum [TT] [MM] [JJ]
Vorname	Operationsdatum [TT] [MM] [JJ]
Geschlecht m <input type="checkbox"/> w <input type="checkbox"/>	Entlassungsdatum [TT] [MM] [JJ]
Geburtsdatum [TT] [MM] [JJ]	
Anschrift [P] [Z] []	
Telefon /	Gewicht: ___ kg
Hausarzt Name	Größe: ___ cm
Vorname	ASA: ___
Geschlecht m <input type="checkbox"/> w <input type="checkbox"/>	
Anschrift [P] [Z] []	
Telefon /	
Diagnose	
<input type="checkbox"/> Colonicarzinom <input type="checkbox"/> Rektumkarzinom <input type="checkbox"/> CED <input type="checkbox"/> Divertikulitis <input type="checkbox"/> andere: _____	
Histologie	
T <input type="checkbox"/> Tx <input type="checkbox"/> T0 <input type="checkbox"/> T1 <input type="checkbox"/> T2 <input type="checkbox"/> T3 <input type="checkbox"/> T4 <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> unbekannt
N <input type="checkbox"/> Nx <input type="checkbox"/> N0 <input type="checkbox"/> N1 <input type="checkbox"/> N2 <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> unbekannt; [] [] [] LK untersucht; [] [] mit Metastasen
M <input type="checkbox"/> Mx <input type="checkbox"/> M0 <input type="checkbox"/> M1 <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Leber <input type="checkbox"/> Lunge <input type="checkbox"/> andere Lokalisation
L <input type="checkbox"/> Lx <input type="checkbox"/> L0 <input type="checkbox"/> L1 <input type="checkbox"/>	
V <input type="checkbox"/> Vx <input type="checkbox"/> V0 <input type="checkbox"/> V1 <input type="checkbox"/> V2 <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> kleinster Abstand zur zirkumferentiellen Abtragungsebene: ___ mm
Radikalität <input type="checkbox"/> R0 <input type="checkbox"/> R1 <input type="checkbox"/> R2 <input type="checkbox"/>	
Differenzierung <input type="checkbox"/> ggr. <input type="checkbox"/> mittel <input type="checkbox"/> hoch	
Adenokarzinom <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> andere _____	
UICC-Stadium <input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III <input type="checkbox"/> IV <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> unbekannt
Weiterführende Untersuchung <input type="checkbox"/> HNPCC <input type="checkbox"/> APC-Mutation <input type="checkbox"/>	
Anamnese	
Stuhlveränderungen <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	Ileus <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Diarrhoe <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	Gewichtsabnahme <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>
Obstipation <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	in kg ___ oder ___ %
Schleim <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	Symptombdauer in Monaten ___
Blut <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Schmerzen <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	
Familiäre Häufung <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Kinder <input type="checkbox"/> Geschwister <input type="checkbox"/> Großeltern
Präoperative Diagnostik (ggf. nach neoadjuvanter Behandlung)	
<input type="checkbox"/> Resistenz <input type="checkbox"/> Peritonitis	
<input type="checkbox"/> Colonoskopie: Tumorhöhe in ___ cm ab ano; Ausdehnung ___ cm; ___ % der Zirkumferenz	
<input type="checkbox"/> O Zweitbefund <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja (O Polyp, O Karzinom, O Divertikel); <input type="checkbox"/> nicht passierbar	
<input type="checkbox"/> O Rektoskopie: Tumorhöhe in ___ cm ab ano; Ausdehnung ___ cm; ___ % der Zirkumferenz	
<input type="checkbox"/> O KM-Einlauf: Tumorhöhe in ___ cm ab ano; Ausdehnung ___ cm; ___ % der Zirkumferenz	
<input type="checkbox"/> O Zweitbefund <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja (O Polyp, O Karzinom, O Divertikel); <input type="checkbox"/> nicht passierbar	
Tx	T0 T1 T2 T3 T4 Nx N0 N1 N2 Mx M0 M1
<input type="checkbox"/> O Endosonographie (u)	<input type="checkbox"/> O
<input type="checkbox"/> O CT	<input type="checkbox"/> O
<input type="checkbox"/> O MRT	<input type="checkbox"/> O
<input type="checkbox"/> O Röntgen Thorax	<input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> O
<input type="checkbox"/> O Sonographie	<input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> O <input type="checkbox"/> O
Operation [TT] [MM] [JJ]	
Operateur /	O Stoma <input type="checkbox"/> O Zufallsbefund <input type="checkbox"/>
Operationsart	<input type="checkbox"/> keine Resektion <input type="checkbox"/> O Stoma <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/> O ja <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Ileocecalresektion <input type="checkbox"/> O protektives Ileostoma <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Hemikolektomie rechts (O erw.) <input type="checkbox"/> O endständiges Stoma <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Transversumresektion <input type="checkbox"/> O Pouch <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Hemikolektomie links (O erw.) <input type="checkbox"/> O Anastomose <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/> O ja <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Sigmaresektion <input type="checkbox"/> O Hand <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Hartmann <input type="checkbox"/> O Stapler (Größe ___)
	<input type="checkbox"/> isostomale Kolektomie <input type="checkbox"/> O Ethicon <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> Kolektomie <input type="checkbox"/> O Autosuture <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> abd. per. Rektumexzision <input type="checkbox"/> O andere _____
	<input type="checkbox"/> tiefe ant. Rektumresektion
	<input type="checkbox"/> ant. Rektumresektion
	<input type="checkbox"/> lokale Exzision
	<input type="checkbox"/> Segmentresektion (_____) <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> andere (_____) <input type="checkbox"/>
Komplette Lymphadenektomie	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
TME	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Laparoskopische Operation	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Lokal radikal	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Kurative Operation	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Perioperative Tumorinzision	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Rektale Perforation	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Resektion weiterer Organe	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Intraoperative Cystostomie	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Intraoperativer Ultraschall	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Rektaler Washout (Braunolspülung)	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Drainagen	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Blutverlust	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/>
Operationszeit	Start [: :] , Stop [: :]
Sigmadivertikulitis	
Hinchey	<input type="checkbox"/> I <input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III <input type="checkbox"/> IV
Komplikationen (innerhalb von 30 Tagen)	
Komplikationen	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/>
Kardiovaskulär	<input type="checkbox"/> O Infarkt <input type="checkbox"/> O TVT <input type="checkbox"/> O LAE <input type="checkbox"/> O andere _____
Infektion	<input type="checkbox"/> O Sepsis <input type="checkbox"/> O Pneumonie <input type="checkbox"/> O HWI <input type="checkbox"/> O andere _____
Chirurgisch	<input type="checkbox"/> O Wundinfekt <input type="checkbox"/> O Nachblutung <input type="checkbox"/> O Abszess <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> O Anastomoseninsuffizienz <input type="checkbox"/> O Wunddehiszenz <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> O Stomakomplikation <input type="checkbox"/> O protrahierte Darmparalyse <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> O Ileus <input type="checkbox"/> O andere: _____
Revision	<input type="checkbox"/> O nein <input type="checkbox"/> ja, Datum: [TT] [MM] [JJ]
Art	_____
Andere Komplikationen	<input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/>
Nachsorge geplant durch	
Gepantes Vorgehen	<input type="checkbox"/> keine Therapie <input type="checkbox"/> O palliativ (O Chemo <input type="checkbox"/> O Radiatio) <input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> adjuvant (O Chemo <input type="checkbox"/> O Radiatio) <input type="checkbox"/>
Erfasst von _____	

Abbildung 3: Erfassungsbogen zur Dokumentation der perioperativen Daten

Die Nachsorgedaten konnten bei den im Raum Rostock die adjuvante Weiterbehandlung übernehmenden Onkologen mittels direkter Einblicknahme in deren Praxis- bzw. Klinikunterlagen erhoben werden. Sobald bei einem Patient nach Leitlinienempfehlung keine Notwendigkeit zu einer adjuvanten Nachbehandlung bestand oder der weiterbehandelnde Onkologe zunächst unbekannt war, wurde der jeweilige Hausarzt zur Erfassung der Nachsorgedaten schriftlich kontaktiert. In einem weiteren Schritt wurden nachträglich ermittelte sowie einige, nicht in der näheren Umgebung praktizierende Onkologen angeschrieben. Wenn in Einzelfällen auch auf diesem Wege keine vollständige Datenerhebung möglich war, konnten die Datensätze durch Abfrage des Tumorregisters sowie der Totenscheinstelle, in Sonderfällen auch durch telefonische Kontaktaufnahme mit dem Patienten oder dessen Angehörigen komplettiert werden. Die protokollierten Daten umfassen detaillierte Angaben zu adjuvanter Therapieschema und -zeitraum, zu eventuell im Rahmen der Therapie aufgetretenen Komplikationen, zu Therapieerfolgen oder aber einem Krankheitsprogress (Lokal- oder Fernrezidiv), zu Komplettierung bzw. Abbruch der Therapie sowie zum Ergebnis der letzten bekannten Nachsorgeunters-

chung oder aber einem eventuell eingetretenen Todesfall. Bei Letzterem wurde neben der Erfassung des Todesdatums eine Differenzierung zwischen tumorbedingten Sterbefällen bei Rezidiv bzw. Progress und nicht mit der Tumorerkrankung in Verbindung bringenden Fällen vorgenommen. Sämtliche hierbei ermittelten Daten wurden im Anschluss den Datensätzen der SPSS[®]-Datenbank angefügt.

3.3 MATERIALBESCHAFFUNG UND -AUFBEREITUNG

Anhand des jeweiligen histopathologischen Befundes wurde zu jedem Patienten die entsprechende histologische Fallnummer ermittelt. Da jedoch zu vielen der Darmkrebsfälle auf Grund umfangreicher intraoperativer Materialentnahme mehrere Paraffinblöcke existieren, musste mittels der zu jedem Block verfügbaren H.-E.-Schnitte zunächst eine Identifizierung des am besten für die Färbung geeigneten Präparates am Lichtmikroskop durchgeführt werden. Daraufhin konnte der entsprechende Block dem Archiv entnommen werden.

Für die Schnittanfertigung stand ein halbautomatisches Rotationsmikrotom der Firma Leica[®] mit Wasserbad zur Verfügung. Zu jedem Fall wurden 3 Schnitte à 4µm von dem zuvor identifizierten Block angefertigt und jeweils auf einen Polysine[®] beschichteten Objektträger übertragen. Nach kurzer Glättung und Zentrierung der Schnitte auf dem Objektträger mittels Warmwasserbad wurden die Schnitte für eine Stunde bei 60°C im Wärmeschrank erhitzt und somit in ihrer Position auf dem Objektträger fixiert.

3.4 IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG

3.4.1 Grundlegende Methodik

Die immunhistochemische Färbung erfolgte nach der so genannten „indirekten Methode“ mit einem modernen Polymer-System. Hierbei bindet zunächst ein spezifischer Primärantikörper an das darzustellende Epitop, woraufhin in einem zweiten Schritt ein mit dem Enzym Peroxidase beladener Sekundärantikörper an den ersten gekoppelt wird. Um eine möglichst große Menge an Enzym auf dem Sekundärantikörper unterbringen zu können, ist dieser mit einem Polymer wie z.B. Dextrane bestückt. Der im letzten Schritt zusammen mit Wasserstoffperoxid hinzugefügte, zunächst farblose Farbstoff

DAB führt schlussendlich nur dort zu einer spezifischen Anfärbung des Präparats, wo er durch Protonen, welche durch Peroxidase aus dem Wasserstoffperoxid freigesetzt werden, oxidiert wird. Damit es hierbei nicht zu einer unspezifischen Hintergrundfärbung durch im zu untersuchenden Gewebe vorhandene endogene Peroxidase kommt, sollte diese zu Beginn des Färbeprozesses mittels einer Peroxidase-blockierenden Substanz möglichst vollständig deaktiviert werden.

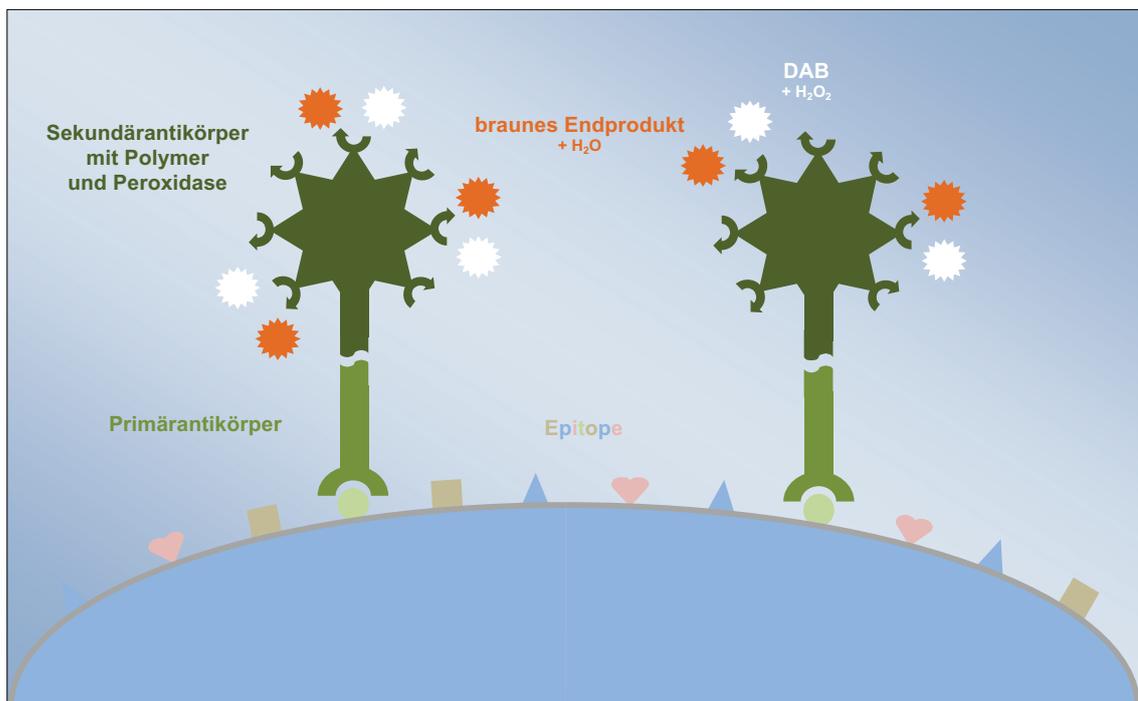


Abbildung 4: Schematische Darstellung der indirekten immunhistochemischen Färbung

Vor der eigentlichen Färbung stehen die Entparaffinierung der Präparate mittels organischen Lösungsmitteln wie Xylol und anschließender absteigender Alkoholreihe sowie die sogenannte Antigendemaskierung, mit der verlorene Immunreaktivität von formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe teilweise wiederhergestellt werden kann. Durch die Fixierung entstandene Quervernetzungen zwischen Proteinen werden hierbei durch enzymatische Prozesse in begrenztem Umfang wieder gelöst, so dass ursprüngliche Bindungsstellen wieder zur Verfügung stehen.

3.4.2 Verwendete Substanzen und Geräte

Als Primärantikörper gegen Sialyl LeX wurde ein monoklonales Maus-IgM der Firma Kamiya Biomedical Company[®] eingesetzt. Da die endgültige Färbung von jeweils ei-

nem Schnitt pro Patient automatisiert mit dem Leica Bond Max[®] fully integrated IHC System erfolgte, wurde sowohl für die Entparaffinierung und Antigendemaskierung als auch für das Färbesystem bestehend aus Peroxidaseblock, Sekundärantikörper, Farbsubstrat und Hämatoxylin für die Gegenfärbung auf die entsprechenden Bond[®]-Kits der Firma Leica[®] / A. Menarini[®] zurückgegriffen. Nach abschließender Dehydrierung der Präparate mittels aufsteigender Alkoholreihe übernahm der Leica[®] Robotic Coverslipper die Eindeckung mit Deckgläschen.

Tabelle 9: Für die immunhistochemische Färbung verwendete Substanzen

Funktion	Substanz	
Entparaffinierung	Bond [®] Dewax Solution Alkohol 96%	Best.-Nr. AR9222 (Laborbestand)
Antigendemaskierung	Bond [®] Antigen Retrieval Solution	Best.-Nr. AR9640
Primärantikörper	Kamiya [®] Anti-Sialyl LeX mAb KM93	Best.-Nr. MC-014
Sekundärantikörper, Polymer, DAB Refine und Hämatoxylin	Bond [®] Polymer Refine Kit	Best.-Nr. DS9800
Dehydrierung	Alkohol 70%, Alkohol 96%, Xylol	(Laborbestand)
Eindeckung	Medite [®] Pertex [®] Medite [®] Deckgläser	Best.-Nr. PER 30000 Best.-Nr. 46-7160-00
Waschschritte	Bond [®] Wash Solution destilliertes Wasser	Best.-Nr. AR9590 (Laborbestand)

3.4.3 Positivkontrolle des Primärantikörpers

Die Positivkontrolle des Primärantikörpers erfolgte mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie an der Sialyl LeX-positiven HROC24-Zelllinie der Forschungsgruppe „Molekulare Onkologie und Immuntherapie“ am biomedizinischen Forschungszentrum der Universität Rostock. Zur Markierung der an Sialyl LeX gebundenen Primärantikörper wurde das Goat-anti-mouse Ig-FITC der Firma Dako[®] (Best.-Nr. F0479) eingesetzt, welches bei einer Anregungswellenlänge von 488nm durch den Argonlaser des FACSCalibur[®] der Firma BD Biosciences[®] Licht mit einer Wellenlänge von 519nm emittiert. In Abbildung 4 ist in der ersten Grafikzeile das Messergebnis einer Negativkontrolle mit HROC24-Zellen sowie Fluoreszenz-markiertem Sekundärantikörper, jedoch ohne den Primärantikörper gegen Sialyl LeX dargestellt. In den Diagrammen der zweiten Zeile lässt sich die Emissionszunahme nach Zugabe des zu testenden Primäran-

tikörpers unschwer erkennen, was für eine erfolgte Bindung des spezifischen Antikörpers spricht.

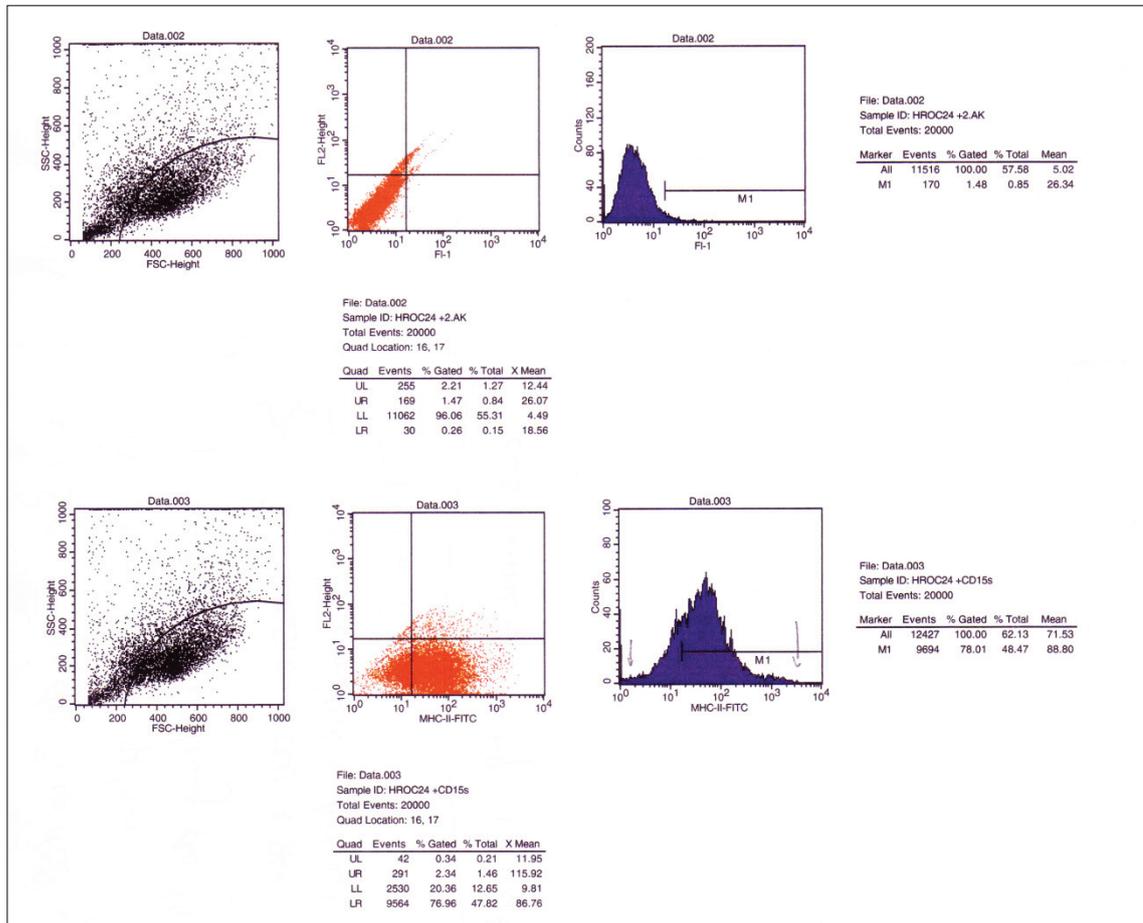


Abbildung 5: Ergebnis der Positivkontrolle des Primärantikörpers mittels fluoreszenzbasierter Durchflusszytometrie

3.4.4 Protokoll der immunhistochemischen Färbung

In Tabelle 10 und 11 ist der programmierte Ablauf der immunhistochemischen Färbung einschließlich der initialen Entparaffinierung und Antigendemaskierung sowie der abschließenden Dehydrierung in tabellarischer Form dargestellt.

Tabelle 10: Protokoll der initialen Entparaffinierung und Antigendemaskierung

Substanz	Reaktionszeit (wenn nicht anders angegeben, bei Raumtemperatur)
Entparaffinierung	
Dewax Solution	30s bei 72°C
Dewax Solution	2x 1min
Alkohol 96%	3x 1min
Wash Solution	3x waschen (zuletzt für 5min)
Antigendemaskierung	
Antigen Retrieval Solution	20min bei 100°C
Antigen Retrieval Solution	1x 12min
Wash Solution	3x waschen (zuletzt für 3min)

Tabelle 11: Protokoll der immunhistochemischen Färbung einschließlich abschließender Dehydrierung

Substanz	Reaktionszeit (bei Raumtemperatur)
Färbung	
Peroxidase Block	5min
Wash Solution	3x waschen
Primärantikörper	30min
1:120 mit PBS verdünnt	
Wash Solution	3x waschen
Sekundärantikörper	8min
Wash Solution	3x 2min waschen
Polymer	8min
Wash Solution	2x 2min waschen
destilliertes Wasser	1x waschen
Mixed DAB Refine	20min
destilliertes Wasser	3x waschen
Hämatoxylin	5min
destilliertes Wasser	3x waschen
Dehydrierung	
Alkohol 70%	1x 1min
Alkohol 96%	2x 1min
Xylol	2x 1min

3.5 HISTOLOGISCHES SCORING

Für die Gradeinteilung der Sialyl LeX-Expression jedes einzelnen Präparates wurden zunächst 100 beliebig entnommene Präparate lichtmikroskopisch jeweils mit aufsteigender Vergrößerung gesichtet, um typische Färbemuster zu charakterisieren und kategorisieren, mittels derer im Folgenden ein mehrstufiger Score entwickelt werden konnte. Anhand dieses Färbescorings wurden die 215 Präparate von zwei unabhängigen Beobachtern beurteilt. Bei abweichender Beurteilung wurde das jeweilige Präparat im Dialog neu beurteilt. Das endgültige Scoring der immunhistochemisch dargestellten Sialyl LeX-Expression wurde in die SPSS[®]-Datenbank übernommen.

3.6 STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die erhobenen Datensätze wurden unter Zuhilfenahme der statistischen Routinen des Programms SPSS[®] 15.0 analysiert. Für die Darstellung grundlegender Zusammenhänge wurden die Werte in Kreuztabellen abgebildet und anhand des Pearson Chi-Quadrat Tests bzw. des Fisher Exakt Tests auf ihre Signifikanz getestet^[100]. Für die Korrelierung der Sialyl LeX-Expression mit den Nachsorgedaten fanden zunächst Kaplan-Meier-Kurven, aufgetrennt nach den Stufen des Färbescorings, Verwendung. Um die Score-Grenze (engl. Cutoff) zu ermitteln, welche am besten zwischen einer Gruppe mit einem höheren und einer mit niedrigerem Risiko an einem tumorbedingten Tod zu sterben differenziert, wurde zunächst für jeden Patienten das martingale Residuum bestimmt, welches der Differenz aus dem erfassten Status (am Leben bzw. am Tumor verstorben) und dem mittels des Cox-Regressionsmodells berechneten kumulativen Risiko des Patienten zum Ende des Beobachtungszeitraums entspricht. Die ermittelten Werte wurden über den Färbescore aufgetragen und mittels der LOESS-Methode als Funktion des Scores dargestellt. Am Schnittpunkt der Funktion mit der Nulllinie konnte daraufhin der optimale Cutoff abgelesen werden^[101-105]. Im Weiteren wurden 5-Jahres-Überlebensraten und rezidivfreie Zeiten für die so entstandenen zwei Gruppen an Hand von Kaplan-Meier-Kurven verglichen. Für die Überprüfung signifikanter Zusammenhänge zwischen den Kaplan-Meier-Kurven stand der log-rank Test zur Verfügung. Generell wurden Ergebnisse mit einem p-Wert < 0,05 als signifikant betrachtet^[100].

4 ERGEBNISSE

4.1 PATIENTENGUT

4.1.1 Patienten- und Tumorcharakteristika

Von den 516 primär erfassten Patienten konnten hauptsächlich auf Grund von Knappheit an Tumormaterial letzten Endes 215 Patienten in die Auswertungen mit einbezogen werden. Bei diesen handelt es sich, wie unter 3.1. erläutert, ausschließlich um Patienten mit Tumoren der UICC-Stadien III und IV. In den Tabellen 12 und 13 sind die Patienten- und Tumorcharakteristika der untersuchten Gruppe denen der Gesamtpatientenzahl gegenübergestellt. Parameter, bei denen signifikante Abweichungen der Untersuchungsgruppe vom Gesamtpatientengut auftraten, sind neben der bereits erwähnten Stadienverteilung ein größerer Anteil an Notfalleingriffen (12,1% vs. 8,7%, $p = 0,026$) sowie an Patienten mit einem ASA-Score über II (52,1% vs. 45,5%, $p = 0,012$) im einbezogenen Patientengut. Weiterhin zeigte sich bei den untersuchten Patienten ein etwas höherer Prozentsatz an Vorerkrankten (84,1% vs. 79,8%, $p = 0,045$). Jedoch lassen sich hierbei keine signifikanten Häufigkeitsunterschiede für eine bestimmte Erkrankung ausmachen.

4.1.2 Operationsarten und postoperative Komplikationen

Bei Betrachtung der durchgeführten Operationsarten zeigt sich, dass bei den untersuchten Patienten die Zahl der Linkshemikolektomien (12,0% vs. 19,0%, $p = 0,005$) und der Rektumexstirpationen (15,1% vs. 23,2%, $p = 0,049$) weniger stark dominiert als im Gesamtpatientengut (s. Tabelle 14). In Bezug auf die postoperativen Komplikationen sowie die postoperative Mortalität lassen sich keine signifikanten Abweichungen für die Untersuchungsgruppe ermitteln (s. Tabelle 15).

Tabelle 12: Patientencharakteristika

	untersuchte Patienten n (%)	alle erfassten Patienten n (%)
Patienten insgesamt	215 (100)	516 (100)
Alter (Jahre)	67,39	67,66
Geschlecht (f : m)	1 : 1,26	1 : 1,18
weiblich	95 (44,2)	237 (45,9)
männlich	120 (55,8)	279 (54,1)
Dringlichkeit der Operation		
Notfalleingriff *	26 (12,1)	45 (8,7)
elektiver Eingriff *	189 (87,9)	471 (91,3)
Risikoabschätzung		
ASA I-II *	103 (47,9)	281 (54,5)
ASA III-IV *	112 (52,1)	235 (45,5)
BMI < 25	71 (46,1)	164 (43,9)
BMI ≥ 25	83 (53,9)	210 (56,1)
Vorerkrankungen *	181 (84,1)	412 (79,8)
pulmonal	26 (12,1)	65 (12,6)
kardiovaskulär	63 (29,3)	159 (30,8)
renal	12 (5,6)	35 (6,8)
Diabetes mellitus	49 (22,8)	109 (21,1)
arterielle Hypertonie	114 (53,0)	247 (47,9)
andere	123 (57,2)	272 (52,7)

* p < 0,05

Tabelle 13: Tumorcharakteristika

	untersuchte Patienten n (%)	alle erfassten Patienten n (%)
Patienten insgesamt	215 (100)	516 (100)
Tumorstaging		
UICC I *	0 (0,0)	129 (25,0)
UICC II *	0 (0,0)	109 (21,1)
UICC III *	113 (52,6)	148 (28,7)
UICC IV *	102 (47,4)	130 (25,2)
Tumorlokalisation im Colon	142 (66,0)	331 (64,1)
rechtes Hemikolon	62 (43,7)	130 (39,3)
Colon transversum	18 (12,7)	41 (12,4)
linkes Hemikolon	6 (4,2)	25 (7,6)
Colon sigmoideum	56 (39,4)	135 (40,8)
Tumorlokalisation im Rektum	73 (34,0)	185 (35,9)

* p < 0,05

Tabelle 14: Operationsarten

	untersuchte Patienten n (%)	alle erfassten Patienten n (%)
Patienten insgesamt	215 (100)	516 (100)
Kolonkarzinom	142 (66,0)	331 (64,1)
(erweiterte) Rechtshemikolektomie	60 (42,3)	130 (39,3)
Transversumresektion	7 (4,9)	16 (4,8)
(erweiterte) Linkshemikolektomie *	17 (12,0)	63 (19,0)
(Rekto-) Sigmoidresektion	34 (23,9)	78 (23,6)
Hartmann	9 (6,3)	15 (4,5)
andere Operationsarten	15 (10,6)	29 (8,8)
Rektumkarzinom	73 (34,0)	185 (35,9)
Rektosigmoidresektion	9 (12,3)	15 (8,1)
(tiefe) anteriore Resektion	46 (63,0)	114 (61,6)
Hartmann	5 (6,8)	11 (5,9)
Rektumexstirpation *	11 (15,1)	43 (23,2)
intersphinktare Resektion	0 (0,0)	2 (2,7)

* p < 0,05

Tabelle 15: postoperative Komplikationen und Mortalität

	untersuchte Patienten n (%)	alle erfassten Patienten n (%)
Patienten insgesamt	215 (100)	516 (100)
30-Tage-Komplikationen	90 (41,9)	211 (40,9)
chirurgische Komplikationen	59 (27,4)	147 (28,5)
Anastomoseninsuffizienz	16 (7,4)	38 (7,4)
postoperative Blutung	5 (2,3)	9 (1,7)
intraabdomineller Abszess	10 (4,7)	15 (2,9)
Wundinfekt	17 (7,9)	39 (7,6)
Ileus	6 (2,8)	11 (2,1)
andere	15 (7,0)	47 (9,1)
nicht-chirurgische Komplikationen	42 (19,5)	101 (19,6)
Pneumonie	18 (8,4)	33 (6,4)
kardiale Komplikationen	9 (4,2)	20 (3,9)
Thrombose incl. Lungenembolie	2 (0,9)	5 (1,0)
andere	21 (9,8)	65 (12,6)
30-Tage-Mortalität	6 (2,8)	13 (2,5)

4.1.3 Adjuvante und palliative Therapie

Unter den Patienten mit einer Tumorlokalisierung im Rektum liegt der Anteil der neoadjuvant vorbehandelten deutlich unter dem im Gesamtpatientengut (9,6% vs. 30,3%, $p < 0,001$). Hingegen besteht für die Raten der adjuvant nachbehandelten Patienten im UICC-Stadium III bzw. palliativ nachbehandelten im Stadium IV kein wesentlicher Unterschied zwischen erfassten und untersuchten Patienten (s. Tabelle 16).

Tabelle 16: Adjuvante und palliative (Radio-) Chemotherapie

	untersuchte Patienten n (%)	alle erfassten Patienten n (%)
Patienten insgesamt	215 (100)	516 (100)
Rektumkarzinom	73 (34,0)	185 (35,9)
neoadj. Radiochemotherapie *	7 (9,6)	56 (30,3)
Kolon- und Rektumkarzinom UICC III	113 (52,6)	148 (28,7)
adjuvante (R)CT	89 (78,8)	116 (78,4)
Kolon- und Rektumkarzinom UICC IV	102 (47,4)	130 (25,2)
palliative (R)CT	62 (60,8)	83 (63,8)

* $p < 0,05$

4.2 FÄRBEMUSTER UND FÄRBESCORE

Der für die lichtmikroskopische Auswertung der immunhistochemisch sichtbar gemachten Sialyl LeX-Expression in diese Arbeit vollkommen neu entwickelte Färbescore differenziert zwischen den fünf auf den folgenden Seiten genauer charakterisierten Färbemustern. Tabelle 17 gibt einen Überblick.

Tabelle 17: Übersicht über den 5-stufigen Färbescore

Score	Kurzbeschreibung des Färbemusters	detaillierte Beschreibung unter
0	keine positiv gefärbten Zellen	4.2.1.
1	vereinzelt positiv gefärbte Zellen	4.2.2.
2	einzelne positiv gefärbte Zellen + kräftig angefarbter Schleim	4.2.3.
3	„schrotschussartig“ verteilte positiv gefärbte Zellen	4.2.4.
4	komplette Anfärbung nahezu aller Tumorzellen	4.2.4.

4.2.1 Keine positiv gefärbten Zellen (Score 0)

Bei einem Teil der Präparate kam es auf Grund fehlender Sialyl LeX-Expression des Tumors zu keiner Bindung des Primärantikörpers und damit letztendlich zu keiner Markierung von Zellen. Eine diskrete Anfärbung von extrazellulärem Schleim in den Krypten, welche auch in tumorfreien Abschnitten der Darmschleimhaut immer wieder beobachtet werden konnte, wurde hierbei neben der im Vorangegangenen beschriebenen Positivkontrolle des Primärantikörpers als weitere Bestätigung für einen dennoch korrekt abgelaufenen Färbeprozess genutzt.

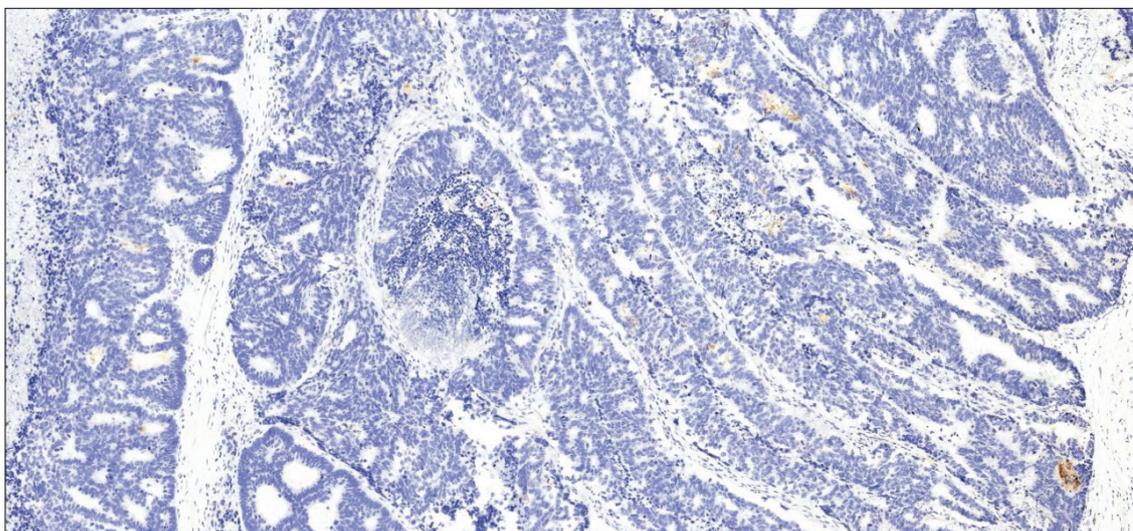


Abbildung 6: Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-0-Präparat (100-fache Vergrößerung)

4.2.2 Vereinzelt positiv gefärbte Zellen (Score 1)

Proben, bei denen einzelne Zellen sowie kleinere Zellverbände durch die Färbung als Sialyl LeX-positiv demaskiert wurden, ließen sich als charakteristisches Bild von den anderen Färbemustern abgrenzen.

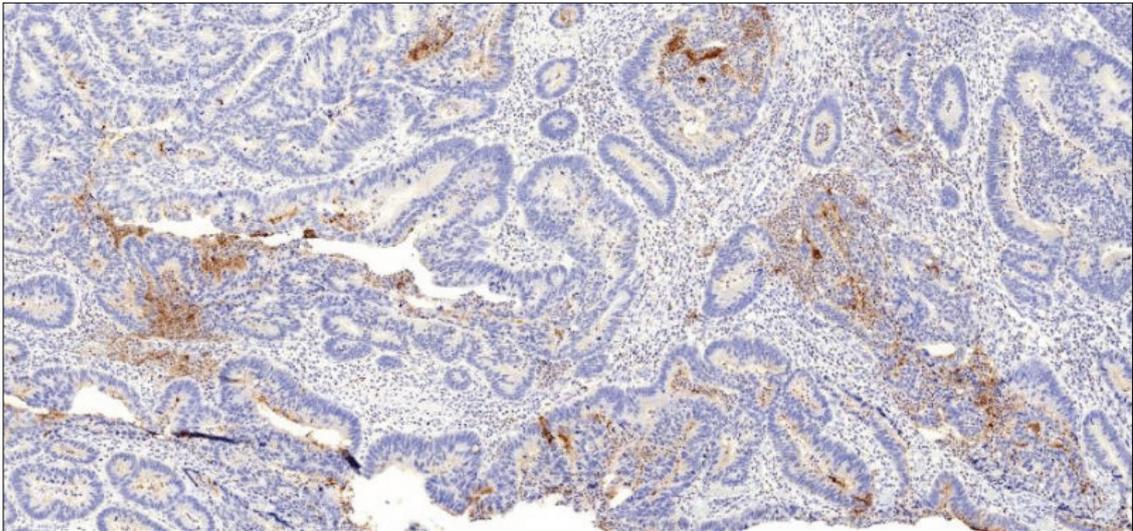


Abbildung 7: Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-1-Präparat (100-fache Vergrößerung)

4.2.3 Einzelne positiv gefärbte Zellen + kräftig angefarbter Schleim (Score 2)

Tumoren mit Anfärbung einzelner Zellen, jedoch zusätzlich deutlich ausgeprägter Markierung des extrazellulären Schleims in Krypten und Einschmelzungen des Tumors, wurden Score 2 zugeordnet.

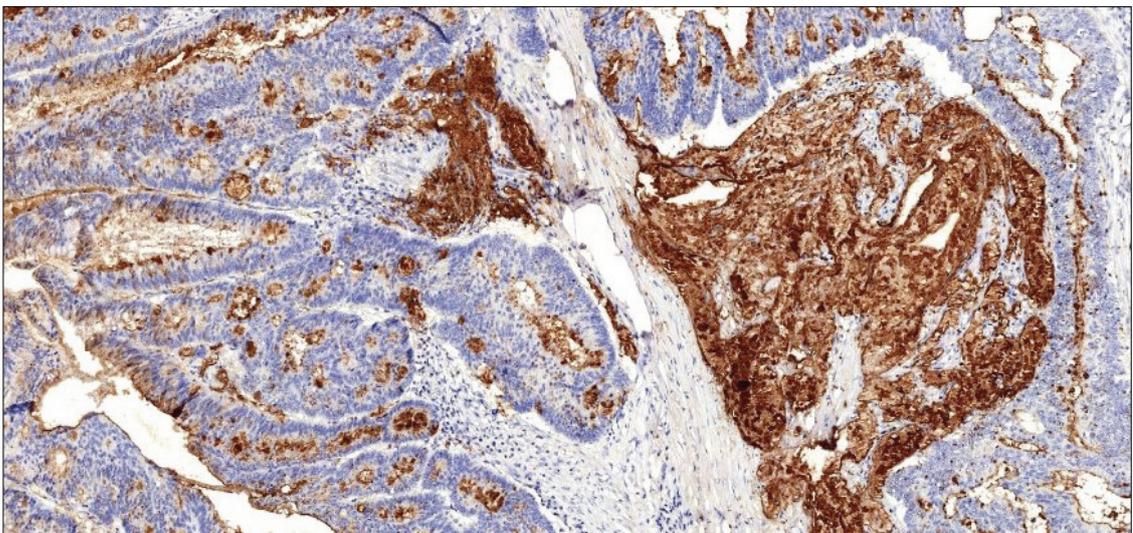


Abbildung 8: Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-2-Präparat (100-fache Vergrößerung)

4.2.4 „Schrotschussartig“ verteilte positiv gefärbte Zellen (Score 3)

Im Gegensatz zu Score 1 und 2 wies ein nicht unerheblicher Teil der Tumoren ein typisches Muster mit Anfärbung vieler einzelner, jedoch relativ homogen über den Gewebeschnitt verteilter, positiver Zellen auf.

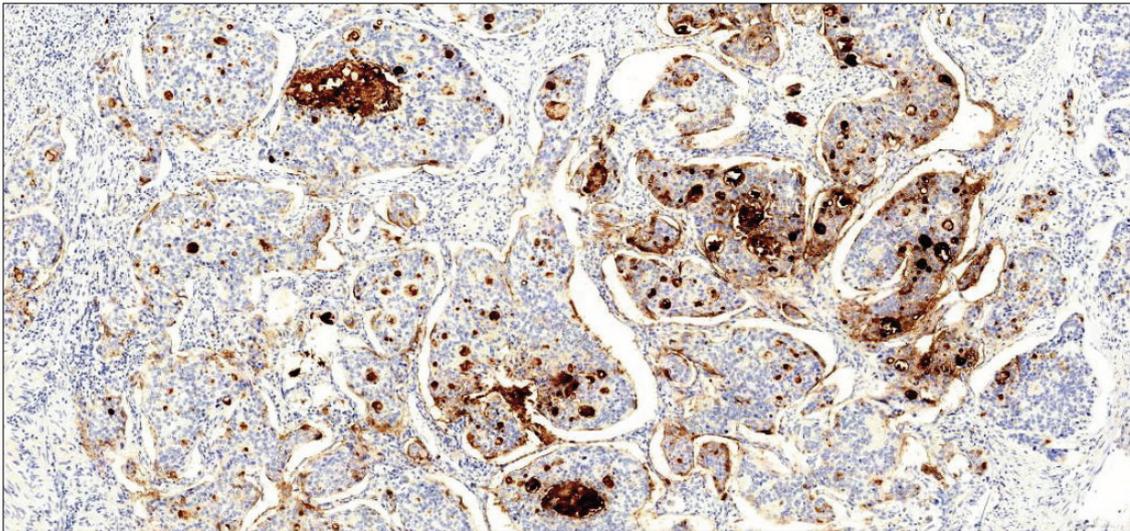


Abbildung 9: Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-3-Präparat (100-fache Vergrößerung)

4.2.5 Komplette Anfärbung nahezu aller Tumorzellen (Score 4)

Die ausgedehnteste Sialyl LeX-Expression wurde in Präparaten angenommen, in denen ein weitaus überwiegender Teil der Tumorzellen immunhistochemisch markiert wurde.

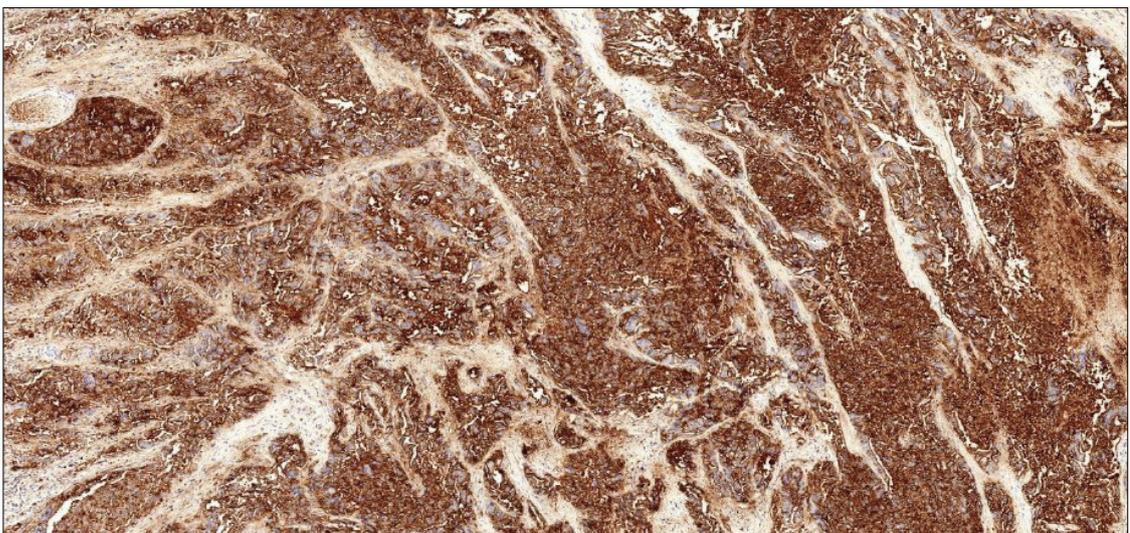


Abbildung 10: Exemplarischer Ausschnitt aus einem Score-4-Präparat (100-fache Vergrößerung)

4.2.6 Häufigkeitsverteilung der Färbemuster

Die im Vorangegangenen vorgestellten Färbemuster konnten im untersuchten Patientengut mit unterschiedlicher Häufigkeit beobachtet werden (s. Diagramm 2). Eine negative sowie sehr schwache Sialyl LeX-Expression trat dabei insgesamt deutlich seltener auf als eine mäßige bis starke. Bei über einem Drittel der Tumoren demaskierte sich neben einzelnen positiven Zellen viel positiver extrazellulärer Schleim.

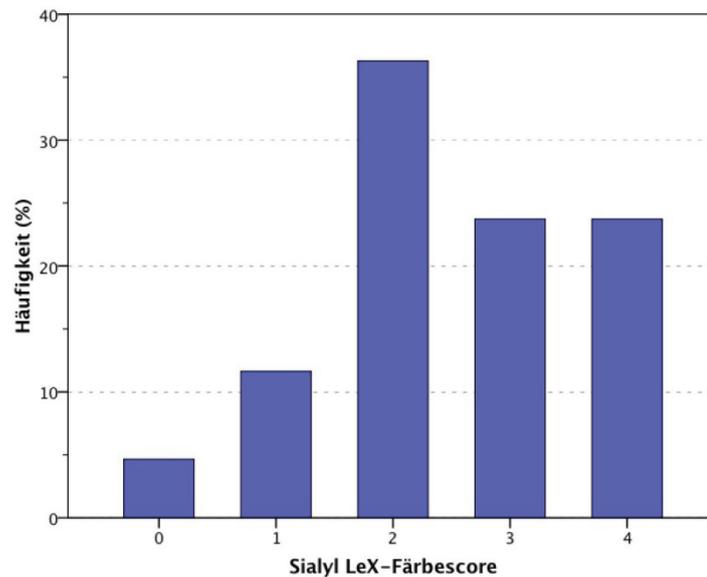


Diagramm 2: Häufigkeitsverteilung der Färbemuster

4.3 ETABLIERTE PROGNOSTISCHE FAKTOREN

4.3.1 UICC-Stadium

Das für die Planung einer adjuvanten Therapie und die prognostische Einschätzung der Tumorerkrankung etablierte UICC-Stadium zeigt auch in dem hier untersuchten Patientengut einen signifikanten Einfluss auf das tumorbezogene 5-Jahres-Überleben (s. Diagramm 3).

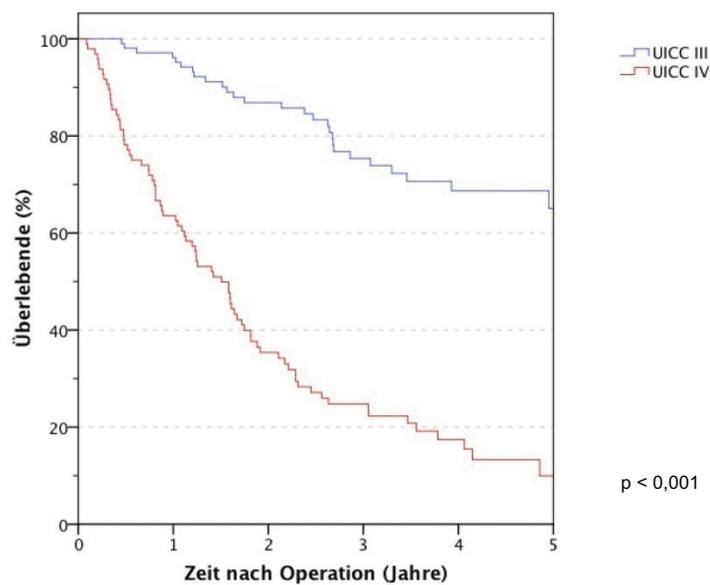


Diagramm 3: Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem UICC-Stadium

4.3.2 Tumorinfiltrationstiefe „T“

Ebenso ergeben sich bei getrennter Betrachtung der in das UICC-Stadium mit einfließenden Tumorinfiltrationstiefe „T“ signifikant voneinander abweichende Überlebenskurven (s. Diagramm 4).

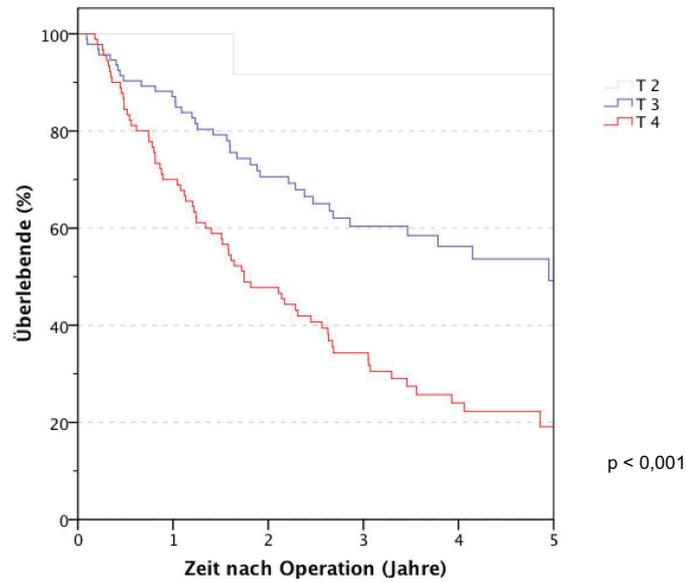


Diagramm 4: Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach der Tumorinvasionstiefe "T"
 (Für eine bessere Übersichtlichkeit ist die im vorliegenden Patientengut selten aufgetretene Invasionstiefe T2 hellgrau dargestellt.)

4.3.3 Lymphknotenbefall „N“

Auch der maligne Befall regionärer Lymphknoten, welcher mittels des „N“-Kriteriums beschrieben wird, zeigt einen signifikanten Zusammenhang mit dem tumorbezogenen 5-Jahres-Überleben der in dieser Arbeit analysierten Patienten (s. Diagramm 5).

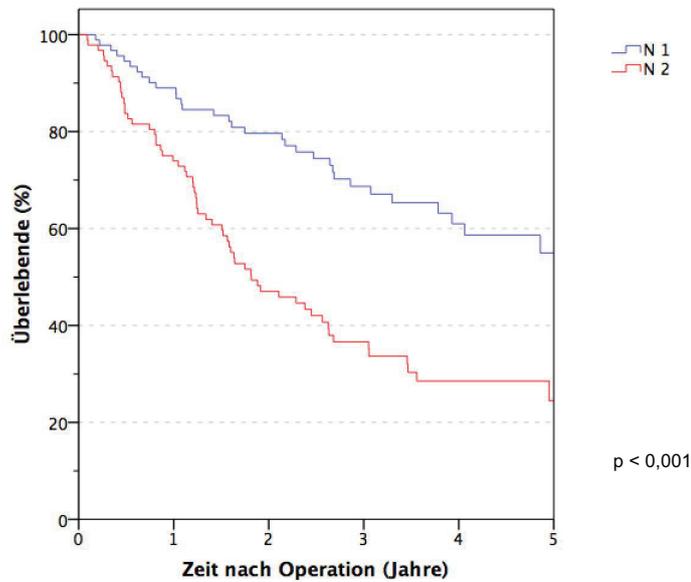


Diagramm 5: Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem Lymphknotenbefall "N"

4.3.4 Histologischer Differenzierungsgrad „G“

Ferner ist auch für den histologischen Differenzierungsgrad „G“ ein signifikanter Einfluss auf das tumorbezogene Überleben zu konstatieren (s. Diagramm 6).

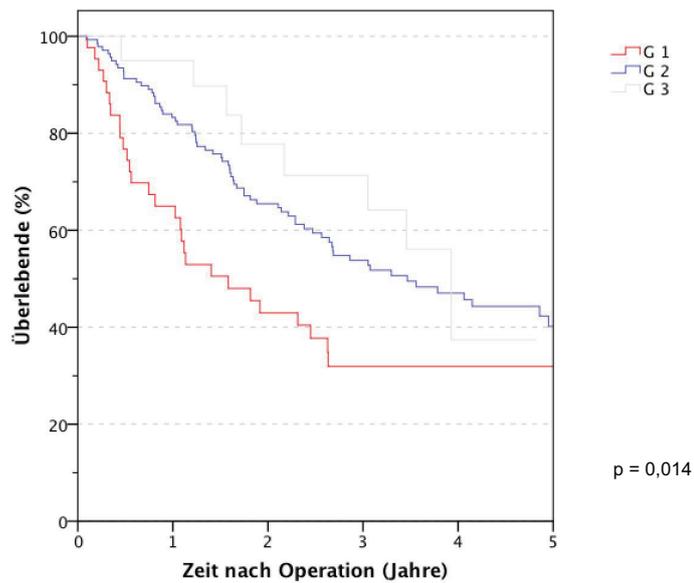


Diagramm 6: Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem histologischen Differenzierungsgrad "G" (Für eine bessere Übersichtlichkeit ist der im vorliegenden Patientengut selten aufgetretene Differenzierungsgrad G3 hellgrau dargestellt.)

4.4 SIALYL LEX-EXPRESSION ALS PROGNOTISCHER FAKTOR

4.4.1 Überlebensraten aufgeteilt nach dem fünfstufigen Färbescore

Schon bei Betrachtung der generellen Überlebensraten in Abhängigkeit von der fünfstufig differenzierten Sialyl LeX-Expression deutet sich eine Divergenz zwischen den Kurven für einen Score zwischen 0 und 2 und denen für die höheren Scores an (s. Diagramm 7).

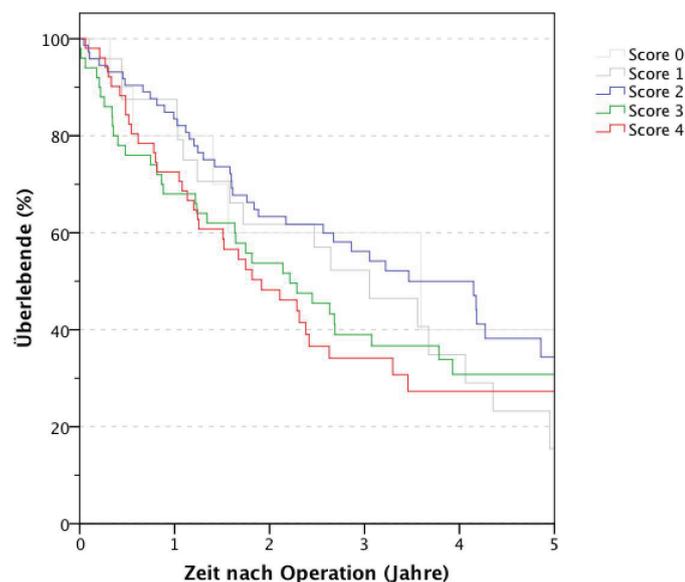


Diagramm 7: 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem 5-stufigen Färbescore (Für eine bessere Übersichtlichkeit sind die im vorliegenden Patientengut selten zugeteilten Scores 0 und 1 hellgrau dargestellt.)

Etwas deutlicher wird diese Aufteilung bei der Abbildung der tumorabhängigen Überlebensraten in Abhängigkeit vom Färbescore (s. Diagramm 8). Auch hier zeigen Scores zwischen 0 und 2 tendentiell eine bessere Überlebensrate als die höheren Score-Werte.

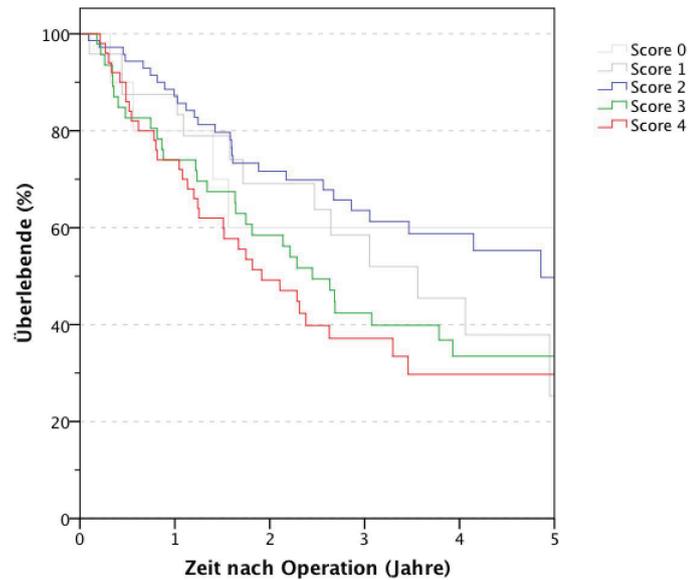


Diagramm 8: Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach dem 5-stufigen Färbescore (Für eine bessere Übersichtlichkeit sind die im vorliegenden Patientengut selten zugeteilten Scores 0 und 1 hellgrau dargestellt.)

4.4.2 Berechnung des Cutoff-Wertes

Anhand der in Diagramm 9 über den 5-stufigen Färbescore aufgetragenen martingalen Residuen lässt sich deutlich erkennen, dass Patienten mit einem Färbescore zwischen 0 und 2 ein im Durchschnitt besseres Outcome aufwiesen als nach Berechnung des kumulativen Risikos zu erwarten wäre, wohingegen es sich für Patienten mit einem Score zwischen 3 und 4 umgekehrt verhält. Der optimale Cutoff liegt somit im Bereich des Schnittpunktes des Graphen mit der Nulllinie zwischen Score 2 und 3.

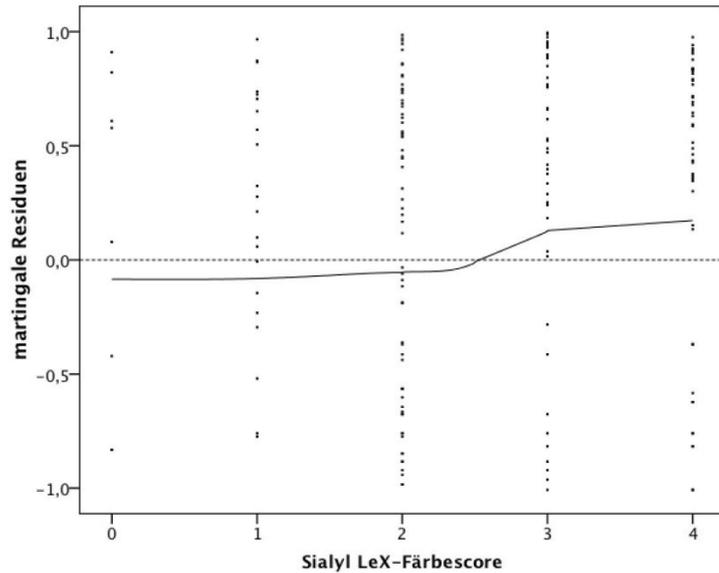


Diagramm 9: Martingale Residuen als Funktion des 5-stufigen Färbescorers

4.4.3 Überlebensraten aufgeteilt nach starker und schwacher Expression

Nach Teilung des gesamten Patientenguts bei dem berechneten Cutoff zwischen 2 und 3 erhält man eine Gruppe mit schwacher ($n = 113$) sowie eine mit starker Sialyl LeX-Expression ($n = 102$). Die Darstellung der tumorbezogenen 5-Jahres-Überlebensraten für beide Gruppen zeigt einen Unterschied mit deutlicher Signifikanz (s. Diagramm 10).

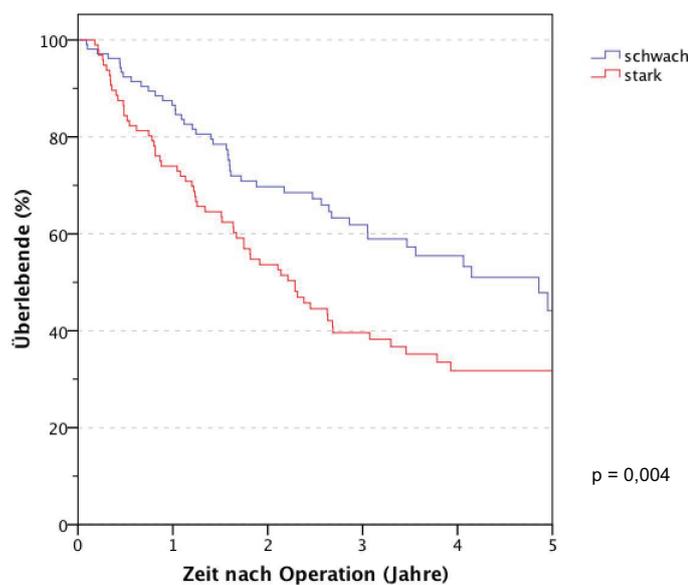


Diagramm 10: Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten aufgeteilt nach starker und schwacher Sialyl LeX-Expression

Bei getrennter Betrachtung der Patienten mit einem primär nicht-fernmetastasierten (UICC III) oder aber bei Erstdiagnose schon fernmetastasierten (UICC IV) Tumor lässt sich sowohl für das UICC-Stadium III (s. Diagramm 11) als auch für Stadium IV (s. Diagramm 12) eine signifikante Abweichung der Überlebensraten von Patienten mit stark bzw. schwach Sialyl LeX exprimierenden Tumoren feststellen.

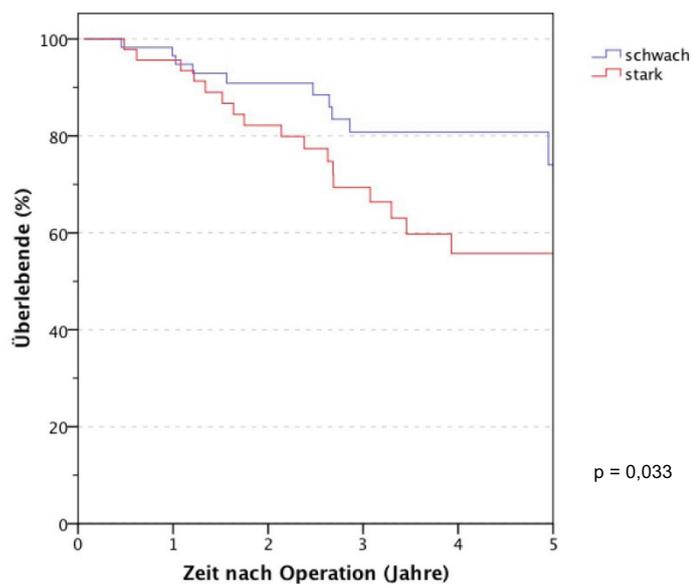


Diagramm 11: Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten im UICC-Stadium III aufgeteilt nach starker und schwacher Sialyl LeX-Expression

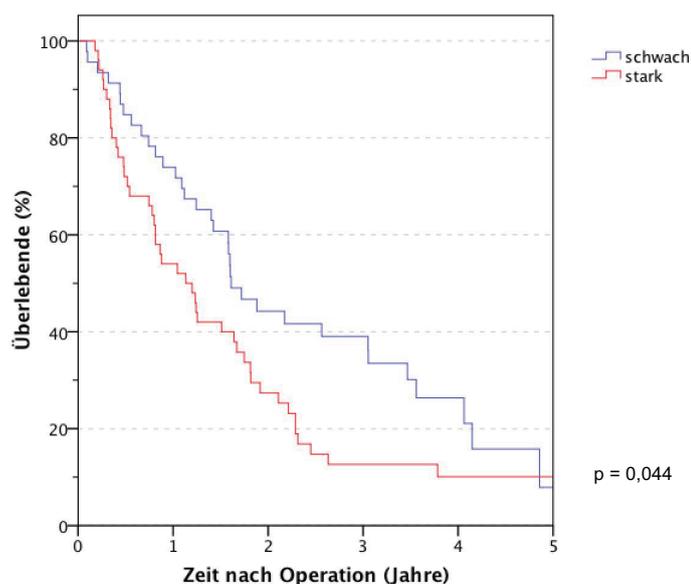


Diagramm 12: Tumorbezogene 5-Jahres-Überlebensraten im UICC-Stadium IV aufgeteilt nach starker und schwacher Sialyl LeX-Expression

4.4.4 Rezidivfreiheit

Für die rezidivfreie Zeit ließen sich im Gegensatz zu den zuvor dargestellten Überlebenszeiten weder bei nach dem Score aufgetrennter Betrachtung (s. Diagramm 13) noch nach der Zusammenfassung zu zwei Gruppen (s. Diagramm 14) signifikante Unterschiede ermitteln.

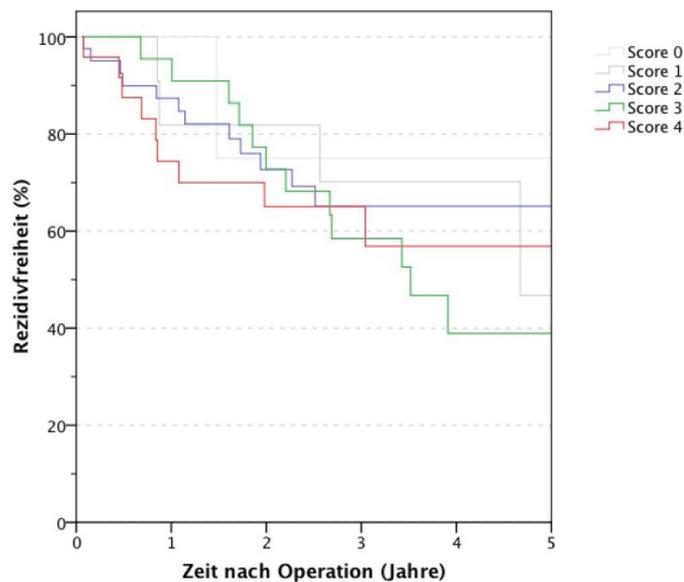


Diagramm 13: Rezidivfreie Zeit aufgeteilt nach dem 5-stufigen Färbescore (nur R0-resezierte Patienten)

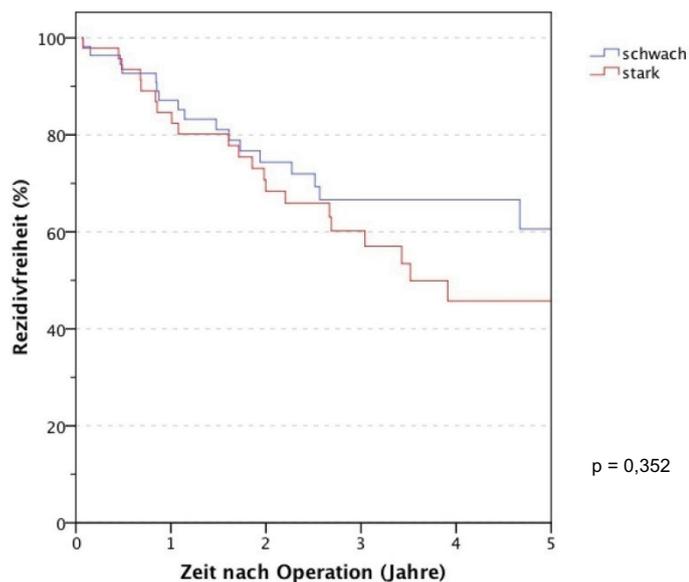


Diagramm 14: Rezidivfreie Zeit aufgeteilt nach starker und schwacher Sialyl LeX-Expression (nur R0-resezierte Patienten)

4.4.5 Abhängigkeiten der Sialyl LeX-Expression

Um eventuelle Abhängigkeiten der Sialyl LeX-Expression von bekannten klinischen oder histopathologischen Parametern zu untersuchen wurden diese in Kreuztabellen mit den Färberesultaten korreliert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 aufgetragen. Hierbei konnte für keines der betrachteten Kriterien ein signifikanter Zusammenhang mit der Sialyl LeX-Expression ermittelt werden. Bei der in Diagramm 15 veranschaulichten Häufigkeitsverteilung starker und schwacher Färbungen in Abhängigkeit vom UICC-Stadium kann zwar eine diskrete Verhältnismkehr bei steigendem UICC-Stadium erkannt werden, jedoch ohne statistische Signifikanz.

Tabelle 18: Klinische und histopathologische Kriterien in Abhängigkeit von der Sialyl LeX-Expression

	Patienten mit schwach Sialyl LeX exprimierenden Tumoren n (%)	Patienten mit stark Sialyl LeX exprimierenden Tumoren n (%)
Patienten	113 (52,6)	102 (47,4)
Alter (Jahre)	67,24	67,64
Geschlecht (f : m)	1 : 1,57	1 : 1
weiblich	44 (38,9)	51 (50,0)
männlich	69 (61,1)	51 (50,0)
Invasionstiefe		
T1	2 (1,8)	0 (0,0)
T2	13 (11,5)	6 (5,9)
T3	54 (47,8)	42 (41,2)
T4	44 (38,9)	54 (52,9)
Lymphknotenmetastasen		
N0	10 (8,8)	9 (8,8)
N1	61 (54,0)	39 (38,2)
N2	42 (37,2)	54 (52,9)
Fernmetastasen		
M0	64 (56,6)	49 (48,0)
M1	49 (43,4)	53 (52,0)
Differenzierungsgrad		
G1	18 (15,9)	26 (25,5)
G2	79 (69,9)	70 (68,6)
G3	16 (14,2)	6 (5,9)
Darmabschnitt		
Kolon	70 (61,9)	72 (70,6)
Rektum	43 (38,1)	30 (29,4)

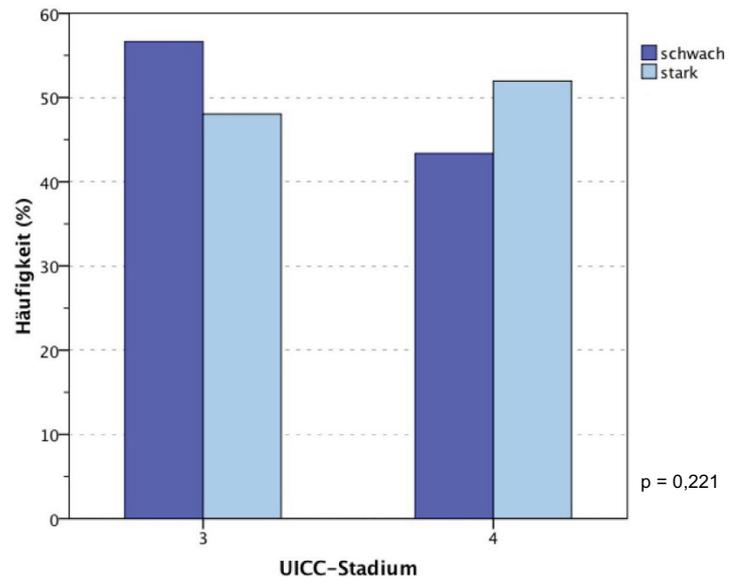


Diagramm 15: Häufigkeit starker und schwacher Färberesultate in Abhängigkeit vom UICC-Stadium

5 DISKUSSION

Beim kolorektalen Karzinom handelt es sich um den häufigsten malignen Tumor sowie die zweithäufigste Ursache für den Krebstod in Deutschland ^[1]. In den allermeisten Fällen stellt aber nicht der Primärtumor, sondern vielmehr die Fernmetastasierung den das Langzeitüberleben limitierenden Faktor bei dieser Erkrankung dar. Nach obligater radikal-chirurgischer Entfernung des Primärtumors wird deshalb versucht, mit Hilfe der von der UICC definierten Kriterien die Notwendigkeit einer adjuvanten Chemo- bzw. Radiochemotherapie einzuschätzen. Auf Grund der bis heute jedoch nicht zufriedenstellenden Behandlungsergebnisse stellt die Untersuchung neuer Marker für eine optimierte Therapieplanung neben der Suche nach gänzlich neuen Therapieoptionen einen wichtigen Forschungsbereich dar. Das erst bei zunehmender Entartung auf den Zellwänden kolorektaler Tumoren auftretende Glykoproteinepitop Sialyl LeX ist hierbei sowohl wegen seiner physiologischen Funktion als auch wegen der schon in anderen Arbeiten vorbeschriebenen klinisch-pathologischen Korrelationen ein vielversprechender Indikator für die Aggressivität der Erkrankung.

Bei der hier vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine Teilanalyse von 215 Patienten, welchen am Universitätsklinikum Rostock zwischen 2000 und 2004 ein kolorektales Karzinom radikal-chirurgisch entfernt wurde. Für die retrospektiv erhobenen Datensätze zum perioperativen Verlauf sowie der Nachsorge wurde eine umfangreiche Datenbank angelegt. Als histologisches Material dienten die in Paraffin eingebetteten Resektatblöcke aus dem pathologischen Institut der Universität Rostock. Die Materialaufbereitung sowie die immunhistochemische Darstellung des Glykoproteinepitops Sialyl LeX erfolgten in Kooperation mit dem Neurodegeneration Research Laboratory sowie dem Institut für Experimentelle Chirurgie des Universitätsklinikums. Für eine weitere Auswertbarkeit der sich unterschiedlich ausgeprägt demarkierenden Sialyl LeX-Expression wurde zunächst ein lichtmikroskopisch bestimmbarer Score entwickelt, anhand dessen die Beurteilung der einzelnen Präparate erfolgen konnte. Die hiermit gewonnene numerische Beschreibung des Expressionsgrads konnte im Anschluss mit den recherchierten generellen Überlebenszeiten, tumorbezogenen Überlebenszeiten sowie rezidivfreien Zeiten statistisch korreliert werden.

Die Rekrutierung einer möglichst großen Patientenzahl über einen begrenzten Zeitraum stellt häufig die Grundvoraussetzung für die Ermittlung aussagekräftiger Ergebnisse dar. Gerade bei einer retrospektiven Untersuchung, welche auf archivierte Material zu jedem einzelnen Patienten angewiesen ist, sind die Möglichkeiten in diesem Punkt jedoch oft unbeeinflussbar limitiert. Mit 215 Patienten dürfte es sich bei der hier vorliegenden Arbeit um die bis dato umfangreichste zur prognostischen Bedeutung von Sialyl LeX beim kolorektalen Karzinom handeln. Möglich wurde dies vor allem durch das sorgfältig gepflegte Archiv des pathologischen Instituts der Universität Rostock. Eine Kehrseite der Attraktivität dieser wertvollen wissenschaftlichen Präparate folgt aus deren intensiver Nutzung im Rahmen verschiedener Forschungsprojekte. Hierdurch stand von den Tumoren der UICC-Stadien I und II nicht mehr durchgängig ausreichend Material zur Verfügung, weshalb die Arbeit von vornherein auf die Patienten in den UICC-Stadien III und IV beschränkt wurde.

Ein weiteres wichtiges Qualitätskriterium stellt ein möglichst lückenloser Nachsorgedatensatz dar. Da das Universitätsklinikum Rostock zwar über hochspezialisierte Fachabteilungen verfügt, gleichzeitig aber auch die hospitale Grundversorgung der Region maßgeblich bestimmt, verblieb ein Großteil der Patienten auch für die komplette weitere Nachsorge hier in Betreuung, wodurch ein direkter Zugriff auf die follow-up-Daten möglich war. Bei der Ergänzung der Angaben zu den verbleibenden Patienten konnte von einer außerordentlich guten Kooperation mit den niedergelassenen Onkologen und Hausärzten profitiert werden. Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit von etwa 34 Monaten in der vorliegenden Untersuchung ist unter Berücksichtigung der teilweise deutlich kürzeren Überlebenszeiten von Patienten mit fortgeschrittenen Tumorleiden gut für die übliche Betrachtung von 5-Jahres-Überlebensraten bzw. der 5-Jahres-Rezidivfreiheit geeignet.

Ein generelles Problem birgt jedoch der im Rahmen der Nachsorge nur ungenau evaluierbare Zeitpunkt des Auftretens von Rezidiven. Im Gegensatz zum exakt bekannten Zeitpunkt des Todes bzw. Tumortodes kann für das Rezidiv verständlicherweise nur noch das Datum der Diagnose, nicht aber das des Auftretens festgestellt werden. Da dieser Zeitangabe jedoch vom frühen Befund bei einer Kontrolluntersuchung bis hin zur Diagnose im Rahmen spät auftretender Komplikationen unterschiedlichste Stadien der

Rezidiventwicklung zu Grunde liegen können, muss eine große Ungenauigkeit von einigen Monaten durchaus angenommen werden.

Die immunhistochemische Darstellung mit nachfolgender lichtmikroskopischer Auswertung stellte unter verschiedenen Gesichtspunkten die hier favorisierte Methodik für die Quantifizierung der Sialyl LeX-Expression an dem in Paraffin archivierten Tumormaterial dar. Ein entscheidender Vorteil gegenüber Verfahren wie dem Western blot liegt in der durch die morphologische Zuordenbarkeit der angefärbten Strukturen möglichen sicheren Differenzierung zwischen einer membranständigen sowie einer extrazellulären Expression des Glykoproteinepitops. Des Weiteren wird Sialyl LeX bei der immunhistochemischen Anfärbung direkt als im Verdacht für die Metastasierung verantwortlich zu sein stehende Struktur detektiert, wohingegen bei Verfahren wie der PCR auf mRNA von an der Synthese des Kohlenhydratepitops beteiligter Enzyme zurückgegriffen werden müsste. Da aber gerade bei Zuckermolekülen diese der Synthese zu Grunde liegenden Beziehungen ein hohe Komplexität und Variabilität aufweisen, muss eine Bestimmung der Sialyl LeX-Expression mittels PCR als zu inkonsistent angesehen werden. Nicht zuletzt handelt es sich bei der immunhistochemischen Anfärbung aber auch um ein relativ kostengünstiges und bis auf die lichtmikroskopische Auswertung vollständig automatisierbares Verfahren, wodurch auch die Untersuchung größerer Patientenkollektive mit vertretbarem Aufwand möglich ist. Eine serologische Messung zirkulierender Sialyl LeX-positiver Zellen mittels Immunoassay ^[106, 107] oder Dünnschichtchromatographie ^[108] schied schon alleine auf Grund des nicht zur Verfügung stehenden Untersuchungsmaterials als Option aus.

Um den Färbeprozess als Grundlage für die lichtmikroskopische Quantifizierung der immunhistochemisch dargestellten Sialyl LeX-Expression bei allen Präparaten so identisch wie möglich durchzuführen, wurde auf ein vollautomatisiertes Färbesystem zurückgegriffen. Hierdurch sind zumindest inkonsistente Färberesultate durch technische Färbefehler wie schwankende Einwirkzeiten, Temperaturen oder Pipettierfehler praktisch ausgeschlossen.

Das wahrscheinlich größte Problem bei der Bewertung der Sialyl LeX-Expression mittels immunhistochemischer Verfahren stellt die Mitanfärbung von extrazellulärem Schleim in den Präparaten dar. Zwar wird die Glykoproteingruppe der Muzine, bei wel-

cher das Epitop Sialyl LeX anzutreffen ist, grundsätzlich noch einmal in transmembranöse, also zellwandständige und verschleimende, vorwiegend extrazellulär vorliegende Muzine unterteilt, jedoch scheint die zunehmende Expression von Sialyl LeX bei der Entartung kolorektaler Karzinome nicht auf eine dieser Untergruppen beschränkt ^[85]. Da aber die extrazellulär verschleimenden Muzine nicht wie die transmembranösen im Verdacht stehen, malignen Tumorzellen zur Extravasation aus dem Blutkreislauf und damit zur Metastasierung zu verhelfen, ist eine Unterscheidung zwischen positiv gefärbten Zellen und extrazellulärem Schleim notwendig. Dies kann sich gerade bei stark verschleimenden Tumoren durchaus kompliziert gestalten, was jedoch in keiner der bisher veröffentlichten Arbeiten ausdrücklich Erwähnung findet ^[95-97, 109]. Weiterhin erschien eine mehrstufige Bewertung der Färbeintensität einzelner Zellen, wie von Grabowski et al. vorgeschlagen ^[97], trotz automatisierter Durchführung der Färbung bei fortbestehender Abhängigkeit der Resultate von verschiedenen Präparateigenschaften mehr als schwierig. Aus diesem Grund erfolgte die Auswertung bei der vorliegenden Arbeit mittels eines neu entwickelten und vereinfachten Scores, welcher zwischen fünf gut nachvollziehbaren, wiederkehrenden Färbemustern unterscheidet. Um Fehlzuordnungen durch größere Mengen angefärbten Schleims gerade in Präparaten mit geringerer membranständiger Sialyl LeX-Expression noch effektiver zu verhindern, wurden zunächst die zwei Score-Stufen „Vereinzelte positiv gefärbte Zellen mit -“ bzw. „- ohne kräftig angefärbten Schleim“ (Score 2 und 3) definiert. Eine weitere Reduzierung des Scores auf vier Stufen durch Zusammenlegung von Score 2 und 3 scheint auch bei Betrachtung der Überlebenszeiten grundsätzlich möglich. Die niedrige Zuordnungsrate von Score 2 im zur Verfügung stehenden Material macht jedoch eine vorherige Überprüfung an einem homogeneren Patientengut mit mutmaßlich resultierender homogenerer Score-Verteilung wünschenswert.

Die Gegenüberstellung der Patienten- und Tumorcharakteristika von untersuchtem und gesamtem Patientengut zeigt signifikante Abweichungen bei den Vorerkrankungen sowie dem Anteil an Notfalloperationen. Letzteres lässt sich leicht durch die ausschließlich weiter fortgeschrittenen Tumoren in der Untersuchungsgruppe erklären, wodurch eine gewisse Kumulation von Patienten, welche aufgrund von Tumorkomplikationen unter Notfallbedingungen operiert werden mussten, in dieser Gruppe nicht verwunderlich ist. Der etwas höhere Prozentsatz an vorerkrankten Patienten unter den in die Arbeit

mit einbezogenen ist bei differenzierter Betrachtung keiner speziellen Krankheitsgruppe zuzuschreiben. Auch ein erhöhtes durchschnittliches Lebensalter der untersuchten Patienten als potentielle Ursache hierfür bestätigte sich nicht.

Bei der Betrachtung der durchgeführten Operationsarten fällt ein geringerer Anteil an Linkshemikolektomien und Rektumexstirpationen bei den untersuchten Patienten auf. Die niedrigere Zahl an Linkshemikolektomien kann zum Teil auf die etwas geringere Rate an Tumoren des Colon descendens in der Untersuchungsgruppe zurückgeführt werden, welche isoliert betrachtet jedoch keine Signifikanz gezeigt hatte. Ansonsten lässt sich keine Verschiebung zu Gunsten einer speziellen Operationsart ausmachen. Die Darstellung der postoperativen Komplikationen ergab keine signifikanten Abweichungen der Untersuchungsgruppe.

Ergänzende adjuvante und palliative Therapien wurden bei den in die Arbeit miteinbezogenen Patienten ebenso häufig durchgeführt wie im Gesamtpatientengut. Neoadjuvant behandelte Patienten finden sich hingegen in der Untersuchungsgruppe deutlich seltener, da hier oft kein archivierte Tumormaterial mehr zur Verfügung stand.

Für die etablierten histologischen Prognosefaktoren der UICC-Klassifikation „T“ und „N“ sowie den histologischen Differenzierungsgrad „G“ zeigten sich im untersuchten Patientengut weitestgehend hochsignifikante Zusammenhänge mit dem Langzeitüberleben. Nur für die bei den durchweg höheren Tumorstadien selten auftretenden Klassifikationen „T1“, „T2“, „N0“ sowie „G3“ ließen sich auf Grund der kleinen Fallzahlen keine aussagekräftigen Zusammenhänge darstellen.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Kaplan-Meier-Kurven für die nur selten zugeteilten Scores 0 und 1 auf Grund der hieraus resultierenden groben Sprünge nur eingeschränkt beurteilbar sind, lässt sich schon bei der scoreabhängigen Darstellung des generellen sowie des tumorabhängigen Überlebens eine gewisse Divergenz zwischen den Überlebensraten für einen Score zwischen 0 und 2 sowie den höheren Scores 3 und 4 erkennen. Die mittels Bestimmung martingaler Residuen durchgeführte Berechnung der Scoregrenze, welche optimal zwischen einer Gruppe mit höherem und einer mit niedrigerem Risiko an einem tumorbedingten Tod zu sterben differenziert, bestätigt den Cutoff zwischen 2 und 3 ^[101-103]. Hierdurch werden eine Gruppe mit schwacher (Score 0 - 2) und eine mit starker (Score 3 - 4) Sialyl LeX-Expression definiert, welche sich auf

Grund ihrer annähernd gleichen Fallzahl (113 vs. 102) sehr gut für weitere vergleichende Analysen eignen.

Bei der Gegenüberstellung der tumorbezogenen 5-Jahres-Überlebensraten beider Gruppen (44,2% vs. 31,7%) zeigt sich ein signifikanter Unterschied ($p = 0,004$). Somit konnte der von Grabowski et al. ^[97] bzw. auch in den älteren Arbeiten von Nakamori ^[95] und Nakagoe ^[96] vorgeschriebene Zusammenhang zwischen dem Grad der Sialyl LeX-Expression und der Langzeitprognose beim kolorektalen Karzinom anhand des neuen, leicht nachvollziehbaren histologischen Färbescores und mittels eines kommerziell erhältlichen Primärantikörpers belegt werden. Auch die getrennte Betrachtung der Sialyl LeX-abhängigen Überlebensraten für die einzelnen UICC-Stadien ergibt sowohl für das Stadium III als auch für das Stadium IV eine signifikante Abhängigkeit des Langzeitüberlebens von der Expressionsintensität ($p = 0,033$ bzw. $p = 0,044$). Die in der Veröffentlichung von Grabowski et al. ^[97] mittels einer relativ geringen Patientenzahl (die kleinste Subgruppe zählte hier 18 Patienten) aufgestellte Hypothese, die Sialyl LeX-Expression habe im UICC-Stadium IV auf Grund der bereits erfolgten Fernmetastasierung keine Auswirkung mehr auf den Verlauf der Krankheit, muss hiermit in Frage gestellt werden. Dass das Metastasierungspotential eines Tumors schon ab dem Vorliegen einer solitären Metastase, welche für die Klassifikation UICC IV vollkommen ausreichend ist, keinen Einfluss mehr auf das Langzeitüberleben haben soll, ist auch unter dem Gesichtspunkt fraglich, dass häufig erst multiple Metastasierungen beim weiteren Fortschreiten der Krankheit zum medizinisch nicht mehr beherrschbaren Problem werden.

Für das rezidivfreie Überleben der Patienten konnte hingegen, mutmaßlich wegen der im Vorangegangenen erläuterten Einschränkungen bei einer retrospektiven Datenerhebung, kein statistisch relevanter Unterschied zwischen den zwei Gruppen gefunden werden. Hierbei sei erwähnt, dass in den methodisch ähnlichen Arbeiten von Grabowski ^[97] oder Nakamori ^[95], möglicherweise auf Grund der gleichen Problematik, ganz auf Auswertungen bezüglich der Rezidivfreiheit verzichtet wurde. Jedoch darf bei einer sich graphisch bereits andeutenden Divergenz der Kaplan-Meier-Kurven für das rezidivfreie Überleben in Abhängigkeit von der Sialyl LeX-Expression durchaus ein bei längerer Nachbeobachtung noch signifikant werdender Unterschied vermutet werden.

Bei der Untersuchung von Abhängigkeiten zwischen der Sialyl LeX-Expression und klinischen sowie histopathologischen Parametern, die üblicherweise bei Patienten mit kolorektalem Karzinom Verwendung finden, konnten keine signifikanten Zusammenhänge ermittelt werden. Diese Erkenntnis deckt sich weitestgehend mit den Ergebnissen der bereits erwähnten Publikationen ^[95-97]. Einzig für das UICC-Stadium wurde in anderen Arbeiten eine signifikante Abhängigkeit von der Sialyl LeX-Expression beschrieben, welche sich im hier analysierten Patientengut zumindest im Rahmen der unfreiwilligen Beschränkung auf die UICC-Stadien III und IV nicht nachweisen ließ.

Zusammengefasst konnte der negative Effekt einer starken Sialyl LeX-Expression kolorektaler Karzinome auf das Langzeitüberleben der Patienten in der hier vorliegenden, bis dato größten Untersuchung zu dieser Fragestellung, bestätigt werden. Gleichzeitig konnten mit der Entwicklung eines einfach anzuwendenden 5-stufigen Färbescores für die Bewertung der immunhistochemisch dargestellten Sialyl LeX-Expression und dem Einsatz eines kommerziell erhältlichen Primärantikörpers wichtige Voraussetzungen für die Anwendung bei hohen Fallzahlen geschaffen werden. Jedoch mussten auch Einschränkungen auf Grund des retrospektiven Charakters der Arbeit in Kauf genommen werden. Eine routinemäßige Mitbestimmung der Sialyl LeX-Expression im Rahmen der histopathologischen Untersuchung kolorektaler Tumoren ist dennoch schon heute empfehlenswert, um Patienten mit stark Sialyl LeX exprimierenden Tumoren im Zweifelsfall eher einer adjuvanten Therapie zuführen zu können und bei diesen auf eine besonders konsequente Nachsorge zu achten. Eine prospektive Untersuchung zur abschließenden Beurteilung der Wertigkeit des prognostischen Faktors Sialyl Lewis X für Fragestellungen wie die selektive Zuweisung einer adjuvanten Chemotherapie in allen frühen Stadien des kolorektalen Karzinoms bleibt aber weiterhin wünschenswert.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Bei bis dato nicht zufriedenstellenden Langzeitergebnissen bei der Behandlung kolorektaler Karzinome kommt der Untersuchung neuer Marker für eine Optimierung der Therapieplanung ein hoher Stellenwert zu. In der hier vorliegenden Arbeit wurde die prognostische Wertigkeit der immunhistochemisch detektierten Expression des auf den Zellwänden kolorektaler Karzinome auftretenden Glykoproteinepitops Sialyl LeX analysiert. In die retrospektive Untersuchung wurden 215 Patienten mit einbezogen, die sich zwischen Januar 2000 und Dezember 2004 in der Chirurgischen Klinik der Universität Rostock der primären Resektion eines kolorektalen Karzinoms im UICC-Stadium III oder IV unterzogen. Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit der Patienten betrug 34 Monate. Die immunhistochemische Darstellung der Sialyl LeX-Expression erfolgte mittels eines kommerziell erhältlichen Antikörpers an Tumormaterial aus parafingebetteten Resektatblöcken. Für die Auswertung der Färbung wurde ein fünfstufiger, einfach anzuwendender Score komplett neu entwickelt.

Im Rahmen der statistischen Analysen wurde die Score-Grenze errechnet, welche optimal zwischen einer Gruppe mit einem niedrigeren bzw. einem höheren Risiko an einem tumorbedingten Tod zu sterben differenziert. Der Unterschied zwischen den tumorbezogenen 5-Jahres-Überlebensraten der beiden Risikogruppen zeigt eine hohe Signifikanz, wobei eine stärkere Sialyl LeX-Expression mit einer im Mittel kürzeren Überlebenszeit einhergeht. Auch bei getrennter Betrachtung der Patienten im UICC-Stadium III bzw. IV unterscheiden sich die tumorbedingten 5-Jahres-Überlebensraten jeweils signifikant. Hingegen konnte in Bezug auf das rezidivfreie Überleben nur eine tendenzielle Divergenz zwischen der Patientengruppe mit starker und der mit schwacher Sialyl LeX-Expression beobachtet werden. Die Gegenüberstellung von etablierten Prognosefaktoren wie Tumorinvasionstiefe, regionärem Lymphknotenbefall, Fernmetastasierung oder histologischem Differenzierungsgrad und der Sialyl LeX-Expression ergab keine signifikanten Zusammenhänge.

Die Ergebnisse bestätigen den negativen Effekt einer starken Sialyl LeX-Expression kolorektaler Karzinome auf das Langzeitüberleben der Patienten. Mit der Entwicklung eines einfach anzuwendenden Färbescorers sowie der Nutzung eines kommerziell erhältlichen Antikörpers wurden wichtige Voraussetzungen für eine Bestimmung in der Rou-

tine geschaffen. Eine generelle Beurteilung der Sialyl Lewis X-Expression im Rahmen der histopathologischen Untersuchung kolorektaler Karzinome kann somit durchaus empfohlen werden, so dass Patienten mit einer hohen Expressionsintensität im Zweifelsfall eher einer adjuvanten Behandlung zugeführt werden können und bei diesen auf eine besonders konsequente Nachsorge geachtet wird.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V., Robert Koch-Institut: "Krebs in Deutschland 2003-2004 - Häufigkeiten und Trends" 6th edition, p. 12ff, 34ff; published by Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. in Berlin (2008)
2. DiSario JA, Burt RW, Kendrick ML et al.: "Colorectal cancers of rare histologic types compared with adenocarcinomas." *Dis Colon Rectum* (1994), vol. 37 (12), p. 1277-1280
3. Robert Koch-Institut, Statistisches Bundesamt: "Gesundheit in Deutschland - Gesundheitsberichterstattung des Bundes" 2nd edition, p. 43ff; published by Robert Koch-Institut in Berlin (2006)
4. Dukes C: "Simple tumors of the large intestine and their relationship to cancer." *Br J Surg* (1926), vol. 13 (52), p. 720-733
5. Jackman RJ, Mayo CW: "The adenoma-carcinoma sequence in cancer of the colon." *Surg Gynecol Obstet* (1951), vol. 93 (3), p. 327-330
6. O'Brien M: "Colorectal adenomas: concepts and controversies." *Semin Colon Rectal Surg* (1992), vol. 3 p. 195-206
7. Williams RH, Williams NS: "Clinical Surgery International 20: Colorectal Cancer" 1st edition, p. 39ff; published by Churchill Livingstone in New York (1996)
8. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR et al.: "Genetic alterations during colorectal-tumor development." *N Engl J Med* (1988), vol. 319 (9), p. 525-532
9. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA et al.: "A prospective study of family history and the risk of colorectal cancer." *N Engl J Med* (1994), vol. 331 (25), p. 1669-1674
10. Ekbom A, Helmick C, Zack M et al.: "Ulcerative colitis and colorectal cancer. A population-based study." *N Engl J Med* (1990), vol. 323 (18), p. 1228-1233
11. Ekbom A, Helmick C, Zack M et al.: "Increased risk of large-bowel cancer in Crohn's disease with colonic involvement." *Lancet* (1990), vol. 336 (8711), p. 357-359
12. Munkholm P: "Review article: the incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease." *Aliment Pharmacol Ther* (2003), vol. 18 Suppl 2 p. 1-5
13. Burkitt DP: "Epidemiology of cancer of the colon and rectum." *Cancer* (1971), vol. 28 (1), p. 3-13
14. Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA et al.: "Relation of meat, fat, and fiber intake to the risk of colon cancer in a prospective study among women." *N Engl J Med* (1990), vol. 323 (24), p. 1664-1672
15. Nigro ND, Singh DV, Campbell RL et al.: "Effect of dietary beef fat on intestinal tumor formation by azoxymethane in rats." *J Natl Cancer Inst* (1975), vol. 54 (2), p. 439-442
16. Reddy BS, Maruyama H: "Effect of dietary fish oil on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats." *Cancer Res* (1986), vol. 46 (7), p. 3367-3370

17. World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research: "Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective" 1th edition, p. 116ff; published by American Institute for Cancer Research in Washington DC (2007)
18. Chao A, Thun MJ, Connell CJ et al.: "Meat consumption and risk of colorectal cancer." *JAMA* (2005), vol. 293 (2), p. 172-182
19. Norat T, Bingham S, Ferrari P et al.: "Meat, fish, and colorectal cancer risk: the European Prospective Investigation into cancer and nutrition." *J Natl Cancer Inst* (2005), vol. 97 (12), p. 906-916
20. Larsson SC, Rafter J, Holmberg L et al.: "Red meat consumption and risk of cancers of the proximal colon, distal colon and rectum: the Swedish Mammography Cohort." *Int J Cancer* (2005), vol. 113 (5), p. 829-834
21. Venturi M, Hambly RJ, Glinghammar B et al.: "Genotoxic activity in human faecal water and the role of bile acids: a study using the alkaline comet assay." *Carcinogenesis* (1997), vol. 18 (12), p. 2353-2359
22. Hughes R, Magee EA, Bingham S: "Protein degradation in the large intestine: relevance to colorectal cancer." *Curr Issues Intest Microbiol* (2000), vol. 1 (2), p. 51-58
23. Asano T, McLeod RS: "Dietary fibre for the prevention of colorectal adenomas and carcinomas." *Cochrane Database Syst Rev* (2002), issue 1, art. no. CD003430
24. Fuchs CS, Giovannucci EL, Colditz GA et al.: "Dietary fiber and the risk of colorectal cancer and adenoma in women." *N Engl J Med* (1999), vol. 340 (3), p. 169-176
25. Michels KB, Edward G, Joshipura KJ et al.: "Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal cancers." *J Natl Cancer Inst* (2000), vol. 92 (21), p. 1740-1752
26. Bingham SA, Day NE, Luben R et al.: "Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study." *Lancet* (2003), vol. 361 (9368), p. 1496-1501
27. Slattery ML, Sorenson AW, Ford MH: "Dietary calcium intake as a mitigating factor in colon cancer." *Am J Epidemiol* (1988), vol. 128 (3), p. 504-514
28. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A: "Magnesium intake in relation to risk of colorectal cancer in women." *JAMA* (2005), vol. 293 (1), p. 86-89
29. Vernie LN: "Selenium in carcinogenesis." *Biochim Biophys Acta* (1984), vol. 738 (4), p. 203-217
30. Nigro ND, Bull AW: "Prospects for the prevention of colorectal cancer." *Dis Colon Rectum* (1987), vol. 30 (10), p. 751-754
31. Wargovich MJ: "New dietary anticarcinogens and prevention of gastrointestinal cancer." *Dis Colon Rectum* (1988), vol. 31 (1), p. 72-75
32. Rao CV, Reddy BS, Steele VE et al.: "Nitric oxide-releasing aspirin and indomethacin are potent inhibitors against colon cancer in azoxymethane-treated rats: effects on molecular targets." *Mol Cancer Ther* (2006), vol. 5 (6), p. 1530-1538

33. Samowitz WS, Albertsen H, Sweeney C et al.: "Association of smoking, CpG island methylator phenotype, and V600E BRAF mutations in colon cancer." *J Natl Cancer Inst* (2006), vol. 98 (23), p. 1731-1738
34. Ferrari P, Jenab M, Norat T et al.: "Lifetime and baseline alcohol intake and risk of colon and rectal cancers in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC)." *Int J Cancer* (2007), vol. 121 (9), p. 2065-2072
35. Kable T, Tricker AR, Friedl P et al.: "Ureterosigmoidostomy: long-term results, risk of carcinoma and etiological factors for carcinogenesis." *J Urol* (1990), vol. 144 (5), p. 1110-1114
36. Kliment J, Luptak J, Lofaj M et al.: "Carcinoma of the colon after ureterosigmoidostomy and trigonosigmoidostomy for exstrophy of the bladder." *Int Urol Nephrol* (1993), vol. 25 (4), p. 339-343
37. Baxter NN, Tepper JE, Durham SB et al.: "Increased risk of rectal cancer after prostate radiation: a population-based study." *Gastroenterology* (2005), vol. 128 (4), p. 819-824
38. Gordon PH, Nivatvongs S: "Neoplasms of the Colon, Rectum, and Anus" 2nd edition, p. 2ff, 52ff, 208ff; published by Informa Healthcare in New York (2007)
39. Boulos PB, Cowin AP, Karamanolis DG et al.: "Diverticula, neoplasia, or both? Early detection of carcinoma in sigmoid diverticular disease." *Ann Surg* (1985), vol. 202 (5), p. 607-609
40. Morini S, de Angelis P, Manurita L et al.: "Association of colonic diverticula with adenomas and carcinomas. A colonoscopic experience." *Dis Colon Rectum* (1988), vol. 31 (10), p. 793-796
41. Schmiegel W, Reinacher-Schick A, Arnold D et al.: "S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom." *Z Gastroenterol* (2008), vol. 46 (8), p. 799-840
42. Gregor DH: "Occult blood testing for detection of asymptomatic colon cancer." *Cancer* (1971), vol. 28 (1), p. 131-134
43. Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN et al.: "Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup." *N Engl J Med* (1993), vol. 329 (27), p. 1977-1981
44. Citarda F, Tomaselli G, Capocaccia R et al.: "Efficacy in standard clinical practice of colonoscopic polypectomy in reducing colorectal cancer incidence." *Gut* (2001), vol. 48 (6), p. 812-815
45. Winawer SJ, Zauber AG, Fletcher RH et al.: "Guidelines for colonoscopy surveillance after polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer and the American Cancer Society." *Gastroenterology* (2006), vol. 130 (6), p. 1872-1885
46. Frühmorgen P, Ruffle W, Kobras S et al.: "Prospektive Studie zur endoskopischen Therapie des kolorektalen pT1-Karzinoms." *Z Gastroenterol* (2003), vol. 41 (8), p. 703-710
47. Hamilton SR, Aaltonen LA: "Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System" 1st edition, p. 104ff; published by IARC Press in Lyon (2000)
48. Wittekind C, Klimpfinger M, Sobin LH: "TNM-Atlas: Illustrierter Leitfaden zur TNM/pTNM-Klassifikation maligner Tumoren" 5th edition, p. 3, 108ff; published by Springer in Berlin (2004)
49. Engelen SM, Beets GL, Beets-Tan RG: "Role of preoperative local and distant staging in rectal cancer." *Onkologie* (2007), vol. 30 (3), p. 141-145

50. Beets-Tan RG, Beets GL, Vliegen RF et al.: "Accuracy of magnetic resonance imaging in prediction of tumour-free resection margin in rectal cancer surgery." *Lancet* (2001), vol. 357 (9255), p. 497-504
51. Group MS: "Extramural depth of tumor invasion at thin-section MR in patients with rectal cancer: results of the MERCURY study." *Radiology* (2007), vol. 243 (1), p. 132-139
52. Zaheer S, Pemberton JH, Farouk R et al.: "Surgical treatment of adenocarcinoma of the rectum." *Ann Surg* (1998), vol. 227 (6), p. 800-811
53. Kwok SP, Lau WY, Leung KL et al.: "Prospective analysis of the distal margin of clearance in anterior resection for rectal carcinoma." *Br J Surg* (1996), vol. 83 (7), p. 969-972
54. Heald RJ, Husband EM, Ryall RD: "The mesorectum in rectal cancer surgery--the clue to pelvic recurrence?" *Br J Surg* (1982), vol. 69 (10), p. 613-616
55. Bokey EL, Ojerskog B, Chapuis PH et al.: "Local recurrence after curative excision of the rectum for cancer without adjuvant therapy: role of total anatomical dissection." *Br J Surg* (1999), vol. 86 (9), p. 1164-1170
56. Zirngibl H, Husemann B, Hermanek P: "Intraoperative spillage of tumor cells in surgery for rectal cancer." *Dis Colon Rectum* (1990), vol. 33 (7), p. 610-614
57. Charnley RM, Morris DL, Dennison AR et al.: "Detection of colorectal liver metastases using intraoperative ultrasonography." *Br J Surg* (1991), vol. 78 (1), p. 45-48
58. Schiffmann L, Ozcan S, Schwarz F et al.: "Colorectal cancer in the elderly: surgical treatment and long-term survival." *Int J Colorectal Dis* (2008), vol. 23 (6), p. 601-610
59. Sargent DJ, Goldberg RM, Jacobson SD et al.: "A pooled analysis of adjuvant chemotherapy for resected colon cancer in elderly patients." *N Engl J Med* (2001), vol. 345 (15), p. 1091-1097
60. Dube S, Heyen F, Jenicek M: "Adjuvant chemotherapy in colorectal carcinoma: results of a meta-analysis." *Dis Colon Rectum* (1997), vol. 40 (1), p. 35-41
61. Gill S, Loprinzi CL, Sargent DJ et al.: "Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much?" *J Clin Oncol* (2004), vol. 22 (10), p. 1797-1806
62. IMPACT study organisation: "Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators." *Lancet* (1995), vol. 345 (8955), p. 939-944
63. de Gramont A, Boni C, Navarro M et al.: "Oxaliplatin/5FU/LV in adjuvant colon cancer: Updated efficacy results of the MOSAIC trial, including survival, with a median follow-up of six years." *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* (2007), vol. 25 (18S), p. 4007
64. Andre T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L et al.: "Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer." *N Engl J Med* (2004), vol. 350 (23), p. 2343-2351
65. Kapiteijn E, Marijnen CA, Nagtegaal ID et al.: "Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer." *N Engl J Med* (2001), vol. 345 (9), p. 638-646

66. Sauer R, Becker H, Hohenberger W et al.: "Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer." *N Engl J Med* (2004), vol. 351 (17), p. 1731-1740
67. Colorectal Cancer Collaborative Group: "Adjuvant radiotherapy for rectal cancer: a systematic overview of 8,507 patients from 22 randomised trials." *Lancet* (2001), vol. 358 (9290), p. 1291-1304
68. Camma C, Giunta M, Fiorica F et al.: "Preoperative radiotherapy for resectable rectal cancer: A meta-analysis." *JAMA* (2000), vol. 284 (8), p. 1008-1015
69. Frykholm GJ, Glimelius B, Pahlman L: "Preoperative or postoperative irradiation in adenocarcinoma of the rectum: final treatment results of a randomized trial and an evaluation of late secondary effects." *Dis Colon Rectum* (1993), vol. 36 (6), p. 564-572
70. Rodel C, Sauer R: "Integration of novel agents into combined-modality treatment for rectal cancer patients." *Strahlenther Onkol* (2007), vol. 183 (5), p. 227-235
71. Marijnen CA, Nagtegaal ID, Kapiteijn E et al.: "Radiotherapy does not compensate for positive resection margins in rectal cancer patients: report of a multicenter randomized trial." *Int J Radiat Oncol Biol Phys* (2003), vol. 55 (5), p. 1311-1320
72. Fong Y, Fortner J, Sun RL et al.: "Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases." *Ann Surg* (1999), vol. 230 (3), p. 309-318; discussion 318-321
73. Lee WS, Kim MJ, Yun SH et al.: "Risk factor stratification after simultaneous liver and colorectal resection for synchronous colorectal metastasis." *Langenbecks Arch Surg* (2008), vol. 393 (1), p. 13-19
74. Nordlinger B, Sorbye H, Glimelius B et al.: "Perioperative chemotherapy with FOLFOX4 and surgery versus surgery alone for resectable liver metastases from colorectal cancer (EORTC Intergroup trial 40983): a randomised controlled trial." *Lancet* (2008), vol. 371 (9617), p. 1007-1016
75. Falcone A, Ricci S, Brunetti I et al.: "Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest." *J Clin Oncol* (2007), vol. 25 (13), p. 1670-1676
76. Van Cutsem E, Nowacki M, Lang I et al.: "Randomized phase III study of irinotecan and 5-FU/FA with or without cetuximab in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC): The CRYSTAL trial." *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* (2007), vol. 25 (18S), p. 4000
77. Grothey A, Sargent D, Goldberg RM et al.: "Survival of patients with advanced colorectal cancer improves with the availability of fluorouracil-leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin in the course of treatment." *J Clin Oncol* (2004), vol. 22 (7), p. 1209-1214
78. Kievit J: "Follow-up of patients with colorectal cancer: numbers needed to test and treat." *Eur J Cancer* (2002), vol. 38 (7), p. 986-999
79. Davis NC, Evans EB, Cohen JR et al.: "Colorectal cancer: a large unselected Australian series." *Aust N Z J Surg* (1987), vol. 57 (3), p. 153-159

80. Staib L, Link KH, Blatz A et al.: "Surgery of colorectal cancer: surgical morbidity and five- and ten-year results in 2400 patients--monoinstitutional experience." *World J Surg* (2002), vol. 26 (1), p. 59-66
81. QUASAR Collaborative Group: "Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study." *Lancet* (2007), vol. 370 (9604), p. 2020-2029
82. Baddi L, Benson A: "Adjuvant therapy in stage II colon cancer: current approaches." *Oncologist* (2005), vol. 10 (5), p. 325-331
83. Hakomori S: "Possible functions of tumor-associated carbohydrate antigens." *Curr Opin Immunol* (1991), vol. 3 (5), p. 646-653
84. Hanski C, Sheehan J, Kiehntopf M et al.: "Increased number of accessible sugar epitopes defined with monoclonal antibody AM-3 on colonic mucins is associated with malignant transformation of colonic mucosa." *Cancer Res* (1991), vol. 51 (19), p. 5342-5347
85. Byrd JC, Bresalier RS: "Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer." *Cancer Metastasis Rev* (2004), vol. 23 (1-2), p. 77-99
86. Nairn R, Helbert M: "Immunology for Medical Students" 2nd edition, p. 89ff; published by Mosby in Philadelphia (2007)
87. Phillips ML, Nudelman E, Gaeta FC et al.: "ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand, sialyl-Lex." *Science* (1990), vol. 250 (4984), p. 1130-1132
88. Walz G, Aruffo A, Kolanus W et al.: "Recognition by ELAM-1 of the sialyl-Lex determinant on myeloid and tumor cells." *Science* (1990), vol. 250 (4984), p. 1132-1135
89. Lowe JB, Stoolman LM, Nair RP et al.: "ELAM-1--dependent cell adhesion to vascular endothelium determined by a transfected human fucosyltransferase cDNA." *Cell* (1990), vol. 63 (3), p. 475-484
90. Austrup F, Vestweber D, Borges E et al.: "P- and E-selectin mediate recruitment of T-helper-1 but not T-helper-2 cells into inflamed tissues." *Nature* (1997), vol. 385 (6611), p. 81-83
91. Ohmori K, Fukui F, Kiso M et al.: "Identification of cutaneous lymphocyte-associated antigen as sialyl 6-sulfo Lewis X, a selectin ligand expressed on a subset of skin-homing helper memory T cells." *Blood* (2006), vol. 107 (8), p. 3197-3204
92. Ohmori K, Takada A, Ohwaki I et al.: "A distinct type of sialyl Lewis X antigen defined by a novel monoclonal antibody is selectively expressed on helper memory T cells." *Blood* (1993), vol. 82 (9), p. 2797-2805
93. Fukushi Y, Nudelman E, Levery SB et al.: "Novel fucolipids accumulating in human adenocarcinoma. III. A hybridoma antibody (FH6) defining a human cancer-associated difucoganglioside (VI3NeuAcV3III3Fuc2nLc6)." *J Biol Chem* (1984), vol. 259 (16), p. 10511-10517
94. Hoff SD, Matsushita Y, Ota DM et al.: "Increased expression of sialyl-dimeric LeX antigen in liver metastases of human colorectal carcinoma." *Cancer Res* (1989), vol. 49 (24 pt 1), p. 6883-6888
95. Nakamori S, Kameyama M, Imaoka S et al.: "Increased expression of sialyl Lewisx antigen correlates with poor survival in patients with colorectal carcinoma: clinicopathological and immunohistochemical study." *Cancer Res* (1993), vol. 53 (15), p. 3632-3637

96. Nakagoe T, Fukushima K, Hirota M et al.: "Immunohistochemical expression of sialyl Lex antigen in relation to survival of patients with colorectal carcinoma." *Cancer* (1993), vol. 72 (8), p. 2323-2330
97. Grabowski P, Mann B, Mansmann U et al.: "Expression of SIALYL-Le(x) antigen defined by MAb AM-3 is an independent prognostic marker in colorectal carcinoma patients." *Int J Cancer* (2000), vol. 88 (2), p. 281-286
98. Hanski C, Bornhoeft G, Topf N et al.: "Detection of a mucin marker for the adenoma-carcinoma sequence in human colonic mucosa by monoclonal antibody AM-3." *J Clin Pathol* (1990), vol. 43 (5), p. 379-384
99. Mann B, Klusmann E, Vandamme-Feldhaus V et al.: "Low O-acetylation of sialyl-Le(x) contributes to its overexpression in colon carcinoma metastases." *Int J Cancer* (1997), vol. 72 (2), p. 258-264
100. Krentz H: "Statistische Analysen mit SPSS in der Medizin Band 2: Schließende Statistische Analysen" 1st edition, p. 22ff; published by Shaker Verlag in Aachen (2005)
101. Therneau TM, Grambsch PM, Fleming TR: "Martingale-based residuals for survival models." *Biometrika* (1990), vol. 77 (1), p. 147-160
102. Klein JP, Moeschberger ML: "Survival Analysis - Techniques for Censored and Truncated Data" 2nd edition, p. 333ff; published by Springer-Verlag in New York (2003)
103. Fleming TR, Harrington DP: "Counting Processes and Survival Analysis" 1st edition, p. 163ff; published by John Wiley & Sons Inc in Indianapolis (1991)
104. Sachs L, Hedderich J: "Angewandte Statistik - Methodensammlung mit R" 12th edition, p. 630ff; published by Springer-Verlag in Berlin (2006)
105. Norusis MJ: "Advanced Statistical Procedures Companion" 1st edition, p. 152ff; published by Prentice Hall Inc. in Upper Saddle River (2008)
106. Nakagoe T, Kusano H, Hirota M et al.: "Serological and immunohistochemical studies on sialylated carbohydrate antigens in colorectal carcinoma." *Gastroenterol Jpn* (1991), vol. 26 (3), p. 303-311
107. Nakagoe T, Sawai T, Tsuji T et al.: "Increased serum level of sialyl Lewis(x) antigen in blood from the tumor drainage vein in patients with non-polypoid growth type of colorectal cancer." *J Exp Clin Cancer Res* (2001), vol. 20 (1), p. 85-90
108. Paganuzzi M, Bobbio B, Marroni P et al.: "Prognostic role of serum sialyl Lewis(x) (CD15s) in colorectal cancer." *Oncology* (2003), vol. 65 (1), p. 52-59
109. Matsushita Y, Yamamoto N, Shirahama H et al.: "Expression of sulfomucins in normal mucosae, colorectal adenocarcinomas, and metastases." *Jpn J Cancer Res* (1995), vol. 86 (11), p. 1060-1067

DANKSAGUNG

HERRN PROF. DR. ERNST KLAR

Abteilung für Allgemeine, Thorax-, Gefäß- und Transplantationschirurgie
der Chirurgischen Klinik der Universität Rostock

HERRN DR. LEIF SCHIFFMANN

Abteilung für Allgemeine, Thorax-, Gefäß- und Transplantationschirurgie
der Chirurgischen Klinik der Universität Rostock

HERRN PROF. DR. DR. JENS PAHNKE

Neurodegeneration Research Laboratory
der Klinik für Neurologie der Universität Rostock

HERRN PROF. DR. FRIEDRICH PRALL

Institut für Pathologie der Universität Rostock

HERRN DR. MICHAEL LINNEBACHER

Forschungsgruppe Molekulare Onkologie und Immuntherapie
am Biomedizinischen Forschungszentrum der Universität Rostock

FRAU PROF. DR. BRIGITTE VOLLMAR

Institut für Experimentelle Chirurgie der Universität Rostock

HERRN PROF. DR. ULRICH SAX

Fakultät für Angewandte Wissenschaften der Hochschule Coburg

HERRN THOMAS BRÜNING

Neurodegeneration Research Laboratory
der Klinik für Neurologie der Universität Rostock

FRAU SEVAL ÖZCAN

Abteilung für Unfallchirurgie des Klinikums Kaufbeuren der
Kliniken Ostallgäu-Kaufbeuren

FRAU JULIANE LAGE

Abteilung für Allgemeine, Thorax-, Gefäß- und Transplantationschirurgie
der Chirurgischen Klinik der Universität Rostock

FRAU DOROTHEA FRENZ

Institut für Experimentelle Chirurgie der Universität Rostock

FRAU TINA KOTTEK

Forschungsgruppe Molekulare Onkologie und Immuntherapie
am Biomedizinischen Forschungszentrum der Universität Rostock

FRAU ULRIKE KLIER

Forschungsgruppe Molekulare Onkologie und Immuntherapie
am Biomedizinischen Forschungszentrum der Universität Rostock

FRAU HELGAKRENTZ

Institut für Medizinische Informatik und Biometrie der Universität Rostock

MEINEN ELTERN WILTRUD UND PETER SCHWARZ

Zuhause

THESEN

1. Das kolorektale Karzinom stellt in Deutschland die häufigste Krebsneuerkrankung und die zweithäufigste Ursache für den Tumortod dar.
2. Bei der Mehrzahl der Darmkrebsfälle stellt nicht der Primärtumor sondern die Fernmetastasierung den das Langzeitüberleben limitierenden Faktor dar.
3. Bei bis dato nicht zufriedenstellenden Langzeitergebnissen bei der Behandlung kolorektaler Karzinome kommt der Untersuchung neuer Marker für eine optimierte Therapieplanung neben der Suche nach gänzlich neuen Therapieoptionen ein hoher Stellenwert zu.
4. Das erst bei zunehmender Entartung auf den Zellwänden kolorektaler Tumoren exprimierte Glykoproteinepitop Sialyl Lewis X stellt sowohl auf Grund seiner physiologischen Funktion als auch angesichts bereits beschriebener klinisch-pathologischer Korrelationen einen vielversprechenden Indikator für die Aggressivität der Darmkrebserkrankung dar.
5. In der hier vorliegenden retrospektiven Arbeit wurde die Sialyl Lewis X-Expression kolorektaler Karzinome mittels immunhistochemischer Färbung parafingebetteter Resektatblöcke von 215 Patienten im UICC-Stadium III und IV sichtbar gemacht und anhand eines neu entwickelten fünfstufigen Färbescorers quantifiziert. Im Anschluss wurde der Expressionsgrad mit den recherchierten generellen Überlebenszeiten, tumorbezogenen Überlebenszeiten sowie rezidivfreien Zeiten statistisch korreliert.
6. Im Rahmen der statistischen Analysen wurde die Score-Grenze errechnet, welche optimal zwischen einer Gruppe mit einem niedrigeren bzw. einem höheren Risiko tumorbedingt zu versterben differenziert.
7. Zwischen den tumorbezogenen 5-Jahres-Überlebensraten der beiden ermittelten Risikogruppen zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied, wobei eine stärkere Sialyl Lewis X-Expression mit einer im Mittel kürzeren Überlebenszeit einherging. Auch bei getrennter Betrachtung der Patienten im UICC-Stadium III bzw. IV unterschieden sich die tumorbezogenen 5-Jahres-Überlebensraten jeweils signifikant.

8. Bei der Gegenüberstellung von etablierten Prognosefaktoren und der Sialyl Lewis X-Expression ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge.
9. Mit der Entwicklung eines einfach anzuwendenden Färbescorers sowie der Nutzung eines kommerziell erhältlichen Antikörpers wurden wichtige Voraussetzungen für eine Bestimmung der Sialyl Lewis X-Expression in der Routine geschaffen.
10. In Anbetracht der Ergebnisse kann eine generelle Beurteilung der Sialyl Lewis X-Expression im Rahmen der histopathologischen Untersuchung kolorektaler Karzinome empfohlen werden, um Patienten mit einer hohen Expressionsintensität im Zweifelsfall eher einer adjuvanten Behandlung zuführen zu können und bei diesen auf eine besonders konsequente Nachsorge zu achten.

SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Ich erkläre, dass ich die hier vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Kaufbeuren, den 22. November 2010

Fabian Schwarz