

Aus dem Institut für Pathologie  
(Direktor: Prof. Dr. med. Christoph Röcken)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Geschlechtsdimorphismus beim Adenokarzinom des Magens:  
Nur bei Frauen korreliert der Gehalt an neutrophilen Granulozyten  
in der Invasionsfront mit dem Überleben**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
**Franziska Clausen**  
aus Kiel

Kiel 2022

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Christoph Röcken, Institut für Pathologie

2. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Claudia Baldus, Klinik für Innere Medizin II mit den Schwerpunkten Hämatologie und Onkologie

Tag der mündlichen Prüfung: 10.01.2023

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 21.08.2022

gez.: Prof. Dr. med. Christoph Röcken

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>III</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1.1 Bedeutung von Krebserkrankungen .....	1
1.2 Das Magenkarzinom (C16).....	2
1.2.1 Epidemiologie.....	2
1.2.2 Ätiopathogenese .....	3
1.2.3 Diagnostik und Staging.....	10
1.2.4 Histologische Klassifikation .....	14
1.2.5 Therapie .....	16
1.2.6 Prävention .....	18
1.3 Tumorimmunmikroenvironment (TIME).....	20
1.3.1 Immunsystem .....	20
1.3.2 Neutrophile Granulozyten.....	21
1.3.3 Immunsystem und Geschlecht .....	28
1.4 Fragestellung und Zielsetzung .....	30
<b>2 Material und Methodik .....</b>	<b>31</b>
2.1 Studiendesign und Ethikvotum .....	31
2.2 Untersuchtes Patientenkollektiv .....	31
2.3 Erstellung und Vorbereitung der Schnittpräparate.....	32
2.4 Virtuelle Mikroskopie und Methodik.....	33
2.5 Statistische Auswertung .....	35
<b>3 Ergebnisse.....</b>	<b>36</b>
3.1 Rohwertbetrachtung .....	37
3.1.1 TAN-Anzahldichten in den Tumorkompartimenten.....	38
3.1.2 Tan-Anzahldichten in den Tumor Phänotypen .....	38
3.1.3 TAN-Anzahldichten nach Geschlecht.....	39
3.2 Klinisch-pathologische Korrelationen.....	40
3.2.1 Teilen am Median.....	40
3.2.2 Teilen in Quartile .....	41
3.2.3 $Q_1$ vs. $Q_{234}$ .....	41
3.2.4 Bedeutung des Geschlechts.....	45
3.3 Prognostische Bedeutung von TAN-Anzahldichten.....	47

3.3.1	Prognostische Bedeutung getrennt nach Geschlechtern.....	48
3.3.2	Univariate Überlebensanalyse.....	51
3.3.3	Prüfung auf Surrogateffekte .....	53
3.3.4	Multivariate Überlebensanalyse .....	60
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>61</b>
4.1	Diskussion der Methodik .....	61
4.1.1	Das Kollektiv.....	61
4.1.2	Untersuchtes Material und Ermittlung der Kompartimente .....	62
4.1.3	Identifizierung der TAN.....	62
4.1.4	Variation der <i>cut-off</i> Werte.....	63
4.1.5	Diskrepanz zur zuvor veröffentlichten Studie .....	63
4.2	Diskussion der Ergebnisse .....	64
4.2.1	Spezifische Anreicherung der TAN in den Kompartimenten.....	64
4.2.2	Korrelation der TAN-Anzahldichte mit dem Tumor Phänotyp .....	64
4.2.3	Tumorbiologische Funktion der TAN .....	65
4.2.4	Bedeutung des Geschlechts.....	65
4.2.5	TAN als Prognosefaktor .....	66
4.3	Perspektive.....	67
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>68</b>
<b>6</b>	<b>Literatur .....</b>	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>78</b>
7.1	Supplementäre Tabellen .....	78
7.2	Tabellenverzeichnis.....	92
7.3	Abbildungsverzeichnis.....	94
7.4	Publikationen .....	96
7.4.1	Abstract .....	96
7.4.2	Kongressbeitrag .....	97
7.4.3	Fachzeitschriftenbeitrag .....	98
7.5	Erklärung .....	99
7.6	Danksagung .....	100

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
+	positiv
µm	Mikrometer
A.	Arteria
BRCA	<i>Breast cancer gene</i>
<i>cag</i>	Cytotoxin assoziierte Gene
CDH1	E-Cadherin
CT	Computertomografie
CTL	cytotoxische T-Lymphozyten
DNA	Desoxyribonukleinsäure
<i>et al.</i>	<i>et aliae, et alii</i>
EBV	Epstein-Barr Virus
FAP	familiäre adenomatöse Polypose
FIGC	familiäres intestinales Magenkarzinom
FLOT	Therapieschema (5-Fluorouracil, Folinsäure, Oxaliplatin und Doxetaxel)
g	Gramm
GAPPS	gastrales Adenokarzinom mit proximaler Polypose des Magens
G-CSF	Granulozytenkolonie stimulierender Faktor
G-MDSC	<i>granulocytic myleoid-derived supressor cells</i> , myeloide Vorläuferzellen
HDN	<i>high-density</i> neutrophile Granulozyten
HDGC	familiäres diffuses Magenkarzinom
HE	Hämatoxylin und Eosin
HER-2	humaner epidermaler Wachstumsfaktorrezeptor 2
HDGC	familiäres diffuses Magenkarzinom
HNPCC	hereditäres nicht-polypose-assoziiertes kolorektales Karzinom
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
IFN-β	Interferon-β
IL	Interleukin
LDN	<i>low-density</i> neutrophile Granulozyten
M	Metastase
MALT	<i>mucosa-associated-lymphoid tissue</i>

ml	Milliliter
MPO	Myeloperoxidase
MSI	mikrosatelliteninstabil
MSS	mikrosatellitenstabil
N	Lymphknoten
N1-TAN	tumor-assoziierte neutrophile Granulozyten, antitumoraler „N1-Phänotyp“
N2-TAN	tumor-assoziierte neutrophile Granulozyten, protumoraler „N2-Phänotyp“
NETs	<i>neutrophil extracellular traps</i>
NLR	Neutrophile Granulozyten/Lymphozyten-Ratio
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
ÖGD	Ösophago-Gastro-Duodenoskopie
PD-L1	<i>programmed cell death protein</i> - Ligand
PD-1	<i>programmed cell death protein 1</i>
PMN-MDSC	<i>polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells</i> , myeloide Vorläuferzellen
RHOA	<i>Ras homolog gene family member A</i>
sog.	sogenannt
T	Tumor
TAN	tumor-assoziierte neutrophile Granulozyten
TGF- $\beta$	<i>transforming growth factor-<math>\beta</math></i>
TIME	Tumorimmunmikroenvironment
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
UICC	<i>Union internationale contre le cancer</i>
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
VacA	vakuolisierendes Zytotoxin
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
vs.	<i>versus</i>
WHO	Weltgesundheitsorganisation

# 1 Einleitung

## 1.1.1 Bedeutung von Krebserkrankungen

In *The Hallmarks of Cancer* beschrieben Hanahan und Weinberg im Jahr 2000 sechs zellphysiologische Veränderungen, die malignes Wachstum auszeichnen. Dazu gehören: Wachstumssignalautonomie, Unempfindlichkeit gegenüber wachstumshemmenden Signalen, Umgehung des programmierten Zelltods, Angiogenese, Fähigkeiten des invasiven Wachstums mit Metastasierung und unbegrenztes Wachstumspotential (1). Elf Jahre später wurden die *Hallmarks* von sechs auf zehn erweitert. Es wurden die Dysregulation des Stoffwechsels, die Immunevasion, die genomische Instabilität und die tumorfördernde Entzündungsreaktion hinzugefügt (2).

Etwa jeder zweite Mann und jede zweite Frau erkranken im Laufe ihres Lebens an Krebs (3). In Deutschland werden im Jahr 2020 etwa 519.000 Menschen neu an Krebs erkrankt sein (3, 4). Absolut hat sich die Inzidenz seit den 70er Jahren nahezu verdoppelt und es ist mit einem weiteren Anstieg um mindestens 20 % bis 2030 zu rechnen. Dieser Anstieg ist vor allem auf die steigende Lebenserwartung und die wachsende Zahl älterer Menschen zurückzuführen (3, 4). Die Zahl der Sterbefälle ist im selben Zeitraum nur geringfügig angestiegen bis rückläufig. Verstarben 1980 noch über zwei Drittel aller an Krebs Erkrankten, so sind es heute weniger als die Hälfte. Dies ist auf Veränderungen im Lebensstil, häufigere Früherkennungsuntersuchungen und immer frühere und bessere Diagnostik und Therapie zurückzuführen. Auch hat es zu einer gestiegenen Lebenserwartung beigetragen (3, 4).

## 1.2 Das Magenkarzinom (C16)

Das Magenkarzinom ist mit 952.000 neuen Fällen jährlich der fünfthäufigste Krebs weltweit und die dritthäufigste krebsbedingte Todesursache (5, 6).

### 1.2.1 Epidemiologie

Etwa 1 % aller Todesfälle in Deutschland sind auf Magenkrebs zurückzuführen (3). Obwohl die Sterberate in den letzten Jahrzehnten auf ein Drittel zurückgegangen ist, hat das Magenkarzinom mit einer relativen 5-Jahres-Überlebensrate von 31 % für die Männer und 33 % für die Frauen (4) im Vergleich zu anderen Krebserkrankungen weiterhin eine schlechte Prognose. Das ist mitunter dem Umstand geschuldet, dass die meisten Tumoren erst in fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert werden (3).

Im Jahr 2016 gehörte in Deutschland der Magen mit 3,6 % aller Lokalisationen und 9.300 Neuerkrankungen zu den achthäufigsten Krebslokalisationen bei Männern und mit 2,7 % und 5.840 Neuerkrankungen zu den zehnthäufigsten Krebslokalisationen bei Frauen (7). Das sind nur etwa halb so viele wie vor 40 Jahren. Werden die durch maligne Tumoren verursachten Sterbefälle betrachtet, liegt das Magenkarzinom bei Männern mit 4,3 % und bei den Frauen mit 3,7 % aller Krebssterbefälle bei beiden auf Platz sechs. Es versterben jährlich noch fast 10.000 Menschen in Deutschland daran (3, 7).

Bei beiden Geschlechtern steigt das Erkrankungsrisiko mit zunehmendem Alter. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei Männern bei 72 und bei Frauen bei 75 Jahren (3). Männer erkranken und versterben etwa doppelt so häufig wie Frauen (6, 8).

Die Sterberaten liegen in den neuen Bundesländern nach wie vor deutlich höher als in den alten Bundesländern. Auch innerhalb von Europa gibt es ein deutliches Ost-West Gefälle, so liegen die Inzidenz und Mortalitätsraten in den baltischen Staaten drei- bis viermal höher als in Skandinavien (4). In Deutschland liegt die Inzidenz im europäischen Vergleich im oberen mittleren Bereich. Bei der Mortalität haben die deutschen Männer eine etwas bessere und die deutschen Frauen die gleiche Prognose wie ein durchschnittlicher Europäer (4). Sowohl die Inzidenz als auch die Mortalität von Magenkrebs ist in Ostasien, insbesondere Japan und Korea, mit deutlichem Abstand am höchsten. In Afrika und Nordamerika sind sie vergleichsweise niedrig (6).

Der Anteil der bösartigen Tumore der Kardialia steigt weiter an. Die Nicht-Kardialtumore hingegen sinken seit mittlerweile 50 Jahren sowohl in Inzidenz als auch Mortalität in fast allen Ländern (6). Dies führt zu einem stetigen Rückgang der altersstandardisierten Neuerkrankungs- und Sterberaten für beide Geschlechter. Bei den jüngeren Altersgruppen ist der Rückgang von Inzidenz und Mortalität etwas geringer als bei den älteren (4).

## **1.2.2 Ätiopathogenese**

Die Kanzerogenese beim Magenkarzinom ist ein vielstufiger und multifaktorieller Prozess, der über Jahre langsam unbemerkt voranschreitet. Zahlreiche innere und äußere Faktoren, ausgehend von Lebensstil, Ernährung und beruflicher Schadstoffbelastung, modulieren das Risiko. Aber auch erhöhtes Alter, Infektionen, genetische und sozioökonomische Faktoren spielen bei der Entwicklung eine Rolle. Besonders aus einer, durch langjährige Gastritis, geschädigten Mucosa kann ein Magenkarzinom hervorgehen.

### **1.2.2.1 Gastritiden**

Eine Gastritis ist eine akute oder chronische Entzündung des Magens. Meist sind die auf die Schleimhaut begrenzten Entzündungen gemeint (9). Chronische Entzündung fördert auf vielen Wegen die Kanzerogenese. Correa *et al.* beschrieb schon 1988, wie durch einen Entzündungsreiz, beispielsweise salzhaltige Kost und Medikamenteneinnahmen, aus gesunder Schleimhaut eine chronische atrophische Gastritis mit kleinen, sich vermehrenden Epithelmetaplasien entsteht. Dabei wird die gastrale Schleimhaut durch intestinale Mucosa substituiert. Diese entwickelt sich über Dysplasien (intraepitheliale Neoplasien) schließlich zu invasiven Karzinomen (6, 10, 11). Hierbei entstehen vor allem Karzinome mit intestinalem Erscheinungsbild. Der diffuse Typ des Magenkarzinoms entsteht vermutlich, wenn man die hereditären Formen ausnimmt, *de novo* (6, 12).

Nach der aktualisierten Sydney-Klassifikation werden drei Gastritiden unterschieden: nichtatrophische Gastritis, atrophische Gastritis und spezielle Formen der Gastritis (9).

Etwa 80 % aller Gastritiden werden durch das Bakterium *Helicobacter pylori* (H. pylori) mit verursacht und nur bei 5 - 10 % ist die Ursache nicht bestimmbar (9). Die nichtatrophische Gastritis kann im Laufe der Zeit in eine atrophische Gastritis

übergehen (9). Bei der atrophischen Gastritis wird unterschieden zwischen der multifokalen atrophischen Gastritis, ausgelöst durch *H. pylori*, Ernährung und Umweltfaktoren, und der Autoimmungastritis. Die Autoimmungastritis führt zu einer atrophischen Gastritis des Korpus und Fundus mit Verlust der Parietal- und Hauptzellen. Sie macht etwa 3 % aller Gastritiden aus. Auslöser sind Autoantikörper gegen die Protonenpumpen der Parietalzellen und den Intrinsic Factor. Die Folge ist eine Achlorhydrie und ein Mangel an Vitamin B12. Daraus resultiert eine perniziöse Anämie, welche das Risiko für ein Magenkarzinom nach 20 Jahren um das 3-fache erhöht (9).

Als spezielle Formen gelten die durch chemische, radiogene, leukozytäre, granulomatöse oder seltenere infektiöse Faktoren ausgelösten Gastritiden. Zu ihr gehört auch die chemisch induzierte reaktive Gastritis. Ausgelöst durch nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR), biliären Reflux oder andere Substanzen findet sie vorwiegend im Antrum statt und macht ca. 20 % aus, Tendenz steigend (9).

### **1.2.2.2 *Helicobacter pylori***

Die wohl bekannteste und wichtigste Ursache für das Magenkarzinom ist das Bakterium *H. pylori*. Es wurde 1982 erstmals von den australischen Forschern B. J. Marshall und J. R. Warren isoliert und galt lange Zeit als sehr umstritten (13). Später, als *H. pylori* von der Wissenschaftswelt allgemein anerkannt wurde, wurde es als Auslöser von chronisch aktiven Gastritiden in Correas Modell integriert (11). Es gilt mittlerweile als ein Klasse I Kanzerogen (14).

*H. pylori* ist ein gramnegatives, bewegliches, gebogenes oder spiralförmiges Bakterium mit unipolaren Flagellen. Es ist zwischen 2,5 und 4 µm lang und kann mit einer Glykokalyx bedeckt sein (15). Durch Spaltung von Harnstoff in Ammoniak und Kohlenstoffdioxid durch das Enzym Urease schafft sich das Bakterium ein neutrales Micromilieu. Zusätzlichen Schutz findet es unter der Muzinschicht des Epithels (16). Membranproteine ermöglichen es dem Bakterium, an den Epithelzellen zu haften (17).

Weltweit ist etwa jeder zweite Erwachsene mit dem Bakterium infiziert (14). Genetische Veranlagung und sozioökonomischer Status lassen auch innerhalb einer Gesellschaft die Prävalenz stark variieren (18). In Entwicklungsländern liegt sie oft über 80 %. In Deutschland und anderen Industrienationen mit guten hygienischen

Bedingungen ist sie seit Jahren rückläufig und liegt zwischen 20 bis 50 %. Auch Tiere können Träger sein, gelten aber nur als Überträger anderer Helicobacter Spezies. Die Infektion erfolgt meist innerhalb der Familie und findet über die orale Aufnahme von menschlichem Erbrochenem, Speichel oder Stuhl statt, auch verunreinigtes Wasser kommt in Frage (16). Es wird aktuell an Impfstoffen geforscht, jedoch ist in naher Zukunft nicht mit der Marktreife zu rechnen. Auch anerkannte Präventionsstrategien existieren nicht (18). Die meisten Infizierten entwickeln lediglich eine asymptomatische chronische Gastritis. 50 % entwickeln eine meist im Korpus prädominante Schleimhautatrophie (9), 10 % entwickeln gastroduodenale Ulcera und 1-3 % der Infizierten entwickeln ein Magenkarzinom (17). Desto länger die Gastritis anhält, desto größer wird die Gefahr für Folgeerkrankungen, wie neben den Genannten auch Marginalzonenlymphome des MALT (*mucosa-associated-lymphoid tissue*) und extraintestinale Krankheiten (16, 18).

Je nach Lokalisation führt die Besiedlung zu unterschiedlichen Reaktionen der Magenschleimhaut.

Am häufigsten durch *H. pylori* verursacht ist die Antrum-prädominante Gastritis (16). Das Karzinomrisiko für die distalen Magenabschnitte ist bei Infektion durch *H. pylori* um das zwei- bis dreifache erhöht. Im Falle einer Pangastritis oder korpus-prädominanten Gastritis sogar bis zu 34-fach (18). Zwischen 65 % und 80 % aller Nicht-Kardiakarzinome sind auf *H. pylori* zurückzuführen (19).

Adenokarzinome der Kardia sind ähnlich wie ösophageale Karzinome mit Refluxösophagitis assoziiert. Hier zeigt eine ausgedehnte Infektion mit Hypoazidität einen protektiven Effekt (19). Nur für eine kleine Subgruppe an Karzinomen des ösophagogastralen Übergangs erhöht sich das Risiko. Da *H. pylori* ein protektiver Faktor für das Adenokarzinom des Ösophagus und protektive Effekte bei der Schlaganfallentwicklung zeigt, wirkt sich die Infektion insgesamt nicht auf die Sterblichkeit aus (18).

*H. pylori* ist genetisch sehr heterogen. Oft koexistieren verschiedene Stämme in einem Patienten. Sie sind in der Lage, die Gene ihrer Membranproteine epigenetisch zu verändern, womit ihre Motilität während der chronischen Infektion angepasst wird (16).

Ein verbreiteter Virulenzfaktor ist das vakuolisierende Zytotoxin (VacA). Ein Exotoxin, welches in die Membran der Epithelzellen eingeschleust wird und zu Zellschädigung oder Apoptose führt. Je nach geografischer Region sind verschiedene, auch nicht pathogene, Varianten bekannt. In Asien beeinflusst VacA die Krankheitsverläufe nicht, wohingegen in westlichen Ländern die Krankheitsschwere zunimmt (16).

Viele *H. pylori*-Stämme weisen außerdem die *Cytotoxin assoziierte Gen-Region* (*cag-Region*) auf. Dies ist eine 37 kbp große, sehr variable und transferierbare Region mit 29 Genen (9, 16). Das CagA-Protein wird vom Bakterium in die Epithelzelle injiziert und interagiert mit einer Tyrosinkinase. Dies führt zu Wachstumsreizen, starken morphologischen Veränderungen der Epithelzelle (20) und dem verstärkten Migrieren von neutrophilen Granulozyten und anderen Immunzellen (16). *H. pylori* Infektionen mit länger nachweisbaren CagA-positivem Stamm haben ein bis zu fast dreifach erhöhtes Magenkarzinomrisiko (18, 19).

Sowohl die Virulenzfaktoren der Bakterien, als auch die Immunreaktion des Infizierten tragen zur Schädigung des gastrischen Epithels bei. Die Immunreaktion des Infizierten führt meist nicht zur Eradikation der Bakterien, sondern schädigen lediglich das gastrische Epithel. Bei manchen Patienten wird eine Autoimmungastritis induziert (16). Das Bakterium verändert die Genexpression von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen der gastralen Zellen. Eingriffe in den Zellzyklus, wie pro- und antiapoptotische Wirkung und die Erhöhung von Proliferation begünstigen die Kanzerogenese (14).

Der Nachweis von *H. pylori* kann aus Biopsiematerial durch die Erstellung einer Kultur, histologische Begutachtung z.B. mit Giemsa Färbung, Urease-Schnelltest oder Polymerasekettenreaktion erfolgen. Nicht invasive Nachweise, wie Harnstoff-Atemtest, Stuhl-Antigentest mit monoklonalen Antikörpern oder IgG-Antikörpernachweis im Serum, haben eine geringere Spezifität. Serumantikörper können auch auf eine abgelaufene Infektion hinweisen. Eine Achlorhydrie, verursacht durch Operationen, Korpusatrophie, Autoimmungastritis oder durch das Fortschreiten der *H. pylori* Infektion, kann die Erreger spontan eliminieren (18). Gerade beim Fortschreiten der Infektion kann dies die Diagnose und damit auch die Bestimmung der genauen Prävalenz von *H. pylori* in Magenkarzinomen erschweren (9, 18, 19). Ansonsten ist die spontane Ausheilung einer Infektion unwahrscheinlich (16).

Eine Therapie wird empfohlen bei Infektion plus: peptischer Ulkus, MALT-Lymphom, länger bestehender funktioneller Dyspepsie, idiopathischer thrombozytopenischer Purpura, Morbus Ménétrier, lymphozytäre Gastritis, Eisenmangelanämie oder geplanter langfristiger Therapie mit NSAR. Aber auch Patienten mit asymptomatischer Gastritis und Risikopersonen kann eine Eradikation zur Magenkarzinomprophylaxe angeboten werden. Als Risikopersonen gelten Menschen mit ausgedehnter multifokaler Atrophie, intestinalen Metaplasien, früheren Magenneoplasien, korpusprädominanter Gastritis oder Pangastritis, Magenkarzinomen bei erstgradigen Verwandten oder Protonenpumpen-Inhibitoren-Langzeitmedikation (18, 21, 22). Keine Indikation zur Eradikation besteht bei isoliert auftretenden Refluxerkrankungen, da Barrett-Ösophagus und ösophageale Adenokarzinome seltener bei Infizierten beobachtet wurden (18).

Die zweiwöchige Eradikationstherapie erfolgt mithilfe der Triple-Therapie. Diese beinhaltet einen Protonenpumpenhemmer, der für die Wirksamkeit der Antibiose entscheidend ist, Clarithromycin und Amoxicillin (*French Triple*) oder Metronidazol (*Italian Triple*). Bei Verdacht auf Resistenzen, vor allem gegen Clarithromycin, kann von Beginn an eine deutlich kompliziertere Quadrupeltherapie in Betracht gezogen werden. Rezidivinfektionen nach erfolgreicher Therapie sind selten (18).

### **1.2.2.3 Epstein-Barr Virus**

Das Epstein-Barr Virus (EBV) ist ein weiterer, kausalpathogenetisch mit dem Magenkarzinom verknüpfter Erreger. Es ist ein behülltes Virus mit doppelsträngiger DNA und das erste isolierte Onkovirus (23). Es wird ebenfalls als Klasse I Kanzerogen geführt und ist assoziiert mit verschiedenen B- und T-Zell-Lymphomen und einigen Karzinomen. Der Mensch ist der einzige Wirt, und 90 % der Weltbevölkerung ist damit infiziert (14). EBV wird in 6 - 12 % aller Magenkarzinome nachgewiesen. Dabei bestehen große Unterschiede in der Assoziation von Magenkrebs und EBV in den unterschiedlichen Ethnien (24). EBV-assoziierte Magenkarzinome bestehen vermutlich aus klonierten EBV-infizierten Epithelzellen (25).

#### 1.2.2.4 Genetik

Nicht nur biologisch, sondern auch genetisch ist das Magenkarzinom sehr heterogen. Neben den sporadisch auftretenden Magenkarzinomen sind ca. 10 % familiär gehäuft und in ca. 1-3 % der Fälle sind Keimbahnmutationen die Ursache (26).

Vererbte Syndrome, die in ein Magenkarzinom übergehen können sind: Lynch-Syndrom, familiäre adenomatöse Polypose (FAP), Li-Fraumeni-Syndrom, BRCA-Mutationen, Peutz-Jeghers-Syndrom und hereditäres nicht-polypose-assoziiertes kolorektales Karzinom (HNPCC) (26, 27). Außerdem gibt es drei Syndrome, die vor allem den Magen betreffen: familiäres diffuses Magenkarzinom (HDGC), gastrales Adenokarzinom mit proximaler Polypose des Magens (GAPPS) und familiäres intestinales Magenkarzinom (FIGC) (26).

Das HDGC ist eine sehr seltene, autosomal dominant vererbte Form des Magenkarzinoms und zeichnet sich durch früh auftretende, schlecht differenzierte, diffuse, high-grade Karzinome aus. Es werden verschiedene Keimbahnmutationen im Gen des Zelladhäsionsproteins E-Cadherin (*CDH1*) verantwortlich gemacht (28). Die Penetranz des Karzinoms bei Betroffenen wird zwischen 40 und 80% geschätzt (26, 27) und neben dem Magenkarzinom sind lobuläre Mammakarzinome und Kolonkarzinome häufig anzutreffen (26). Bei nachgewiesener *CDH1*-Mutation wird eine prophylaktische Gastrektomie ab dem 20. Lebensjahr empfohlen, da auch Endoskopie und die Entnahme von Biopsien die mikroskopischen Veränderungen nicht rechtzeitig aufspüren können (22, 26, 28). Wird keine prophylaktische Gastrektomie durchgeführt, soll eine regelmäßige Endoskopie angeboten werden (22).

Das GAPPS und das FIGC sind ebenfalls autosomal dominant vererbt, jedoch mit geringer Penetranz. Bisher können keine Früherkennungsuntersuchungen oder präventive Operationen angeboten werden (22). Beim GAPPS finden sich multiple hyperplastische und adenomatöse Polypen der Fundusdrüsen, die zum intestinalen Adenokarzinom entarten können. Die Läsionen finden sich streng auf den Magen im Korpus- und Fundusbereich begrenzt (6, 26).

Außer hereditären Syndromen können gemeinsame Risikofaktoren, wie indolente *H. pylori* Durchseuchung, Ernährungs-, Lebensgewohnheiten und Interaktionen zwischen Genen und Umwelt familiäre Häufungen bedingen. Personen mit einem Verwandten

ersten Grades mit Magenkarzinom haben ein zwei- bis dreifach erhöhtes Risiko (27). Bei Verwandtschaft mit mehreren Erkrankten ist das Risiko sogar zehnfach zur Vergleichspopulation erhöht (21). Je nach ethnischer Gruppe und Inzidenz im jeweiligen Land ändert sich die Vergleichspopulation, das tatsächliche Risiko kann also stark abweichen (27).

#### **1.2.2.5 Ernährung und Lebensstil**

Stärker als die Genetik wirkt sich der Lebensstil kausal auf das Magenkarzinom aus. Ernährung kann sowohl positiven als auch negativen Einfluss auf das Karzinomrisiko haben. Vermutlich schützen Gemüsesorten ohne Stärke, Früchte und Allium-Arten, wie Zwiebel, Knoblauch und Schalotten, vor Magenkarzinomen. Auch Hülsenfrüchte und selenhaltige Speisen scheinen das Risiko zu senken. Salz, Chili, geräucherte Speisen und verarbeitetes, gebratenes oder gegrilltes Fleisch stehen wiederum im Verdacht das Risiko zu erhöhen (29).

Ein verbreiteter Konsum von salzhaltigen Lebensmitteln kann einen Teil der Erklärung zur höheren Inzidenz von Magenkarzinomen in Asien und Lateinamerika liefern. Nitrate werden durch Bakterien in kanzerogene Nitrite und Nitrosamine umgewandelt und schädigen so die Magenmucosa (3, 4). Eine atrophische Gastritis im Korpus verstärkt diesen Effekt durch Hypoacidität und vermehrte Besiedelung durch Anaerobier (14). Die Verbreitung von Kühlschränken vermeidet herkömmliche Konservierungsmethoden, wie beispielsweise Pökeln oder Räuchern. Dies senkt den Gehalt von Nitrat und polyzyklischen Wasserstoffen in der Ernährung (3, 4). Verbesserte Ernährungsgewohnheiten durch einen erleichterten ganzjährigen Zugang zu frischem Obst und Gemüse schützen durch deren erhöhten Gehalt an Antioxidantien die Magenmucosa. Eine verstärkte pflanzliche Ernährung mit hohem Anteil von Nahrungsfasern schützt zusätzlich vor Übergewicht, welches zu einer gastroösophagealen Refluxkrankheit führen kann. Chronisches Sodbrennen und Übergewicht erhöhen das Risiko für die in Europa und Nordamerika häufigen proximalen Tumoren (3, 6, 21, 22).

Chronischer Alkoholgenuss begünstigt präkanzeröse Läsionen am gastroösophagealen Übergang (30). Auch Rauchen begünstigt Tumoren (30). Es potenziert den kanzerogenen Effekt von CagA-positiven *H. pylori* (6) und das Nikotin stimuliert die Neovaskularisation des Tumors (31). Umweltgifte am Arbeitsplatz, wie

ionisierende Strahlung, Reagenzien der Gummiindustrie und potenziell Asbest oder anorganisches Blei können die Karzinomentstehung begünstigen (30). Wurde der Magen in der Vergangenheit operiert, steigt das Karzinomrisiko nach 5-20 Jahren, besonders nach Billroth II Operationen, ebenfalls an. Grund hierfür ist der verstärkte Gallereflux, der zu einer chronischen Entzündung führt (32). Ebenso ist das Risiko bei einem vorangegangenen peptischen Ulcus erhöht (21).

### **1.2.3 Diagnostik und Staging**

Durch die fehlenden Symptome in frühen Stadien wird das Magenkarzinom oft erst spät diagnostiziert. Zwei Drittel der Fälle werden in den höheren Stadien T3 und T4 entdeckt (3). Patienten mit Dysphagie, rezidivierendem Erbrechen, Inappetenz, unklarem Gewichtsverlust, unklarer Eisenmangelanämie oder gastrointestinaler Blutung sollten bei Verdacht auf ein Karzinomgeschehen als erstes frühzeitig endoskopisch untersucht werden. Hierbei soll eine vollständige Ösophago-Gastro-Duodenoskopie (ÖGD) erfolgen. Bei jeder ÖGD sollen stets mehrere Biopsien aus allen suspekten Läsionen und eventuell auch aus unauffälligen Arealen entnommen werden (21, 22).

Anhand der makroskopischen Wuchsform können bereits während der Endoskopie Rückschlüsse auf die Histologie gezogen werden. Beim fortgeschrittenen Magenkarzinom wird die makroskopische Morphologie nach Borrmann (33) in vier Typen eingeteilt (34):

- I. Exophytisch, polypös wachsendes Karzinom
- II. Karzinom mit zentralem Ulcus und erhabenen Rändern, relativ scharf abgegrenzt
- III. Flaches, ulceriertes Karzinom mit unscharfer Abgrenzung
- IV. diffuse Tumorerfiltration der Magenwand, unscharfe Abgrenzung

Der polypöse, der ulcerierte und der diffuse Typ mit Ulceration zeigen überwiegend einen intestinalen Phänotyp und eine gute bis mäßige Zelldifferenzierung. Wohingegen der diffus infiltrierende Typ IV oft schlecht differenziert ist und Siegelringzellen aufweisen kann. H. pylori-Infektionen können endoskopisch durch eine Lymphfollikelhyperplasie auffallen, dem sogenannten „Gänsehautmagen“ (9).

Die moderne Endoskopie besitzt die höchste Sensitivität und Spezifität für den Neoplasienachweis und vermeidet unnötige Strahlenbelastung durch bildgebende Verfahren. Zur weiteren Verbesserung der Detektionsrate und zur Therapieplanung können Magnifikation (durch optische Linsen oder digitalen Zoom) und computergestützte Chromoendoskopie (integrierte optische Kontrastverstärkung) eingesetzt werden (22). Bei geplantem kurativen Therapieansatz sollte zudem, zur Bestimmung der lokalen Infiltrationstiefe, Beurteilung der umgebenden Strukturen und zum Nachweis geringer Aszitesmengen, ein endoskopischer Ultraschall erfolgen (22).

Erfasst wird zunächst das Tumorstadium (21) und die anatomische Lokalisation. Es werden unterschieden: Kardia (C16.0), Fundus (C16.1), Korpus (C16.2), Antrum (C16.3) und Pylorus (C16.4) (35). Das Antrum ist weltweit die häufigste Karzinomlokalisierung (6). Bei deutschen Männern ist die Kardia am häufigsten betroffen (4). Kardiale Tumoren sind oft schwierig von den Tumoren des gastroösophagealen Übergangs zu trennen. In der aktuellen, achten Version, der TNM-Klassifikation werden Tumoren des gastroösophagealen Übergangs, deren Epizentren sich 2 cm proximal der Kardia befinden, als Ösophaguskarzinome betrachtet. Distal davon gelegene Tumoren werden weiterhin als Magenkarzinome geführt, auch wenn der gastroösophageale Übergang betroffen ist (35).

Die regionalen Lymphknoten sind definiert als die perigastrischen Lymphknoten entlang der kleinen und großen Kurvatur, die Lymphknoten entlang der A. gastrica sinistra, A. hepatica communis, Milz- und Kolonarterien und die hepatoduodenalen Lymphknoten. Als Fernmetastasen gelten andere intraabdominelle Lymphknoten wie die retropankreatischen, mesenterialen und paraaortalen Lymphknoten (35).

Magenkarzinome können sich durch direkte Ausbreitung auf benachbarte Organe, Metastasierung oder peritoneale Streuung ausbreiten. Intestinale Karzinome metastasieren oft hämatogen in die Leber, wohingegen die diffusen sich eher ins Peritoneum ausbreiten. Der Mischtyp beschreitet beide Wege (6). Zum Ausschluss von Fernmetastasen sollte zunächst eine Sonografie der Leber und unter Umständen auch des Halses erfolgen. Anschließend erfolgt eine kontrastmittelverstärkte Computertomografie (CT) des Thorax und des Abdomens inklusive des Beckens (22).

<b>Primärtumor (T)</b>	
Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	<i>Carcinoma in situ</i> : Intraepithelialer Tumor ohne Invasion der Lamina propria, High-Grade-Dysplasie
T1	a Tumor infiltriert die Lamina Propria oder die Muscularis mucosae
	b Tumor infiltriert die Submucosa
T2	Tumor infiltriert die Muscularis propria
T3	Tumor infiltriert die Subserosa, gastrocolische/hepatische Ligamente oder das Omentum majus/minus ohne Perforation des viszeralen Peritoneums
T4	a Tumor perforiert die Serosa
	b Tumor infiltriert benachbarte Organe
<b>Regionäre Lymphknoten (N)</b>	
Nx	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in 1 bis 2 regionären Lymphknoten
N2	Metastasen in 3 bis 6 regionären Lymphknoten
N3	a Metastasen in 7 bis 15 regionären Lymphknoten
	b Metastasen in 16 oder mehr regionären Lymphknoten
<b>Fernmetastasen (M)</b>	
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

**Tabelle 1.1** TNM-Klassifikation des Magenkarzinoms (35).

In lokal fortgeschrittenen Stadien kann eine Staging-Laparoskopie mit Peritoneallavage und Zytologie zum Ausschuss von Lebermetastasen und Peritonealmetastasen sinnvoll sein. Sie sollte zur Therapieplanung stets vor Beginn einer neoadjuvanten Therapie und nach standardisiertem Protokoll erfolgen (22). Molekulare Prognosemarker oder Tumormarker haben bei der Diagnose oder bei der Therapieentscheidung bisher keine klinische Relevanz (21, 22).

Für die Therapieentscheidung wird auf der Grundlage der TNM-Klassifikation das Stadium nach der *Union internationale contre le cancer* (UICC) bestimmt (Tabelle 1.1 und 1.2).

Pathologische Stadien				Klinische Stadien			
<b>Stadium 0</b>	Tis	N0	M0				
<b>Stadium IA</b>	T1	N0	M0	<b>Stadium I</b>	T1, T2	N0	M0
<b>Stadium IB</b>	T1	N1	M0				
	T2	N0					
<b>Stadium IIA</b>	T1	N2	M0	<b>Stadium IIA</b>	T1, T2	N1, N2, N3	M0
	T2	N1					
	T3	N0					
<b>Stadium IIB</b>	T1	N3a	M0	<b>Stadium IIB</b>	T3, T4a	N0	M0
	T2	N2					
	T3	N1					
	T4a	N0					
<b>Stadium IIIA</b>	T2	N3a	M0	<b>Stadium III</b>	T3, T4a	N1, N2, N3	M0
	T3	N2					
	T4a	N1, N2					
	T4b	N0					
<b>Stadium IIIB</b>	T1, T2	N3b	M0				
	T3, T4a	N3a					
	T4b	N1, N2					
<b>Stadium IIIC</b>	T3, T4a	N3b	M0				
	T4b	N3a, N3b					
<b>Stadium IV</b>	Jedes T	Jedes N	M1	<b>Stadium IVA</b>	T4b	Jedes N	M0
				<b>Stadium IVB</b>	Jedes T	Jedes N	M1

**Tabelle 1.2** Stadieneinteilung des Magenkarzinoms nach UICC (35).

## 1.2.4 Histologische Klassifikation

Ähnlich wie beim Darm handelt es sich bei der großen Mehrzahl der malignen Tumoren des Magens um Adenokarzinome. Phänotypisch sind sie jedoch sehr heterogen und können selbst innerhalb eines Tumors unterschiedliche Differenzierungsformen zeigen (sog. intratumorale Heterogenität) (9).

Die intraepithelialen Neoplasien zählen zu den Vorstufen des Magenkarzinoms. Hochgradige intraepitheliale Neoplasien zeigen eine stark gestörte Drüsenarchitektur mit Verzweigungsstörungen, zytologischen Atypien und fehlender apikaler Ausreifung. 80 % gehen in ein invasives Karzinom über (9). Auf die Mucosa oder Submucosa beschränkte Karzinome werden als Magenfrühkarzinome bezeichnet. Sie machen etwa 20 % aller neu diagnostizierten Karzinome aus und sind meist gut differenziert. Mit 5-Jahres-Überlebensraten zwischen 80 und 100 % ist ihre Prognose gut (9). Ohne Behandlung gehen sie jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit in die späte, oft tödliche Form über (6).

Die histologische Einteilung des Magenkarzinoms erfolgt nach der Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO-Klassifikation) in fünf Typen: tubulär, papillär, muzinös, gering kohäsiv (mit und ohne Siegelringzellen) und gemischt (6, 36). Davon abzugrenzen sind kleinzellige-, adenosquamöse-, undifferenzierte Karzinome und Plattenepithelkarzinome (9, 36).

Wesentlich älter und wichtig für die Therapiewahl ist die Klassifikation nach Laurén. Diese unterscheidet einen intestinalen und einen diffusen Typ (37). Der intestinale Typ beschreibt gut bis mäßiggradig differenzierte Adenokarzinome mit polypösem Wachstum. Der diffuse Typ entspricht den gering kohäsiven Adenokarzinomen inklusive der Siegelringzellkarzinome. Er ist mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet und erfordert aufgrund seines diffus-infiltrativen Wachstums einen größeren Resektionsabstand als der intestinale Typ. In etwa 30 % der Fälle tritt ein Mischtyp mit intestinalen und diffusen Anteilen auf, welcher klinisch wie der ungünstige diffuse Typ behandelt werden sollte (9).

Auch beim Grading (Tabelle 1.3) erfolgt die Einteilung bei Vorliegen unterschiedlicher Differenzierungsgrade innerhalb eines Tumors nach dem ungünstigsten Grad (9). Ein Grading nach erfolgter neoadjuvanter Therapie ist nicht sinnvoll (22).

G1	gut differenziert	<i>low grade</i>
G2	mäßig differenziert	
G3	schlecht differenziert	<i>high grade</i>
G4	undifferenziert	

**Table 1.3** Differenzierungsgrade von Adenokarzinomen nach dem vier- oder zweistufigen Modell (9).

Nach neoadjuvanter Chemo- oder Radiotherapie wird der Tumorregressionsgrad nach Becker bestimmt (22, 38).

### 1.2.4.1 Molekulare Pathologie

Umfassende molekulare Charakterisierungen des Magenkarzinoms führten zu der Beschreibung von vier unterschiedlichen molekularen Subtypen: Epstein-Barr-Virus-assoziiertes (EBV<sup>+</sup>), mikrosatelliteninstabiles (MSI), genomisch stabiles und chromosomal instabiles Magenkarzinom (39).

EBV<sup>+</sup> Tumoren lassen sich vor allem im Fundus und Korpus des Magens von männlichen Patienten finden. Sie enthalten oft *PIK3CA*-Mutationen, starke DNA Hypermethylierung und Amplifikationen der Gene von JAK2, PD-L1 und PD-L2. Mikrosatelliteninstabile Magenkarzinome sind häufig mit höherem Lebensalter, weiblichen Geschlecht (39), antraler Lokalisation, intestinalem Phänotyp, frühen Tumorstadien und besserer Prognose vergesellschaftet (40). Sie zeigen CpG-Hypermethylierung an anderen Stellen als EBV<sup>+</sup> Tumore und stark erhöhte Mutationsraten, was auch Gene von therapeutisch angreifbaren onkogenen Signalproteinen betrifft (39). Hypermutierte Karzinomzellen produzieren Neo-Antigene, welche zytotoxische (CD8<sup>+</sup>) T-Zellen und aktivierte T<sub>1</sub>-Helferzellen einwandern lässt (40). Dies zeigt sich auch im Magen durch ein dichtes lymphoides Entzündungsinfiltrat im Tumor (9).

Tumoren mit diffusem Phänotyp sind oft genomisch stabile Tumore. Genomisch stabile Tumoren lassen sich vor allem bei jüngeren Patienten finden und weisen vermehrt *RHOA* (Ras homolog gene family member A) Mutationen auf (39).

Chromosomal instabile Tumore zeichnen sich durch Aneuploidie, Mutation im Tumorsuppressorgen *TP53* und fokale Amplifikationen von Rezeptortyrosinkinasegenen, wie z.B. von HER2 oder MET aus (39). Eine HER2-Überexpression findet sich oft in gut differenzierten intestinalen Tumoren, wohingegen

eine MET-Überexpression eher bei fortgeschrittenen, schlecht differenzierten Tumoren gefunden wird (9). Sie lassen sich häufig in proximalen Magentumoren finden (39).

## 1.2.5 Therapie

Die Prognose des Magenkarzinoms ist nach wie vor schlecht. Prognosebestimmend sind hierbei die TNM-Klassifikation, der HER2-Status und ob der Tumor vollständig im Gesunden entfernt werden konnte. Auch zur Bewertung herangezogen werden kann insbesondere die Lokalisation und das Alter des Patienten. Vielversprechend, aber noch nicht klinisch voll anwendbar, ist das molekulare Profil (35). Wie bei den meisten Tumortherapien ist auch bei der Behandlung des Magenkarzinoms ein interdisziplinäres Vorgehen und die Kombination verschiedener Therapien wichtig für die Prognose und die Lebensqualität.

### 1.2.5.1 Kurativer Ansatz

Bei dem anzustrebenden kurativen Ansatz erfolgt eine chirurgische Resektion. Der Tumor wird - wenn möglich - *en-bloc* und vollständig reseziert (Tabelle 1.4).

R0	Kein Residualtumor
R1	Mikroskopischer Residualtumor
R2	Makroskopischer Residualtumor / nicht entfernbare Metastasen

**Tabelle 1.4** Resektionsstatus von Tumoren (41).

Bei intraepithelialen Neoplasien und bestimmten Magenfrühkarzinomen kann in vielen Fällen eine endoskopische Resektion ausreichen. Kommt dies nicht in Frage, ist ein laparoskopisches Vorgehen möglich. Bei fortgeschrittenen Tumoren ( $\geq T2$ ) wird die Laparoskopie derzeit noch evaluiert. Zur Verbesserung der Langzeitprognose erfolgt eine therapeutische Lymphadenektomie des Kompartiments I und II (22).

Gerade bei diffusen Karzinomen ist aufgrund des einzuhaltenden großen Sicherheitsabstands zum proximalen Resektionsrand oft eine totale Gastrektomie notwendig. Die Wiederherstellung der Kontinuität erfolgt meist durch eine ausgeschaltete Jejunumschlinge nach Roux-Y. Das Operationsverfahren richtet sich vor allem nach der Lokalisation, der TMN-Klassifikation, dem histologischen Phänotyp nach Laurén und der Erfahrung des Operateurs (22).

Bei lokalisierten, resektablen Adenokarzinomen des Magens mit der Kategorie cT2 kann und bei Tumoren ab der Kategorie cT3 sollte ein multimodales Konzept mit perioperativer Chemotherapie eingesetzt werden. Chemotherapieschemata des Magenkarzinoms sind in der Regel platinbasiert. Etabliert hat sich ein Schema aus 5-Fluorouracil, Folinsäure, Oxaliplatin und Doxetaxel (FLOT) (22). Auch die definitive Radiochemotherapie mit platinbasierter Chemotherapie als potenziell kurativer Ansatz kommt in Betracht, wenn der Patient oder der Tumor nicht operabel sind (21, 22).

Eine kurative Antikörpertherapie ist beim Magenkarzinom außerhalb von Studien bisher nicht etabliert. Unterstützt werden operative Therapie und Chemotherapie durch diätische Maßnahmen, Psychoonkologie, Bewegungstherapie und Rehabilitationsmaßnahmen. Postoperativ sollte eine frühzeitige enterale Ernährung angestrebt werden. Nach einer Gastrektomie ist die regelmäßige Substitution von Vitamin B12 lebenslang erforderlich. Die Nachsorge sollte in den ersten zwei Jahren halbjährlich und danach bis zum fünften Jahr jährlich erfolgen (22).

#### **1.2.5.2 Palliativer Ansatz**

Ist die Tumorerkrankung lokal fortgeschritten, inoperabel oder fernmetastasiert, so ist ein palliatives Vorgehen anzuraten. In der palliativen Situation sollte ein asymptomatischer, nicht-blutender Patient in der Regel nicht operiert werden. Ziel der palliativen Therapie ist der Erhalt der Lebensqualität. Bei Patienten mit gutem Allgemeinzustand sollte, unabhängig vom Alter, eine lebensverlängernde systemische Chemotherapie frühzeitig erwogen werden (22).

Geeignet ist eine Platin/Fluoropyrimidin-haltige Kombinationstherapie oder eine taxanbasierte Kombination, beispielsweise FLOT (22). Bei 4-53 % liegt eine prognoseverschlechternde Überexpression des humanen epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors 2 (HER2) vor (42). Bei Überexpression ist eine Kombination mit dem monoklonalen Antikörper Trastuzumab indiziert. Nach Ausschöpfung aller zugelassenen Therapien und nachgewiesener Mikrosatelliten-Instabilität kann ein Einsatz von Immuncheckpoint-Inhibitoren erwogen werden (22).

Je nach Art der Einschränkungen, Ansprechen des Tumors, therapieassoziiierter Toxizität und Patientenvorstellung sollte die Therapie ständig neu angepasst werden. Sowohl medikamentöse, als auch diätische, psychoonkologische und komplementäre

Maßnahmen sollen ergänzt werden. Bei Passagestörungen sind Stentimplantationen oder eine Gastroenterostomie zu empfehlen. Außerdem sind jejunale Ernährungsfisteln oder palliative Bestrahlung möglich. Chemotherapie-refraktärer Aszites lässt sich durch regelmäßiges Punktieren oder Parazentese lindern (21, 22).

### **1.2.6 Prävention**

Die meisten Magenkarzinome wären durch Prävention primär vermeidbar (29). Allgemein hat eine reduzierte, aber ausreichende Energieaufnahme und die ausgewogene Zufuhr von sekundären Pflanzenstoffen, Fasern, Selen, Zink und Vitaminen eine schützende Wirkung (21) und einen positiven Einfluss auf die allgemeine Gesundheit. Als der wichtigste Risikofaktor gilt *H. pylori*. Leider ist bisher keiner der getesteten Impfstoffe für die klinische Anwendung geeignet oder empfohlen (21). Auch die Eradikation und Screeningmaßnahmen auf *H. pylori* werden weiterhin diskutiert. Nach der derzeitigen Leitlinie sollte eine Eradikation vor allem bei Risikopersonen durchgeführt werden. Ein Massenscreening ist in Deutschland aufgrund der geringen Prävalenz nicht kosteneffektiv (18). Aspirin und andere NSAR sind assoziiert mit einer signifikanten Risikoreduktion, besonders von Nicht-Kardiakarzinomen (43). Auch sie sind nach derzeitigem Stand aber nicht zur Prophylaxe geeignet (22).

Bei Familien, in denen das familiäre diffuse Magenkarzinom auftritt, kann eine klare Handlungsempfehlung zur primären Risikoreduktion ausgesprochen werden. Sie sollten auf *CDH1*-Mutationen getestet werden und es sollten präventive Operationen bis zur totalen Gastrektomie erwogen werden (22, 28).

Zur Sekundärprävention gehört die Krebsfrüherkennung, bei der bei beschwerdefreien Personen prognostisch günstige Frühstadien detektiert werden sollen. Hierbei ist immer abzuwägen, ob der Nutzen einer invasiven Untersuchung eventuelle Komplikationen und falsch-positive Befunde aufwiegt. Bislang werden in Deutschland keine regulären Früherkennungsuntersuchungen für das Magenkarzinom angeboten oder geplant (4, 22). Die ÖGD gilt als sensitive und spezifische, jedoch invasive Untersuchungsmethode. Auch werden im Rahmen dieser Untersuchung frühzeitig erkannte Tumoren direkt entfernt, wodurch belastende chirurgische Gastrektomien bei fortgeschrittenen Karzinomen eingespart werden können. Selbst bei Personen mit positiver Familienanamnese wird jedoch keine Empfehlung zur vorsorglichen

Gastroskopie gegeben (21). Besonders Hochrisikopatienten und Hochrisikopopulationen könnten jedoch profitieren. In Korea konnte die 5-Jahres-Überlebensrate durch alle zwei Jahre stattfindendes endoskopisches Screening aller über 40-jährigen Studienteilnehmer von 46,6 % auf 67 % erhöht werden (44).

Lediglich bei Patienten mit gesicherter pathogener *CDH1*-Keimbahnmutation, bei denen keine prophylaktische Gastrektomie erfolgte, bei Patienten mit fortgeschrittener Atrophie oder intestinaler Metaplasie und bei Patienten mit Lynch-Syndrom ist eine regelmäßige ÖGD vorgesehen (22).

Im Optimalfall ist eine Testmethode nicht invasiv und kosteneffektiv.

Eine serologische Untersuchung von Pepsinogen I, das ausschließlich in den Hauptzellen des Korpus produziert wird, und dessen Verhältnis zu Pepsinogen II, das auch in Kardial, Pylorus und Duodenum produziert wird, kann Patienten mit fortgeschrittener Schleimhautatrophie identifizieren und zur Risikostratifizierung dienen (18). Bisher sind serologische Screeninguntersuchungen auf bekannte Biomarker bei der asymptomatischen Normalbevölkerung nicht empfohlen (21, 22).

Bei der tertiären Prävention geht es darum, das Fortschreiten einer bestehenden Krebserkrankung zu vermindern und Rezidive zu vermeiden. Durch prophylaktische Eradikation von *H. pylori* konnte das Risiko von konsekutiven Karzinomen nach Behandlung von frühen Magenkarzinomen verringert werden (45).

## 1.3 Tumorimmunmikroenvironment (TIME)

Tumoren sind nicht lediglich aus malignen Zellen bestehende invasive Haufen. Sie sind komplexe Gebilde aus veränderten Zellen, extrazellulärer Matrix, mesenchymalen Zellen, Blutgefäßen, Stammzellen und Immunzellen. Zwischen den Tumorzellen und den anderen Zelltypen findet mithilfe von Wachstumsfaktoren, Chemokinen, Zytokinen, Antikörpern und Metaboliten eine komplexe Interaktion statt. Die Tumorzellen sind in der Lage, umgebende Zellen zu aktivieren und zu rekrutieren. Diese beeinflussen wiederum den Phänotyp, das Wachstum und die Streuung des Tumors. Damit wird der Progress des Tumors vorangetrieben und gehemmt. Es bildet sich ein dynamisches, einzigartiges Tumormikromilieu (2, 46, 47). Binnewies *et al.* postulierten eine Einteilung der TIME in drei unterschiedliche Typen (48):

- I. *Infiltrated-excluded*: weist keine cytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) im Tumorzentrum auf. Tumor-assoziierte Makrophagen hemmen die Infiltration der CTL, weshalb die CTL vor allem an der Invasionsfront und in fibrotischen Nestern zu finden sind. Dieser Typ ist oft bei epithelialen Tumoren zu finden.
- II. *Infiltrated-inflamed*: weist stark aktivierte CTL auf, welche das *programmed cell death protein 1* (PD-1) exprimieren. Außerdem starke Expression seines, das Immunsystem hemmenden, Liganden (PD-L1) auf Tumorzellen und myeloiden Zellen. Manche Unterformen sind mit MSI assoziiert und weisen deshalb vermehrt Neoepitope auf.
- III. *Infiltrated-Tertiary-Lymphoid-Structures*: beschreibt eine Subklasse der *infiltrated-inflamed* mit besserer Prognose. An der Invasionsfront und im Stroma sind tertiäre-lymphoide Strukturen zu finden, welche strukturelle und zelluläre Ähnlichkeiten zu Lymphknoten aufweisen.

### 1.3.1 Immunsystem

Da die Therapie von malignen Tumoren in vielen Fällen noch nicht zufriedenstellend ist, rücken körpereigene immunologische Prozesse zur Tumorbekämpfung immer mehr in den Fokus aktueller Forschung. Schon lange vor Rudolf Virchow wurde die Ähnlichkeit zwischen Tumor und Entzündung gesehen. Er beschrieb jedoch zuerst Leukozyten in neoplastischem Gewebe und sah die Verbindung zwischen Kanzerogenese und chronischer Entzündung (49). Diese Beobachtung kann beim

Magenkarzinom vielfach bei einer Infektion mit *H. pylori* gemacht werden. Auch in Fällen, bei denen Entzündung nicht der eigentliche Auslöser ist, tragen onkogenetische Veränderungen zu einer lokalen entzündlichen Komponente im Tumor bei. Die Entzündung gilt inzwischen als eine der *Hallmarks of Cancer* (2) und ist essentieller Bestandteil des Tumormikroenvironments. Entzündungshemmende Medikamente, wie NSAR können der Entwicklung von Karzinomen entgegenwirken (43, 49). Mantovani *et al.* unterscheiden zwei Wege, die zu Rekrutierung von Immunzellen im Tumorgewebe führen. Im extrinsischen Signalweg liegt eine Entzündung oder Infektion vor und das Karzinomrisiko steigt aufgrund der entzündlichen Umgebung. Im intrinsischen Signalweg sind die genetischen Veränderungen der Tumorzellen, besonders die Aktivierung von Onkogenen, verantwortlich für die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren in den Tumorzellen. Diese Transkriptionsfaktoren fördern die Ausschüttung von Chemokinen, Zytokinen und anderen Gewebshormonen aus den Tumorzellen, was zu einer Rekrutierung von Leukozyten führt. In den rekrutierten Immunzellen, den Stromazellen und den Tumorzellen werden durch die Entzündungsmediatoren weitere Transkriptionsfaktoren aktiviert und dadurch weitere Entzündungsmediatoren ausgeschüttet, wodurch schließlich ein inflammatorisches Mikroenvironment geschaffen wird (50).

Gleichzeitig ist Entzündung auch wichtig für die Bekämpfung von Tumoren und deren Heilung. Immunzellen erkennen mittels Tumor-spezifischer Antigene neoplastische Zellen und eliminieren diese. Dies wird als Immunüberwachung bezeichnet (51).

### **1.3.2 Neutrophile Granulozyten**

Mit 50-70 % stellen die neutrophilen Granulozyten die Mehrheit der Leukozyten im Blut dar (52, 53). Die polymorphkernigen 10-12 µm großen kugeligen Zellen halten sich nur kurz im Blut auf. Sie enthalten kleine zytoplasmatische Granula und haben eine Lebensspanne von wenigen Tagen (54, 55). Sie entstehen beim Erwachsenen im Knochenmark in mehreren Schritten aus myeloischen Progenitorzellen und bei Tumorpatienten unter Umständen auch in der Milz (53, 55). Einem chemotaktischen Gradienten folgend sind sie schnell und in hoher Zahl bei mikrobiologischen Herden zu finden (55). Sie haben die Aufgabe Keime durch Phagozytose und zytotoxische

Substanzen unschädlich zu machen. Außerdem aktivieren und modulieren sie das Immunsystem mithilfe von Zytokinen, Chemokinen und angiogenen Faktoren (52).

Bei malignen Prozessen lassen sie sich häufig als Promyelozyten oder reife neutrophile Granulozyten vermehrt nachweisen. Gefunden im Einflussbereich des Tumors werden sie als tumor-assoziierte Neutrophile (TAN) bezeichnet. Vom Tumorgewebe sezerniertes Interleukin-8 sowie Wachstumshormone (G-CSF, GM-CSF), Chemokine (CXCL1, CXCL2) und Zytokine (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) induzieren die Freisetzung der Neutrophilen aus dem Knochenmark, ihre Migration in den Tumor und fördern ihre inflammatorische Aktivität (53). TAN unterscheiden sich von nativen Neutrophilen in verschiedener Hinsicht. Sie zeigen Veränderungen in der Organisation des Cytoskeletts und verlieren damit die Möglichkeit den Tumor zu verlassen. Außerdem sind sie langlebiger und eher in der Lage Antigene zu präsentieren (52).

Bereits eingetroffene TAN sezernieren verstärkt Chemoattraktanzien und autokrin wirkende Faktoren. Sie interagieren eng mit anderen Immunzellen, wie Makrophagen, dendritischen Zellen, natürlichen Killer-Zellen, Lymphozyten und mesenchymalen Stammzellen. Sie beeinflussen gegenseitig ihre Proliferation, ihren Aktivierungszustand und ihr Überleben (52, 54, 56).

### **1.3.2.1 Antitumorale N1-TAN vs. protumorale N2-TAN**

Neutrophile Granulozyten sind eine sehr heterogene Zellgruppe mit großer funktioneller Plastizität. Sie reagieren empfindlich auf das Mikromilieu, indem sie verschiedene Differenzierungs- und Aktivierungszustände annehmen. Es wird ein tumorsupprimierender N1-Phänotyp und ein tumorfördernder N2-Phänotyp postuliert (52, 56). Mitunter beeinflusst das Vorherrschen der Zytokine *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) (56) und Interferon- $\beta$  (IFN- $\beta$ ) die Polarisierung der TAN.

IFN- $\beta$  induziert die Differenzierung hin zum antitumoralen N1- Phänotyp und hindert die Differenzierung zum N2-Phänotyp (54). Das Fehlen von IFN- $\beta$  verringert die Apoptoseraten von TAN (57). Das immunosuppressive TGF- $\beta$  wiederum lässt die Mehrzahl der TAN den protumoralen N2-Phänotyp annehmen und unterdrückt den N1-Phänotypen (54, 56).

Die tumorsupprimierenden N1-TAN zeigen einen hypersegmentierten Kern (56) und exprimieren CD11b und Ly6G auf ihrer Oberfläche (54). N1-TAN schaden den

malignen Zellen direkt und hemmen ihr Wachstum. Dies geschieht durch reaktive Sauerstoffe, Proteasen und Perforine, welche die Tumorzellen bis zur Lyse schädigen (53), und auch durch Einleitung der Apoptose über Fas-Liganden oder Phagozytose. Primärtumoren sind von diesen zytotoxischen Effekten meist stärker betroffen als Metastasen. Die Metastasierung wiederum kann durch die Neutrophilen inhibiert werden (52). Auch schaden N1-TAN den malignen Zellen indirekt. Durch Zell-Zell-Kontakte, Ausschüttung von Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und andere Faktoren werden dendritische Zellen und T-Zellen rekrutiert und stimuliert. Diese Immunstimulation, besonders von zytotoxischen CD8<sup>+</sup>T-Zellen (53), fördert die Abstoßung des Tumors und ist wichtig für den Erfolg einer Immuntherapie (52). Außerdem verringern sie unter bestimmten Umständen die Angiogenese (54).

N2-TAN sind gekennzeichnet durch die Expression von CD11b, Gr-1, Ly6C und manchmal durch einen ringförmigen Nucleolus (54). N2-TAN fördern die Ausbreitung des Tumors (56). Ihre Ausschüttung von Matrixmetalloprotease 9 kann die Apoptose der Tumorzellen blockieren. Neutrophile Elastase erhöht die Proliferation, die Invasivität, die Aktivität von Onkogenen und die Metastasierung. Die Ansiedelung im fremden Gewebe wird ebenfalls erleichtert indem die neutrophilen Granulozyten das Endothel aktivieren, Matrix degenerierende Faktoren ausschütten und im Blut zirkulierende maligne Zellen mit Hilfe von dekondensierter DNA, sog. *neutrophil extracellular traps* (NETs), fangen. Zusätzlich fördern sie die Versorgung des Tumors durch die Ausschüttung von pro-angiogenen Faktoren (52, 53). Konträr zu den N1-TAN supprimieren N2-TAN außerdem das adaptive Immunsystem, mitunter durch Ausschüttung von Arginase (56). Sie begünstigen die Apoptose von CD8<sup>+</sup>T-Zellen und rekrutieren die, die Selbsttoleranz erhöhenden, CD4<sup>+</sup> regulatorischen T- Zellen (52, 53).

Auch ihre unreifen myeloiden Vorläuferzellen [*polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells* (PMN-MDSC) oder *granulocytic myeloid-derived suppressor cells* (G-MDSC)] werden in großer Zahl in Tumorgewebe, Blut, Knochenmark und Milz von Tumorpatienten gefunden. Sie supprimieren das adaptive Immunsystem und verheißen eine schlechtere Prognose (52, 53). Die Klassifikation von PMN-MDSC ist im Allgemeinen schwierig, da keine eindeutigen Marker sie von anderen neutrophilen Unterarten unterscheiden und selbst reife Neutrophile in manchen Publikationen zu

ihnen gezählt werden. Die Terminologie von polymorphkernigen tumor-assoziierten Zellen wird noch immer kontrovers diskutiert (53).

Im Tiermodell wurde nachgewiesen, dass TAN in frühen Karzinomen eine stärkere Zytotoxizität zeigen. Es wird postuliert, dass eine N1 zu N2 Progression stattfindet. Hierbei ist bisher unklar, ob dies aufgrund einer Veränderung im Mikroenvironment oder aufgrund einer veränderten Rekrutierung von zirkulierenden Neutrophilen stattfindet (53).

### **1.3.2.2 Zirkulierende Neutrophile**

Auch im Blut vieler Tumorpatienten finden sich vermehrt neutrophile Granulozyten (52, 53). Einen signifikanten prognostischen Marker bei vielen Tumorarten stellt die Neutrophilen/Lymphozyten-Ratio (NLR) dar. Hierbei werden Neutrophile und Lymphozyten aus dem Blut gewonnen und der Quotient aus der Gesamtzahl der neutrophilen Granulozyten, dividiert durch die Gesamtzahl der Lymphozyten, bestimmt. Eine hohe NLR bedeutet also eine Neutrophilie, eine Lymphopenie oder eine Mischung aus beidem und zeigt eine schlechtere Prognose. Ursächlich für die Neutrophilie bei Tumorprogression ist eine erhöhte Mobilisation von Neutrophilen aus Knochenmark und Milz, ausgelöst durch vermehrte Ausschüttung von Zytokinen, wie IL-8, G-CSF, PDGF und MIP1 (53). Neutrophilie korreliert mit einem höherem Risiko für tumorbedingte Thrombose, eventuell ausgelöst durch die NETs (53). Außerdem sind die Neutrophilen bei Tumorpatienten durch eine geringere Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies, verminderter spontaner Apoptose und veränderte Zytokinproduktion gekennzeichnet (53).

Aus dem Blut gewonnene neutrophile Granulozyten können in *high-density* Neutrophile (HDN) und *low-density* Neutrophile (LDN) eingeteilt werden. Im Laufe ihrer Reifung produzieren die Neutrophilen zytoplasmatische Granula, was zu einer höheren Zelldichte führt. Die meisten reifen Neutrophilen sind HDN. Sie haben einen segmentierten Kern, eine gute Phagozytosefähigkeit und zytotoxische Fähigkeiten gegenüber Tumorzellen. Auch sind sie in der Lage, durch Arginase, das adaptive Immunsystem zu supprimieren (53).

Die LDN werden beim Gesunden nur selten gefunden und ihr Anteil steigt während der Tumorprogression. Sie umfassen sowohl reife, segmentkernige als auch unreife

Neutrophile. Sie zeichnen sich durch eine geringere Dichte, erhöhte Lebensdauer, verminderte Phagozytosefähigkeit, verminderte Freisetzung von Sauerstoffradikalen und eine immunsuppressive Wirkung aus. Sie beeinträchtigen die Proliferation und Funktion der CD8<sup>+</sup> T-Zellen und sind beteiligt am medieren von akuten Entzündungen. Vermutlich sind sie gleichzusetzen mit den G-MDSC und unterliegen keiner terminalen Differenzierung (53). Im Tiermodell konnte nachgewiesen werden, dass ausdifferenzierte HDN in späten Tumorstadien zu LDN transformieren können. Zum Teil ist dieser Effekt auf durch den Tumor ausgeschüttetes TGF- $\beta$  zurückzuführen. Bei herbeigeführter Aktivierung geschieht dies durch Degranulation, beispielsweise von Myeloperoxidase- (MPO) und Gelatinase B- oder Arginase-Granula. Seltener erfolgt auch eine Reifung von LDN zu HDN (53).

### **1.3.2.3 TAN in menschlichen Tumoren**

Bei einem großen Teil der erforschten Tumorarten ist eine erhöhte Zahl von TAN assoziiert mit einem schlechteren klinischen Outcome. Besonders beim hepatozellulären Karzinom, intrahepatischen cholangiozellulären Karzinom, Kopf-Hals-Tumoren, nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom und Nierenzellkarzinom stellte sich heraus, dass vermehrte TAN im Tumorzentrum eine schlechte Prognose kennzeichnen (58). Kompartimenten außerhalb des Tumorzentrums wurde bislang wenig Beachtung geschenkt. Um die Rolle der TAN im Magenkarzinom zu beurteilen, fehlen bislang weitere Studien (58).

Caruso *et al.* beschrieb nicht-neoadjuvant behandelte, Hämatoxylin und Eosin (HE) gefärbte Magenkarzinome. Weibliche Patienten mit normalen oder vermehrten TAN im Tumorzentrum wiesen ein besseres tumorspezifisches Überleben auf als Patientinnen mit wenigen TAN. Männliche Patienten hingegen zeigten keine Assoziation von TAN mit dem Überleben (59). Auch in EBV<sup>+</sup> Magenkarzinomen konnten Abe *et al.* feststellen, dass vermehrte CD66b<sup>+</sup> TAN mit weniger Lymphknotenmetastasen assoziiert sind. Sie fanden außerdem in intestinalen Tumoren mehr TAN (25). Ähnliche Ergebnisse zeigten die Untersuchungen von Huang *et al.* (60) und Zhang *et al.* Außerdem profitieren Patienten mit adjuvanter 5-Fluoruracil basierter Chemotherapie stark von vermehrten CD66b<sup>+</sup> TAN (61).

In der Studie von Zhao *et al.* wiederum waren vermehrte intratumorale, CD15<sup>+</sup> TAN mit mehr Lymphknotenmetastasen und Fernmetastasen vergesellschaftet. Sie wurden

sogar als unabhängiger Prognosefaktor für ein schlechteres Gesamtüberleben postuliert (62). Li *et al.* und Zhu *et al.* konnten nachweisen, dass TAN auch im Magenkarzinom die Angiogenese fördern und eine schlechtere Prognose bedeuten (63, 64). Eine schlechtere Prognose beschrieben ebenfalls Hiramatsu *et al.* (65) und Wang *et al.* (66).

CD15<sup>+</sup> TAN haben eventuell einen schlechteren prognostischen Wert als mit CD66b identifizierte TAN, da CD15 neben Neutrophilen, Eosinophilen und Monozyten auch auf Tumorzellen exprimiert wird (67). Zudem erfasst es den Aktivierungsstatus der Neutrophilen nicht (58).

#### **1.3.2.4 Myeloperoxidase (MPO)**

Während der Granulozytenreifung im Knochenmark wird das Enzym Myeloperoxidase synthetisiert und in Granula gespeichert. Es ist mit 2 bis 5 % das am häufigsten vorkommende Protein in neutrophilen Granulozyten (68). Es ist eine der wirksamsten Waffen des neutrophilen Granulozyten zur Abwehr von Mikroorganismen (69). Auch in Monozyten und bestimmten Makrophagen kommt es in geringer Konzentration vor (70).

Eine hohe Konzentration von MPO in TAN spielt eine kritische Rolle in frühen Stadien der Tumorentwicklung. Es erlaubt Leukozyten und Makrophagen zu infiltrieren und moduliert so die Zusammensetzung der Immunzellen im Tumor (53).

#### **1.3.2.5 TAN in der Therapie**

Ob Neutrophile in menschlichen Tumoren effektiv therapeutisch manipuliert werden können, ist noch unklar. Ebenfalls fraglich ist, ob N1-TAN einfach einen höheren Aktivierungszustand aufweisen als N2-TAN und inwiefern eine Umwandlung initiiert werden kann (53).

Um den protumoralen Effekt abzumildern, könnte die Zahl der TAN gesenkt werden. Angiostatin beispielsweise inhibiert die Migration von Neutrophilen in den Tumor und verringert die Angiogenese (71). Auch könnten nur ihre protumoralen Funktionen ausgeschaltet werden. Die Blockade von neutrophiler Elastase wirkte sich beispielsweise positiv auf murine Lungentumoren aus und die Zerstörung der NETs durch DNase verringerte die Metastasierung (72).

Ob eine Verschiebung von protumoralen TAN hin zu antitumoralen TAN im Menschen möglich ist, wird diskutiert. In murinen Tumoren konnte eine Blockade von TGF- $\beta$ -Rezeptoren die Zahl der N1-TAN und zytotoxischen CD8<sup>+</sup>T-Zellen erhöhen und eine Immuntherapie augmentieren (56). Der Granulozytenkolonie stimulierende Faktor (G-CSF) kann eine Neutrophilie auslösen und die Progression einer chronischen zu einer akuten Entzündung mit antitumoralen Effekten fördern (73). Besonders die Kombination von G-CSF mit Bestrahlung könnte den antitumoralen N1 Phänotyp fördern (74).

PD-L1<sup>+</sup> Neutrophile unterstützten die Tumorprogression in Magenkarzinompatienten, indem sie das adaptive Immunsystem unterdrückten. Durch die Blockierung von PD-L1 auf den Neutrophilen konnte dies verhindert werden. Neutrophile sind zudem Effektorzellen von anderen Immuntherapien, konventioneller Chemotherapie und therapeutischen monoklonalen Antikörpern (53).

### 1.3.3 Immunsystem und Geschlecht

Das biologische Geschlecht eines Menschen ist definiert durch Geschlechtschromosomen, Geschlechtsorgane und Geschlechtshormone. Es ist zu trennen vom sozialen Geschlecht, welches durch Verhalten, Gesellschaft, Umgebung und Kultur geprägt wird. Sowohl biologisches, als auch soziales Geschlecht sind in der Lage das Immunsystem und den Gesundheitszustand eines Menschen zu beeinflussen (75–77).

Geschlechterspezifische Unterschiede werden in der Biomedizinischen Forschung oft nicht wahrgenommen. Was dazu führt, dass viele Studien ihre Ergebnisse nicht für beide Geschlechter getrennt untersuchen (78).

Sexueller Dimorphismus in der Immunantwort lässt sich unabhängig vom Alter finden. Manche Unterschiede können bereits ab Geburt beobachtet werden, andere tauchen erst nach der Pubertät auf (76). Männer und Jungen haben häufiger bakterielle, virale, Pilz- und parasitäre Infektionen. Infektionen verlaufen bei ihnen zudem oft schwerer und sie versterben eher an einer Sepsis (75, 76, 79). Verallgemeinert lässt sich sagen, dass Frauen eine verlässlichere Abwehr gegen Pathogene aufweisen. Gleichzeitig weisen sie eine verringerte Selbsttoleranz auf, was zur vermehrten Entwicklung von Autoimmunkrankheiten führt (77).

Frauen zeigen nach Stimulation mit Antigenen, beispielsweise durch Impfung oder Infektion, eine stärkere humorale und zelluläre Immunreaktion (80). Die Antigen-präsentierenden Zellen von Frauen präsentieren ihre Peptide effizienter als die der Männer. Weibliche Immunzellen exprimieren ein anderes Muster von Pathogenmuster-erkennenden Oberflächenproteinen als männliche. Frauen weisen außerdem bis zu zehnmal so viele dieser Mustererkennungsproteine auf ihren Zellen auf wie Männer (80). Neutrophile Granulozyten zeigen sogar geschlechtsspezifische Unterschiede im Aussehen (81). Auch ist die phagozytische Aktivität von weiblichen neutrophilen Granulozyten und Makrophagen höher und unempfindlicher gegenüber Anästhesie und Operationen (82).

Sowohl die Geschlechtschromosomen, als auch die Geschlechtshormone beeinflussen die Immunantwort (76). Das X-Chromosom beinhaltet die meisten für das Immunsystem wichtigen Gene (77, 83). Weibliche Zellen, inklusive der Immunzellen,

sind in der Lage, die Inaktivierung des zweiten X-Chromosoms partiell aufzuheben. So bilden sie ein heterogenes Mosaik mit mehr Variablen als die Männer (83–86).

Sexualhormone wiederum regulieren die Expression vieler Gene. Androgene wirken hierbei eher dämpfend auf die Immunreaktion. Sie verringern die Aktivität von natürlichen Killerzellen und die Expression von Mustererkennungspartikeln auf Makrophagen. Sie vermehren die Produktion von antiinflammatorischen Zytokinen (80). Verminderte Testosteronwerte sind mit vermehrten inflammatorischen Zytokinen, Antikörpertitern und natürlichen Killerzellen sowie verminderten regulatorischen T-Zellen assoziiert (76).

Weibliche Sexualhormone sind in ihrer Wirkung auf das Immunsystem komplex. Sie beeinflussen die Immunantwort abhängig von der Dosis und somit vom menstruellen Zyklus. Progesteron bindet an verschiedene Steroidrezeptoren und wirkt eher antiinflammatorisch. Östrogenrezeptoren finden sich auf den Immunzellen selbst, aber auch in den für ihre Reifung wichtigen Geweben, wie dem Knochenmark und den Stromazellen des Thymus (77, 87). Östrogene beeinflussen antigenpräsentierende Zellen in Funktion und Differenzierung. Sie verspäten die Apoptose neutrophiler Granulozyten und modulieren deren Chemotaxis und *Recruitment* (88). Niedrige Östrogenspiegel bewirken eine Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen und eine Aktivierung von T<sub>1</sub>-Helferzellen. Hohe Konzentrationen wiederum vermindern die Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen und vermehren T<sub>2</sub>-Helferzellen, regulatorische T-Zellen und Antikörperproduktion (80).

Geschlechtsspezifische Unterschiede betreffen auch die Immunüberwachung. Männer sind generell anfälliger für maligne Tumorerkrankungen als Frauen. Sie haben trotz geringerer Lebenserwartung eine größere Wahrscheinlichkeit, in ihrem Leben an Krebs zu erkranken. Zusätzlich ist ihre Prognose oft schlechter. Dies betrifft auch die frühkindlichen malignen Tumoren. Diese männliche Anfälligkeit kann nicht allein durch Unterschiede in der Exposition von Umgebungstoxinen und im Verhalten erklärt werden (77).

## 1.4 Fragestellung und Zielsetzung

Um weitere Erkenntnisse zum Microenvironment und den geschlechtsspezifischen Unterschieden im Magenkarzinom einer europäischen Kohorte zu erlangen, befasst sich die vorliegende Arbeit mit den folgenden Hypothesen:

- Tumor-assoziierte neutrophile Granulozyten (TAN) sind nicht Ausdruck einer von der Schleimhaut fortgeleiteten (phlegmonösen) Entzündung, sondern ein spezifisches Phänomen des Tumorummunmicroenvironments. Sie reichern sich in den verschiedenen Kompartimenten (peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumorzentrum und Invasionsfront) des Magenkarzinoms an.
- Die Zahl der TAN in den verschiedenen Kompartimenten des Magenkarzinoms korreliert mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika und der Patientenprognose.
- Die Zahl der TAN und ihr tumorbiologischer Effekt zeigen geschlechtsspezifische Unterschiede.

Um die Hypothesen zu prüfen wurden 432 therapienaive Primärtumore computergestützt betrachtet.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht (89, 90).

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Studiendesign und Ethikvotum**

Das Studiendesign orientierte sich an den Empfehlungen für prognostische Tumormarker-Studien (REMARK-Kriterien) (91). Ganzgewebeblöcke von Magenkarzinomen wurden mit Antikörpern gegen Myeloperoxidase gefärbt. Die Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven TAN in den Kompartimenten: peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumorzentrum und Invasionsfront, wurden ermittelt. Die Ergebnisse wurden mit klinisch-pathologischen Charakteristiken der Patienten und ihrem Überleben korreliert.

Diese Arbeit wurde von der Ethikkommission des Universitätsklinikums Kiel (Referenznummer D 468/17) genehmigt. Alle Patientendaten wurden nach Aufklärung und Zustimmung der Patienten nach Einschluss in die Studie pseudonymisiert. Sämtliche Materialien, Prozeduren und Daten wurden im Einklang mit der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki/Tokio von 1964/1975 und geltenden Sicherheitsstandards verarbeitet.

### **2.2 Untersuchtes Patientenkollektiv**

Untersucht wurde formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Probenmaterial aus dem Archiv des Instituts für Pathologie, des Universitätsklinikums Kiel, aus den Jahren 1997 bis 2009.

Eingeschlossen wurden histologisch gesicherte primäre Adenokarzinome des Magens und des gastroösophagealen Übergangs von kaukasischen Patienten nach totaler oder subtotaler Gastrektomie. Ausgeschlossen wurden Fälle mit anderen Tumorarten, die nicht Adenokarzinome sind, Fälle mit Patienten, die prä- oder perioperative Radio- oder Chemotherapie erhalten hatten und Fälle wo wichtige klinische Basisdaten (Geschlecht, Laurén Phänotyp, T-, N-, M-Kategorie oder UICC-Stadium) oder mehr als zwei der definierten Kompartimente (peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumorzentrum und Invasionsfront) im Probenmaterial gefehlt haben.

Die Überlebensdaten der Patienten wurden vom epidemiologischen Krebsregister des Landes Schleswig-Holstein bezogen und die Follow-Up-Daten von überlebenden

Patienten aus Krankenhaus- und Hausarztakten erhoben. Folgende Daten wurden außerdem aus dem elektronischem Archivsystem entnommen: Tumorlokalisation, Alter bei Diagnose, Geschlecht, Tumortyp, Differenzierungsgrad, Residualtumorstatus, Tumorgröße, Fernmetastasierung, Invasionstiefe, Zahl der resezierten Lymphknoten und Zahl der von Metastasen befallenen Lymphknoten. Sowie H. pylori Infektion, EBV-, HER2- (92, 93), MET- (94) und MSI-Status (95).

## 2.3 Erstellung und Vorbereitung der Schnittpräparate

Die in neutral gepufferten Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Tumorproben wurden zur Erstellung von Gewebeschnitten zunächst auf einer kalten Platte (COP 30, Medite GmbH, Burgdorf, DE) bei -15 °C für 15 Minuten gekühlt. Dann wurden mithilfe des Rotationsmikrotoms Leica RM2245 (Leica Biosystems, Nussloch, DE) 2 µm dicke Schnittpräparate erstellt. Die mit Xylol entparaffinierten, in absteigender Alkoholreihe rehydrierten und mit destilliertem Wasser gespülten Gewebsschnitte wurden mit Hämatoxylin und Eosin (Merck KGaA, Darmstadt, DE) gefärbt, histopathologisch begutachtet und anhand der Klassifikation nach Laurén (37) eingeteilt. Die pathologische Tumor- (T), Lymphknoten- (N) und Fernmetastasenklassifikation (M) jedes Falls wurde anhand der achten Ausgabe der *Union internationale contre le cancer* (UICC) definiert (41).

Für den immunhistochemischen Nachweis der Myeloperoxidase wurden gekühlte 2 µm dicke Schnittpräparate erstellt und in ein 54 °C warmes Paraffinstreckbad überführt (TFB 45, Medite GmbH, Burgdorf, DE). Anschließend wurden diese auf Objektträger (Leica BOND™ Plus Slides, Leica Biosystems, Nussbaum, DE) aufgezogen und über Nacht im Brutschrank (Memmert, DE) bei 54 °C getrocknet. Anschließend erfolgte die Färbung mithilfe eines vollautomatisierten Färbeautomaten (Leica BOND-MAX, Leica Biosystems, Nussbaum, DE) und dem dazugehörigen Peroxidase konjugiertem Polymersystem (Bond Polymer Refine Detection, Leica Biosystems, Newcastle, GB) nach Herstellerangaben. Zur Antigen-Demaskierung wurden die Präparate mit einer *Bond Epitope Retrieval Solution* (Leica Biosystems, Newcastle, GB) für 20 Minuten vorbehandelt und als Primärantikörper wurde ein polyklonaler Kaninchen Anti-Humane MPO Antikörper (6,6 g/L; Dako, Carpinteria, CA, USA), welcher mit dem *Bond Primary*

*Antibody Diluent* (Leica, Newcastle, GB) 1:2000 verdünnt wurde, aufgetragen. Als Negativkontrolle wurde der Primärantikörper weggelassen.

Die Schnittpräparate wurden schließlich mithilfe der *Promounter RCM 2000 Coverslipping Machine* (Medite GmbH, Burgdorf, DE) mit Deckgläsern versehen (Deckgläser, REF LD2450, 24 x 50 mm, Walter CMP GmbH, Kiel, DE).

## 2.4 Virtuelle Mikroskopie und Methodik

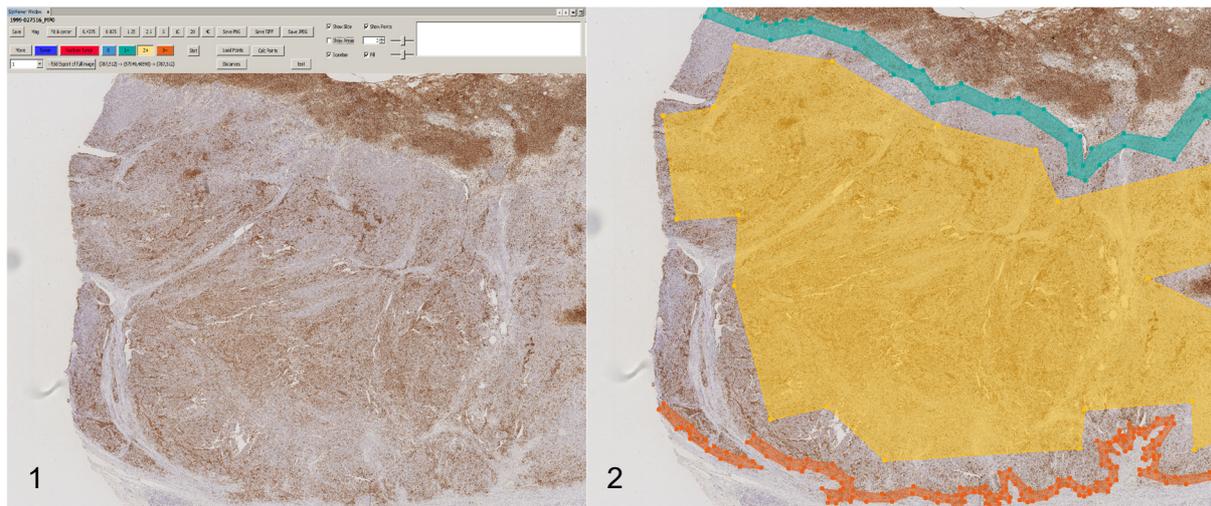
Die immunhistochemisch gefärbten Präparate wurden mithilfe des Leica SCN400 Objektträger-Scanner (Leica Biosystems, Nussloch, DE) mit maximaler (400-facher) Vergrößerung hochauflösend digitalisiert (Pixelabstand 0,25 µm) und im Leica SCN-Format aus der Scanner Software exportiert.

Die Daten wurden in das institutseigene Ansicht- und Zeichenprogramm VMP (auf Basis von NetBeans Platform 8.1, Oracle Corporation, Redwood City, USA) geladen. VMP kann die Präparate im SCN-Format darstellen. Es ermöglicht dem Betrachter, das Präparat zu bewegen, zu zoomen, und es zeigt einen Messbalken an. Außerdem hat es eine Polygon-Flächen Zeichenfunktion.

Mithilfe dieses Zeichenprogrammes wurden in jedem Präparat vier tumorrelevante Kompartimente in farbig unterschiedlichen Polygonen manuell markiert: die peritumorale Mucosa, die Tumoroberfläche, das Tumorzentrum und die Invasionsfront (Abbildung 2.1).

Hierbei wurde beim Kompartiment der peritumoralen Mucosa der gesamte Bereich der tumorfreien Schleimhaut von Muscularis mucosae bis unter die Muzinschicht eingeschlossen. Bei der Tumoroberfläche wurde unter Vermeidung der nekrotischen Anteile der luminalen Tumoroberfläche bis zu 500 µm tief in den Tumor markiert und bei dem Kompartiment Tumorzentrum wurde das Stroma und die Epithelzellen des Tumors möglichst großflächig umfahren. Die markierte Invasionsfront durfte bis zu 250 µm breit sein und auch geringe Teile des umliegenden Bindegewebes umfassen.

Bei allen markierten Flächen sollten Zell- und Bindegewebe freie Flächen (z.B. Rissartefakte vom Erstellen der Schnittpräparate), mit nekrotischem Detritus gefüllte oder leere neoplastische Drüsenlumen, die einen größeren Durchmesser als 200 µm hatten, und nekrotische Areale nicht eingeschlossen werden.



**Abbildung 2.1** Darstellung der Benutzeroberfläche der VMP-Software (1) und der Übersicht eines Präparates (2) mit drei der markierten Kompartiment-Flächen: Tumoroberfläche (grün), Tumorzentrum (gelb), Invasionsfront (orange).

Zur objektiven Identifikation der MPO gefärbten Zellen erfolgte bei 200-facher Vergrößerung eine Analyse mit der automatischen Bilderkennungssoftware *Definiens Tissue Studio*® Version 3.6.1 (Definiens, München, DE). Die Software ermöglicht es, durch Einstellung von Größen- und Intensitätsparametern die gewünschte Zellart zu klassifizieren. Zunächst wurde bei der *Tissue Background Separation* das Gewebe vom Hintergrund unterschieden (*Auto Threshold; Multiple Tissue Pieces; 10000 µm<sup>2</sup> Minimum Tissue Size*). Es wurden Zellkerne detektiert (*Nucleus Detection: 0,1 Hematoxilin Threshold; 50 µm<sup>2</sup> Typical Nucleus Size*) und virtuelle Zellgrenzen ausgehend vom Zellkern konstruiert (*Cell Simulation: Simulation Mode = Grow from Nuclei; 1 µm Maximum Cell Growth*). Anschließend wurde die Intensität des braunen Chromogens (*General Settings: Stain Combination = ICH brown Chromogene; ICH Marker = Cytoplasm*) über dem Zellkern und in den virtuellen Zellgrenzen in Bezug zum Grenzwert gesetzt und abschließend als TAN klassifiziert (*Cell Classification: Selected Feature = ICH Marker Intensity; Measurement in = Cell; Threshold none/low = 0,5*). Die erfolgte Analyse wurde in CSV-Dateien exportiert.

Im Institut für Pathologie wurde ein Konvertierungsprogramm erstellt, um aus den CSV-Dateien die Koordinaten der identifizierten Zellen zu extrahieren. Die Textdatei wird dabei in eine TAN-Koordinatenliste, bei der das Koordinatensystem des SCN-Präparates Anwendung findet, umgewandelt und gespeichert. Aus den Flächeninhalten der vier markierten Kompartimentarealen und den darin identifizierten und quantifizierten TAN wurden die TAN-Anzahldichten (TAN/mm<sup>2</sup>) berechnet.

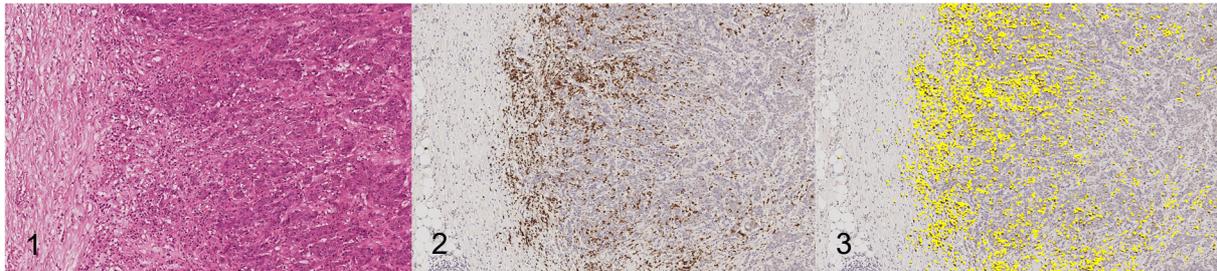
## 2.5 Statistische Auswertung

Die statistischen Auswertungen wurden mithilfe von SPSS, Version 24.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) und Microsoft Excel Version 2007 (Microsoft, Redmont, WA, USA) erstellt. Im ersten Teil der Untersuchung wurden die Rohwerte mithilfe des Wilcoxon-Vorzeichen-Rangtests (gepaarte Stichproben) und des Wilcoxon-Rangsummentests (unabhängige Stichproben) analysiert. Für den zweiten Teil wurden die Fälle am Median dichotomisiert und in Quartile ( $Q_1$ ,  $Q_2$ ,  $Q_3$  und  $Q_4$ ) eingeteilt. Die Einteilung erfolgte, indem für jedes Kompartiment einzeln entsprechend seiner TAN-Anzahldichte vier gleich große Gruppen erstellt wurden. Die drei Quantilengrenzen lassen sich in Tabelle 3.1 ablesen. Außerdem wurden zur näheren Betrachtung die Quartile in erniedrigte TAN ( $Q_1$ ) und erhöhte TAN ( $Q_{234}$ ) eingeteilt. Zudem wurde die Kohorte anhand ihres Geschlechts separiert. Die Testung auf Zusammenhänge erfolgte mithilfe des exakten Tests nach Fischer. Für ordinale Variablen wurde Kendalls Tau verwendet. p-Werte  $\leq 0,05$  wurden als signifikant gewertet.

Die Abhängigkeit zwischen einem Parameter und dem allgemeinen oder tumorspezifischen Überleben wurden mithilfe der Kaplan-Meier Methode abgebildet und mit Hilfe des Logrank-Tests auf signifikante Unterschiede hin überprüft. Zusätzlich wurde eine multivariate Analyse der Überlebensdaten durch eine Cox'sche Regressionsanalyse erstellt, bei der alle  $p \leq 0,10$  in der univariaten Analyse berücksichtigt wurden. Zur Kontrolle der Alphafehler-Kumulierung bei multiplen Vergleichen wurde die Simes (Benjamini-Hochberg)-Prozedur (96, 97) durchgeführt.

### 3 Ergebnisse

Myeloperoxidase positive neutrophile Granulozyten wurden in der peritumoralen nichtneoplastischen Mucosa, an der Tumoroberfläche, im Tumorzentrum und an der Invasionsfront nachgewiesen. Die Färbeartefakte konnten beim Markieren der betrachteten Kompartimente gut abgegrenzt werden. Die anschließende Identifikation der TAN durch Definiens® war sehr zufriedenstellend (Abbildung 3.1).



**Abbildung 3.1** Bilder einer beispielhaften Invasionsfront in Hämatoxylin-Eosin-Färbung (1) und Myeloperoxidase-Immunfärbung (2,3). In (3) wurde jeder von Definiens Tissue Studio® erkannte Myeloperoxidase positive neutrophile Granulozyt mit einem gelben Punkt markiert. Originalvergrößerung 400-fach.

Die Einschlusskriterien wurden von 432 Fällen erfüllt. Das mediane Alter zum Diagnosezeitpunkt lag bei 68 Jahren, der jüngste Patient war 28 und der älteste 92 Jahre alt. 270 (62,5 %) der Patienten waren männlich, 162 (37,5 %) weiblich. Gemäß der Klassifikation nach Laurén litten 227 Patienten an einem Magenkarzinom des intestinalen und 134 des diffusen Typs. 29 waren Mischtypen und 42 blieben unklassifiziert. Informationen zum allgemeinen Überleben lagen bei 420 (97,2 %) Patienten vor und Informationen zum tumorspezifischen Überleben bei 392 (90,7 %). 269 (62,3 %) Patienten starben während der Nachbeobachtung an ihrem Magenkarzinom. Das mediane allgemeine Überleben betrug  $14,9 \pm 1,1$  Monate und das mediane tumorspezifische Überleben lag bei  $16,7 \pm 1,5$  Monaten (siehe Tabelle 7.6 im Anhang).

### 3.1 Rohwertbetrachtung

Mucosa					
TAN-Anzahldichte [n/mm <sup>2</sup> ]	n	25 %-P.	Median	75 %-P.	Spannweite
Gesamt	246	24,4	<b>57,9</b>	119,7	2,0 - 2022,4
Intestinal	117	27,0	<b>58,4</b>	109,3	2,0 - 809,4
Diffus	84	22,4	<b>48,8</b>	115,0	2,1 - 2022,4
Mischtyp	17	15,9	<b>58,5</b>	133,1	7,3 - 209,7
Unklassifiziert	24	43,0	<b>77,1</b>	151,5	7,1 - 326,4
Frauen Gesamt	101	22,1	<b>54,7</b>	100,8	2,0 - 2022,4
Männer Gesamt	141	27,5	<b>58,4</b>	123,2	3,2 - 608,7

Tumoroberfläche					
TAN-Anzahldichte [n/mm <sup>2</sup> ]	n	25 %-P.	Median	75 %-P.	Spannweite
Gesamt	347	487,4	<b>872,6</b>	1429,9	5,8 - 4127,0
Intestinal	189	488,0	<b>842,2</b>	1340,0	65,0 - 3680,1
Diffus	98	390,1	<b>975,2</b>	1506,1	5,8 - 3137,9
Mischtyp	24	549,2	<b>1062,4</b>	2127,6	180,4 - 2434,4
Unklassifiziert	31	606,5	<b>817,4</b>	1200,4	65,1 - 4127,0
Frauen Gesamt	126	537,2	<b>1047,4</b>	1498,7	9,7 - 3137,9
Männer Gesamt	216	481,7	<b>821,2</b>	1334,9	5,8 - 4127,0

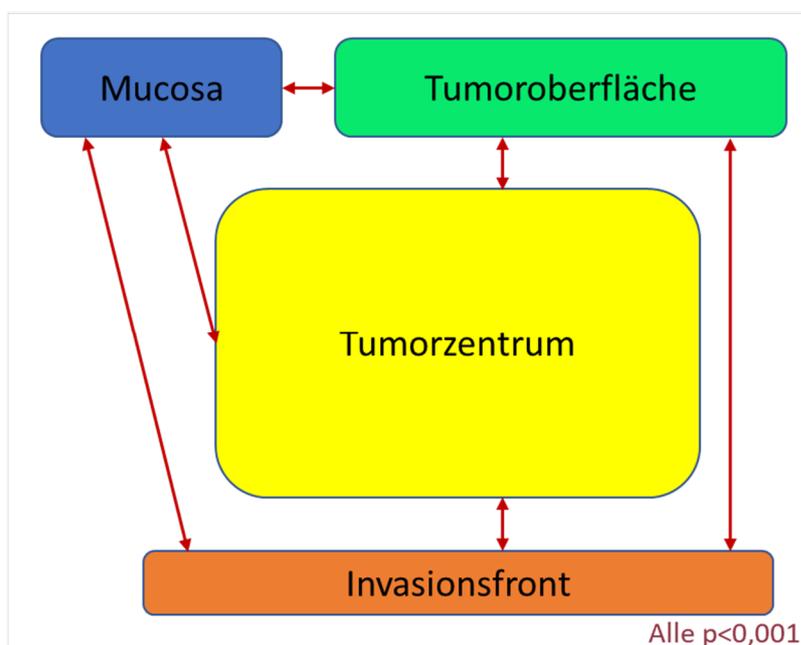
Tumorzentrum					
TAN-Anzahldichte [n/mm <sup>2</sup> ]	n	25 %-P.	Median	75 %-P.	Spannweite
Gesamt	432	52,9	<b>130,5</b>	410,3	3,0 - 3797,7
Intestinal	222	65,9	<b>166,5</b>	473,5	3,3 - 3797,7
Diffus	132	31,7	<b>80,2</b>	284,2	3,0 - 2510,6
Mischtyp	29	50,2	<b>130,0</b>	354,3	12,9 - 1150,3
Unklassifiziert	42	66,9	<b>171,3</b>	510,0	6,3 - 3746,8
Frauen Gesamt	160	43,8	<b>130,5</b>	429,4	4,3 - 3797,7
Männer Gesamt	265	56,9	<b>130,0</b>	381,9	3,0 - 3071,1

Invasionsfront					
TAN-Anzahldichte [n/mm <sup>2</sup> ]	n	25 %-P.	Median	75 %-P.	Spannweite
Gesamt	369	74,0	<b>227,4</b>	735,9	0 - 6711,0
Intestinal	205	111,8	<b>298,7</b>	807,9	0 - 6711,0
Diffus	91	24,0	<b>65,2</b>	376,1	0 - 4599,0
Mischtyp	26	59,4	<b>225,6</b>	620,2	15,1 - 2817,3
Unklassifiziert	41	167,7	<b>366,5</b>	1558,6	23,8 - 5089,8
Frauen Gesamt	128	52,7	<b>161,5</b>	717,9	0 - 6711,0
Männer Gesamt	235	87,9	<b>267,7</b>	770,0	0 - 5089,8

**Tabelle 3.1** Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in vier verschiedenen Kompartimenten des therapienaiven Magenkarzinoms. P.= Quantilengrenze.

### 3.1.1 TAN-Anzahldichten in den Tumorkompartimenten

Zuerst wurden die Rohwerte in den vier verschiedenen Kompartimenten (peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumorzentrum und Invasionsfront) betrachtet. In jedem der Kompartimente ließen sich grundsätzlich TAN nachweisen. Die TAN-Anzahldichte ( $n/mm^2$ ) der einzelnen Kompartimente war innerhalb eines Präparats hochsignifikant verschieden (jeweils  $p < 0,001$ ; Tabelle 3.1 und Abbildung 3.2). Der niedrigste Median betrug 57,9 TAN pro Quadratmillimeter in der peritumoralen Mucosa, der höchste Median 872,6/ $mm^2$  an der Tumoroberfläche. Er betrug 130,5/ $mm^2$  im Tumorzentrum und 227,4/ $mm^2$  an der Invasionsfront (Tabelle 3.1).



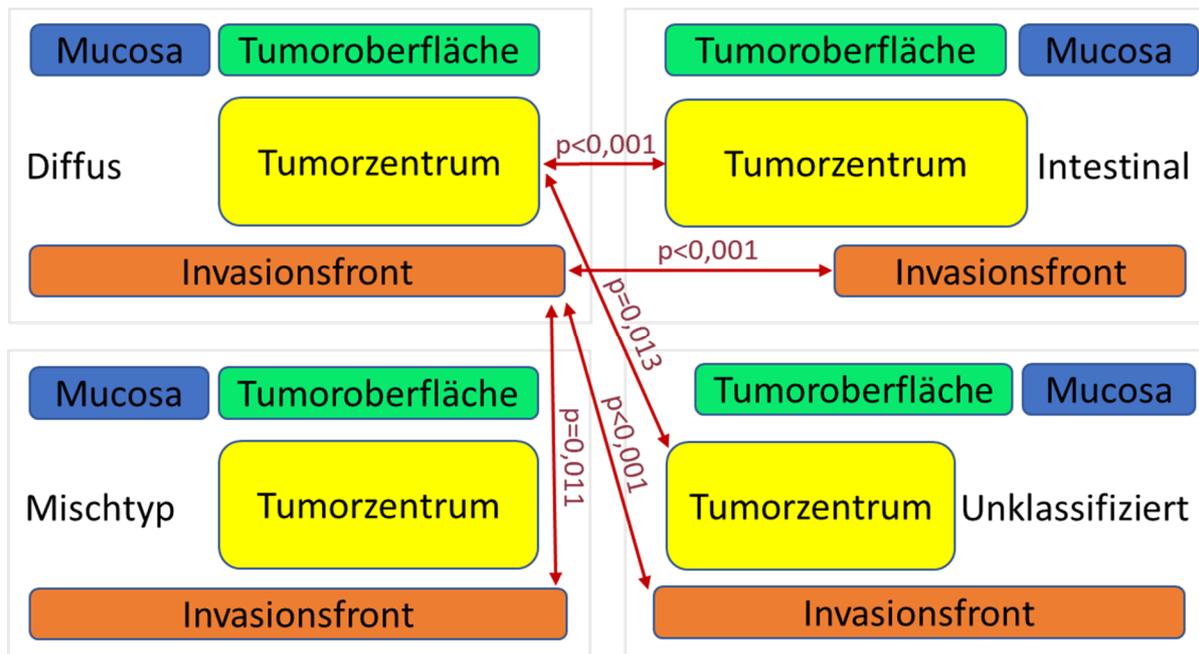
**Abbildung 3.2** Darstellung der Unabhängigkeiten der ANZAHLDICHEN der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in den Kompartimenten innerhalb eines Präparats. Alle Unabhängigkeiten sind durch Pfeile ausgedrückt.  $p$  = Signifikanzwert.

### 3.1.2 Tan-Anzahldichten in den Tumor Phänotypen

Je nach Phänotyp des Tumors variierten die TAN-Anzahldichten zwischen den unterschiedlichen Kompartimenten (Tabelle 3.1 und Abbildung 3.3).

Beim Vergleich innerhalb eines Kompartiments zwischen den verschiedenen Laurén Phänotypen zeigte sich, dass die TAN-Anzahldichten sich zwischen diffusen und nicht-diffusen Tumortypen im Tumorzentrum ( $p < 0,001$ ) und in der Invasionsfront ( $p < 0,001$ ) signifikant unterschieden. Im Tumorzentrum weichen die TAN-Anzahldichten beim intestinalen Typ ( $p < 0,001$ ) und beim unklassifizierten Typ ( $p = 0,013$ ) signifikant von denen im diffusen Typ ab. Die Zahl der TAN pro Quadratmillimeter im Tumorzentrum ist dabei im Median beim intestinalen Typ und beim unklassifizierten Typ mehr als doppelt so hoch wie beim diffusen Typ. In der Invasionsfront zeigten die Tumoren vom

intestinalen Typ ( $p < 0,001$ ), unklassifizierten Typ ( $p < 0,001$ ) und Mischtypen ( $p = 0,011$ ) ein Vielfaches an TAN pro Quadratmillimeter wie der diffuse Typ.



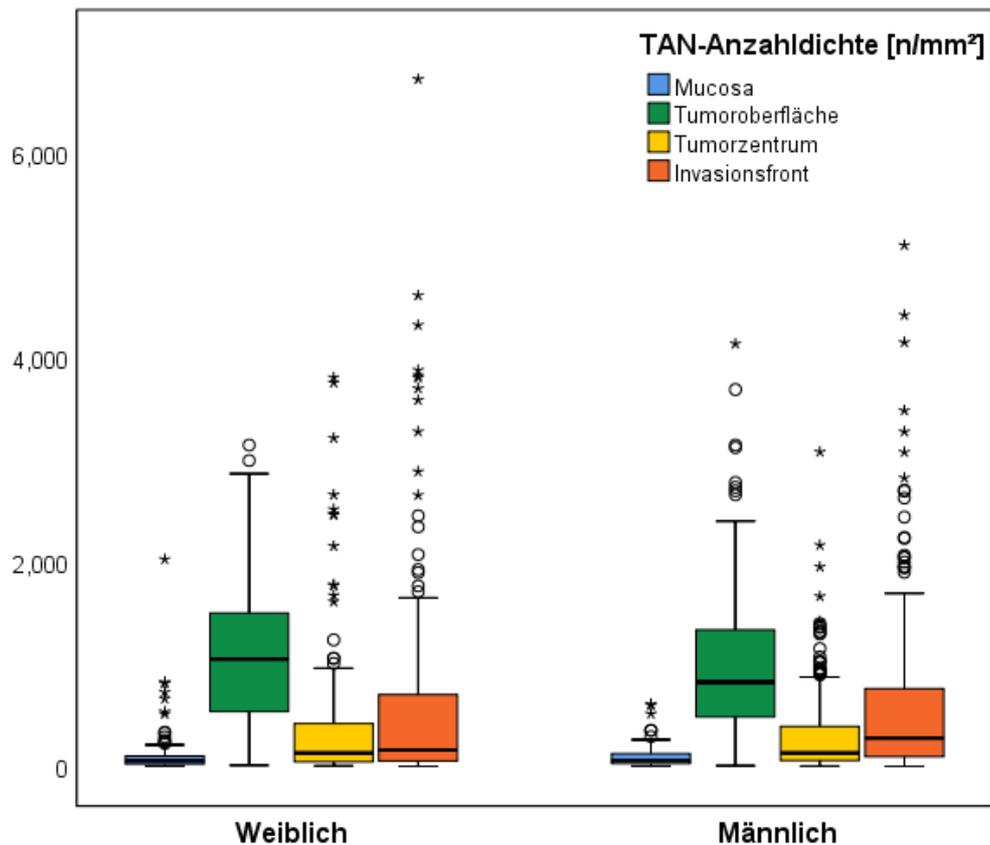
**Abbildung 3.3** Darstellung der Unabhängigkeiten der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten innerhalb eines Kompartiments zwischen den Laurén Phänotypen. Alle Unabhängigkeiten sind durch Pfeile ausgedrückt.  $p$  = Signifikanzwert.

In der peritumorale Mucosa und der Tumoroberfläche konnte in keinem der Phänotypen ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

### 3.1.3 TAN-Anzahldichten nach Geschlecht

Bei der Betrachtung der Rohwerte der TAN-Anzahldichten für die Geschlechter getrennt, konnten erneut signifikante Unterschiede in den einzelnen Kompartimenten innerhalb eines Präparats festgestellt werden (alle  $p < 0,001$ ).

Die TAN-Anzahldichten der einzelnen Kompartimente unterschied sich zwischen den Geschlechtern in keinem Kompartiment signifikant (Abbildung 3.4). Auch wenn die Zunahme der TAN-Anzahldichten zwischen Tumor und Invasionsfront bei den Männern (130,0 vs. 267,7 TAN/mm<sup>2</sup>) deutlich größer erschien als bei den Frauen (130,5 vs. 161,5 TAN/mm<sup>2</sup>).



**Abbildung 3.4** Boxplots mit den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten aufgeteilt nach dem Geschlecht in den verschiedenen Kompartimenten: peritumorale Mucosa (blau), Tumoroberfläche (grün), Tumorzentrum (gelb) und Invasionsfront (orange) (modifiziert nach Clausen et al. (89)).

## 3.2 Klinisch-pathologische Korrelationen

Um die tumorbiologische Bedeutung der TAN in den einzelnen Kompartimenten herauszuarbeiten, wurden die TAN-Anzahldichten in unterschiedliche Quantile eingeteilt und mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika korreliert.

### 3.2.1 Teilen am Median

Zunächst wurden die TAN-Anzahldichten am Median geteilt und dabei in wenig-TAN und viele-TAN eingeteilt.

Es ergab sich nach der Korrektur bei multiplen Tests ein signifikanter Zusammenhang zwischen der TAN-Anzahldichte in der Invasionsfront mit dem Laurén Phänotyp und dem MSI-Status (beide  $p < 0,001$ ; siehe Tabelle 7.1 im Anhang).

### 3.2.2 Teilen in Quartile

Um der großen Streuung von TAN-Anzahldichten im Magenkarzinom (0 - 6711.0 TAN/mm<sup>2</sup>) gerecht zu werden, wurden diese daraufhin in vier gleich große Quantile (Q<sub>1</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>) unterteilt. Hier zeigte sich ein nach der Korrektur bei multiplen Tests ein signifikanter Zusammenhang der TAN-Anzahldichten: in der Mucosa mit der Infektion mit *H. pylori* (p<0,001), in der Tumoroberfläche mit dem Alter bei Diagnosestellung (p=0,002), im Tumorzentrum mit dem Grading (p=0,001), in der Invasionsfront mit dem Laurén Phänotyp und dem MSI-Status (beide p<0,001; siehe Tabelle 7.2 und 7.3 im Anhang).

### 3.2.3 Q<sub>1</sub> vs. Q<sub>234</sub>

Um einen nahezu physiologischen *cut-off* zu ermitteln, wurden die TAN-Anzahldichten am 0,25-Quantil getrennt (Tabelle 3.1). So entstand eine Dichotomisierung zwischen dem ersten Quartil (Q<sub>1</sub>) und den restlichen drei Quantilen (Q<sub>234</sub>).

Die Dichotomisierung zeigte, dass die TAN-Anzahldichte im Tumorzentrum mit dem Laurén Phänotyp (signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests), der T-Kategorie, dem Grading (signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests) und dem EBV-, MSI- und HER2-Status korrelierte.

In der Invasionsfront korrelierten TAN-Anzahldichten mit dem Geschlecht, Laurén Phänotyp (signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests), der T-Kategorie, Grading, dem EBV-, MSI- (signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests) und HER2-Status (siehe Tabelle 3.2).

	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	Gesamt / Fehlend		Mucosa				Tumeroberfläche				Tumorzentrum				Invasionsfront			
			n	(%)	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>				
			n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)				
<b>Geschlecht</b>			432/0		246		0,296	347		0,700	432		0,066	369		0,016				
Weiblich			162 (37,5)	29 (28,4)	73 (71,6)	30 (23,6)	97 (76,4)	49 (30,2)	113 (69,8)	42 (32,6)	87 (67,4)									
Männlich			270 (62,5)	32 (22,2)	112 (77,8)	57 (25,9)	163 (74,1)	59 (21,9)	211 (78,1)	50 (20,8)	190 (79,2)									
<b>Altersgruppe</b>			432/0		246		0,883	347		0,035	432		0,657	369		0,905				
< 68 Jahre			215 (49,8)	31 (24,2)	97 (75,8)	51 (30,4)	117 (69,6)	56 (26,0)	159 (74,0)	46 (25,3)	136 (74,7)									
≥ 68 Jahre			217 (50,2)	30 (25,4)	88 (74,6)	36 (20,1)	143 (79,9)	52 (24,0)	165 (76,0)	46 (24,6)	141 (75,4)									
<b>Lokalisation</b>			429/3		244		1,0	344		1,0	429		0,812	367		0,076				
Proximaler Magen			139 (32,4)	19 (25,3)	56 (74,7)	29 (25,4)	85 (74,6)	36 (25,9)	103 (74,1)	24 (19,4)	100 (80,6)									
Distaler Magen			290 (67,6)	42 (24,9)	127 (75,1)	58 (25,2)	172 (74,8)	71 (24,5)	219 (75,5)	68 (28,0)	175 (72,0)									
<b>Laurén Typ</b>			432/0		246		0,430	347		0,718	432		<0,001*	369		<0,001*				
Intestinal			227 (52,5)	27 (22,5)	93 (77,5)	48 (24,9)	145 (75,1)	40 (17,6)	187 (82,4)	32 (15,2)	178 (84,8)									
Diffus			134 (31,0)	24 (28,2)	61 (71,8)	28 (28,3)	71 (71,7)	53 (39,6)	81 (60,4)	49 (53,3)	43 (46,7)									
Mischtyp			29 (6,7)	6 (35,3)	11 (64,7)	4 (16,7)	20 (83,3)	7 (24,1)	22 (75,9)	7 (26,9)	19 (73,1)									
Unklassifiziert			42 (9,7)	4 (16,7)	20 (83,3)	7 (22,6)	24 (77,4)	8 (19,0)	34 (81,0)	4 (9,8)	37 (90,2)									
<b>T-Kategorie</b>			432/0		246		0,055	347		0,042	432		0,049	369		0,016				
T1a/b			51 (11,8)	6 (15,8)	32 (84,2)	9 (20,9)	34 (79,1)	7 (13,7)	44 (86,3)	8 (16,0)	42 (84,0)									
T2			52 (12,0)	9 (25,7)	26 (74,3)	10 (20,8)	38 (79,2)	11 (21,2)	41 (78,8)	8 (16,0)	42 (84,0)									
T3			175 (40,5)	20 (21,3)	74 (78,7)	31 (21,7)	112 (78,3)	46 (26,3)	129 (73,7)	40 (26,5)	111 (73,5)									
T4a/b			154 (35,6)	26 (32,9)	53 (67,1)	37 (32,7)	76 (67,3)	44 (28,6)	110 (71,4)	36 (30,5)	82 (69,5)									
<b>N-Kategorie</b>			432/0		246		0,018	347		0,326	432		0,115	369		0,808				
N0			122 (28,2)	15 (19,0)	64 (81,0)	22 (21,8)	79 (78,2)	24 (19,7)	98 (80,3)	24 (21,1)	90 (78,9)									
N1			62 (14,4)	9 (22,0)	32 (78,0)	14 (28,0)	36 (72,0)	17 (27,4)	45 (72,6)	15 (30,6)	34 (69,4)									
N2			76 (17,6)	7 (16,7)	35 (83,3)	12 (21,1)	45 (78,9)	18 (23,7)	58 (76,3)	20 (31,3)	44 (68,8)									
N3a/b			172 (39,8)	30 (35,7)	54 (64,3)	39 (28,1)	100 (71,9)	49 (28,5)	123 (71,5)	33 (23,2)	109 (76,8)									

Tabelle 3.2 - Teil 1/3

			Gesamt / Fehlend		Mucosa				Tumeroberfläche				Tumorzentrum				Invasionsfront			
			Q <sub>1</sub>		Q <sub>234</sub>		Q <sub>1</sub>		Q <sub>234</sub>		Q <sub>1</sub>		Q <sub>234</sub>		Q <sub>1</sub>		Q <sub>234</sub>			
			n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)		
<b>M-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432/0		246		0,701		347		0,742		432		0,481		369		0,330	
M0			350	(81,0)	49	(24,3)	153	(75,7)	71	(24,7)	217	(75,3)	85	(24,3)	265	(75,7)	74	(23,9)	235	(76,1)
M1			82	(19,0)	12	(27,3)	32	(72,7)	16	(27,1)	43	(72,9)	23	(28,0)	59	(72,0)	18	(30,0)	42	(70,0)
<b>UICC-Stadium</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	432/0		246		0,217		347		0,310		432		0,094		369		0,151	
IA/B			73	(16,9)	10	(19,2)	42	(80,8)	13	(20,6)	50	(79,4)	12	(16,4)	61	(83,6)	13	(18,3)	58	(81,7)
IIA/B			94	(21,8)	13	(22,0)	46	(78,0)	18	(23,4)	59	(76,6)	23	(24,5)	71	(75,5)	21	(25,3)	62	(74,7)
IIIA/B/C			183	(42,4)	26	(28,6)	65	(71,4)	40	(27,0)	108	(73,0)	50	(27,3)	133	(72,7)	40	(25,8)	115	(74,2)
IV			82	(19,0)	12	(27,3)	32	(72,7)	16	(27,1)	43	(72,9)	23	(28,0)	59	(72,0)	18	(30,0)	42	(70,0)
<b>LN-Ratiogruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432/0		246		0,011		347		0,175		432		0,148		369		1,0	
<0,189			212	(49,1)	25	(18,2)	112	(81,8)	38	(21,8)	136	(78,2)	46	(21,7)	166	(78,3)	46	(24,7)	140	(75,3)
≥0,189			220	(50,9)	36	(33,0)	73	(67,0)	49	(28,3)	124	(71,7)	62	(28,2)	158	(71,8)	46	(25,1)	137	(74,9)
<b>L-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	415/17		237		0,098		333		0,527		415		0,654		357		0,903	
L0			200	(48,2)	25	(20,2)	99	(79,8)	37	(23,1)	123	(76,9)	49	(24,5)	151	(75,5)	43	(24,6)	132	(75,4)
L1			215	(51,8)	34	(30,1)	79	(69,9)	46	(26,6)	127	(73,4)	57	(26,5)	158	(73,5)	46	(25,3)	136	(74,7)
<b>V-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	414/18		236		0,300		331		0,538		414		0,719		357		1,0	
V0			368	(88,9)	56	(26,2)	158	(73,8)	71	(24,0)	225	(76,0)	95	(25,8)	273	(74,2)	80	(25,2)	237	(74,8)
V1			46	(11,1)	3	(13,6)	19	(86,4)	10	(28,6)	25	(71,4)	10	(21,7)	36	(78,3)	10	(25,0)	30	(75,0)
<b>Grading</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432/0		246		0,299		347		0,778		432		0,001*		369		0,010	
G1/2			102	(23,6)	11	(19,3)	46	(80,7)	23	(26,1)	65	(73,9)	13	(12,7)	89	(87,3)	15	(15,2)	84	(84,8)
G3/G4			330	(76,4)	50	(26,5)	139	(73,5)	64	(24,7)	195	(75,3)	95	(28,8)	235	(71,2)	77	(28,5)	193	(71,5)
<b>Resektionsstatus</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	428/4		243		0,165		343		0,692		428		0,609		366		0,574	
R0			376	(87,9)	50	(23,3)	165	(76,7)	78	(25,6)	227	(74,4)	95	(25,3)	281	(74,7)	80	(24,7)	244	(75,3)
R1/R2			52	(12,1)	10	(35,7)	18	(64,3)	8	(21,1)	30	(78,9)	11	(21,2)	41	(78,8)	12	(28,6)	30	(71,4)

Tabelle 3.2 - Teil 2/3

			Gesamt / Fehlend		Mucosa				Tumoroberfläche				Tumorzentrum				Invasionsfront			
			n (%)		Q <sub>1</sub>		Q <sub>234</sub>		Q <sub>1</sub>		Q <sub>234</sub>		Q <sub>1</sub>		Q <sub>234</sub>		Q <sub>1</sub>		Q <sub>234</sub>	
			n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<b>H. pylori</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	367/65		222		0,314		294		0,598		367		0,105		320		0,731	
Negativ			309	(84,2)	48	(26,2)	135	(73,8)	56	(23,2)	185	(76,8)	86	(27,8)	223	(72,2)	68	(25,6)	198	(74,4)
Positiv			58	(15,8)	7	(17,9)	32	(82,1)	14	(26,4)	39	(73,6)	10	(17,2)	48	(82,8)	12	(22,2)	42	(77,8)
<b>EBV Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	421/11		239		0,526		340		0,552		421		0,034		358		0,015	
Negativ			401	(95,2)	58	(25,7)	168	(74,3)	78	(24,1)	246	(75,9)	103	(25,7)	298	(74,3)	89	(26,0)	253	(74,0)
Positiv			20	(4,8)	2	(15,4)	11	(84,6)	5	(31,3)	11	(68,8)	1	(5,0)	19	(95,0)	0	(0,0)	16	(100,0)
<b>MSI-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	420/12		238		0,008		341		0,813		420		0,034		358		0,002*	
MSS			388	(92,4)	60	(27,3)	160	(72,7)	77	(24,4)	238	(75,6)	101	(26,0)	287	(74,0)	88	(26,9)	239	(73,1)
MSI			32	(7,6)	0	(0,0)	18	(100,0)	7	(26,9)	19	(73,1)	3	(9,4)	29	(90,6)	1	(3,2)	30	(96,8)
<b>HER2-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	405/27		228		0,789		324		0,086		405		0,044		345		0,006	
Negativ			369	(91,1)	51	(24,5)	157	(75,5)	68	(23,3)	224	(76,7)	98	(26,6)	271	(73,4)	85	(27,3)	226	(72,7)
Positiv			36	(8,9)	4	(20,0)	16	(80,0)	12	(37,5)	20	(62,5)	4	(11,1)	32	(88,9)	2	(5,9)	32	(94,1)
<b>MET-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	423/9		242		0,772		340		0,808		423		0,663		361		0,805	
Negativ			393	(92,9)	56	(24,9)	169	(75,1)	80	(25,2)	237	(74,8)	98	(24,9)	295	(75,1)	82	(24,3)	256	(75,7)
Positiv			30	(7,1)	5	(29,4)	12	(70,6)	5	(21,7)	18	(78,3)	6	(20,0)	24	(80,0)	6	(26,1)	17	(73,9)

**Tabelle 3.2** - Teil 3/3 Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, dichotomisiert zwischen dem ersten Quartil (Q<sub>1</sub>) und den restlichen drei Quantilen (Q<sub>234</sub>), mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika. <sup>(1)</sup> Exakter Test nach Fischer; <sup>(2)</sup> Kendalls Tau Test; \* Signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests.

### 3.2.4 Bedeutung des Geschlechts

Frauen im untersuchten Kollektiv erkrankten in der Regel später als Männer. Männer wiesen häufiger Tumoren vom intestinalen, unklassifizierten und Misch-Typ nach Laurén auf. Frauen hingegen zeigten signifikant häufiger (48,1% der Frauen vs. 20,7% der Männer) den diffusen Typ (signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests). Frauen zeigten signifikant häufiger Tumoren des distalen Magens (signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests) und häufiger entdifferenzierte Tumoren (Frauen 82,1% G3/G4 vs. Männer 73,0% G3/G4). Männer waren häufiger EBV- und MET-positiv (siehe Tabelle 3.3).

			Gesamt / Fehlend		Weiblich		Männlich		
			n	(%)	n	(%)	n	(%)	
<b>Altersgruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432/0		162		270		0,037
< 68 Jahre			215	(49,8)	70	(43,2)	145	(53,7)	
≥ 68 Jahre			217	(50,2)	92	(56,8)	125	(46,3)	
<b>Lokalisation</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	429/3		162		270		0,002*
Proximaler Magen			139	(32,4)	38	(23,5)	101	(37,8)	
Distaler Magen			290	(67,6)	124	(76,5)	166	(62,2)	
<b>Laurén Typ</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432/0		162		270		<0,001*
Intestinal			227	(52,5)	63	(38,9)	164	(60,7)	
Diffus			134	(31,0)	78	(48,1)	56	(20,7)	
Mischtyp			29	(6,7)	6	(3,7)	23	(8,5)	
Unklassifiziert			42	(9,7)	15	(9,3)	27	(10,0)	
<b>T-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	432/0		162		270		0,991
T1a/b			51	(11,8)	19	(11,7)	32	(11,9)	
T2			52	(12,0)	23	(14,2)	29	(10,7)	
T3			175	(40,5)	60	(37,0)	115	(42,6)	
T4a/b			154	(35,6)	60	(37,0)	94	(34,8)	
<b>N-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	432/0		162		270		0,133
N0			122	(28,2)	51	(31,5)	71	(26,3)	
N1			62	(14,4)	29	(17,9)	33	(12,2)	
N2			76	(17,6)	22	(13,6)	54	(20,0)	
N3a/b			172	(39,8)	60	(37,0)	112	(41,5)	
<b>M-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432/0		162		270		0,076
M0			350	(81,0)	124	(76,5)	226	(83,7)	
M1			82	(19,0)	38	(23,5)	44	(16,3)	
<b>L-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	415/17		157		258		0,840
L0			200	(48,2)	77	(49,0)	123	(47,7)	
L1			215	(51,8)	80	(51,0)	135	(52,3)	

**Tabelle 3.3 - Teil 1/2**

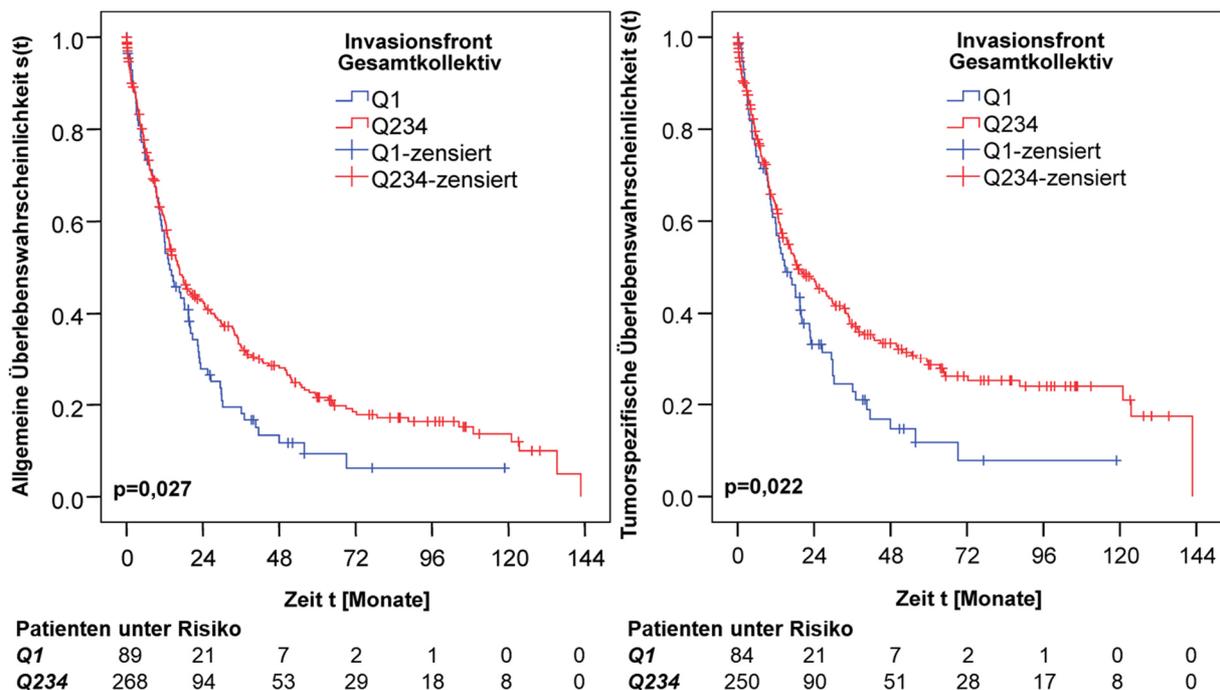
		Gesamt / Fehlend		Weiblich		Männlich			
		n	(%)	n	(%)	n	(%)		
<b>UICC-Stadium</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>		432/0		162		270 0,870	
IA/B		73	(16,9)	29	(17,9)	44	(16,3)		
IIA/B		94	(21,8)	41	(25,3)	53	(19,6)		
IIIA/B/C		183	(42,4)	54	(33,3)	129	(47,8)		
IV		82	(19,0)	38	(23,5)	44	(16,3)		
<b>LN-Ratiogruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		432/0		162		270 0,138	
<0,189		212	(49,1)	87	(53,7)	125	(46,3)		
≥0,189		220	(50,9)	75	(46,3)	145	(53,7)		
<b>V-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		414/18		158		256 0,520	
V0		368	(88,9)	143	(90,5)	225	(87,9)		
V1		46	(11,1)	15	(9,5)	31	(12,1)		
<b>Grading</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		432/0		162		270 0,035	
G1/2		102	(23,6)	29	(17,9)	73	(27,0)		
G3/G4		330	(76,4)	133	(82,1)	197	(73,0)		
<b>Resektionsstatus</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		428/4		162		266 0,449	
R0		376	(87,9)	145	(89,5)	231	(86,8)		
R1/R2		52	(12,1)	17	(10,5)	35	(13,2)		
<b>H. pylori</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		367/65		140		227 1,0	
Negativ		309	(84,2)	118	(84,3)	191	(84,1)		
Positiv		58	(15,8)	22	(15,7)	36	(15,9)		
<b>EBV-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		421/11		160		261 0,008	
Negativ		401	(95,2)	158	(98,7)	243	(93,1)		
Positiv		20	(4,8)	2	(1,3)	18	(6,9)		
<b>MSI-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		420/12		161		259 0,851	
MSS		388	(92,4)	148	(91,9)	240	(92,7)		
MSI		32	(7,6)	13	(8,1)	19	(7,3)		
<b>HER2-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		405/27		153		252 0,375	
Negativ		369	(91,1)	142	(92,8)	227	(90,1)		
Positiv		36	(8,9)	11	(7,2)	25	(9,9)		
<b>MET-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>		423/9		158		265 0,050	
Negativ		393	(92,9)	152	(96,2)	241	(90,9)		
Positiv		30	(7,1)	6	(3,8)	24	(9,1)		

**Tabelle 3.3** - Teil 2/2 Korrelation der klinisch-pathologischen Patientencharakteristika mit dem Geschlecht. <sup>(1)</sup> Exakter Test nach Fischer; <sup>(2)</sup> Kendalls Tau Test; \* Signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests.

### 3.3 Prognostische Bedeutung von TAN-Anzahldichten

Auch die Korrelation zwischen TAN-Anzahldichten und Patientenüberleben wurde betrachtet. Dichotomisierung am Median und Einteilung in Quartile zeigte keinen Unterschied im Patientenüberleben (Vergleich Tabelle 7.4 und 7.5 im Anhang).

Bei der Einteilung in  $Q_1$  und  $Q_{234}$  zeigte sich, dass Patienten mit erhöhten TAN-Anzahldichten ( $Q_{234}$ ) in der Mucosa und in der Invasionsfront ein besseres allgemeines Überleben (Invasionsfront: medianes allgemeines Überleben  $13,6 \pm 2,4$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $16,5 \pm 1,8$  Monate bei erhöhten TAN;  $p=0,027$ ) und besseres tumorspezifisches Überleben (Invasionsfront: medianes tumorspezifisches Überleben  $15,0 \pm 2,8$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $19,0 \pm 3,5$  Monate bei erhöhten TAN;  $p=0,022$ ) als Patienten mit erniedrigten TAN ( $Q_1$ ) aufwiesen (Abbildung 3.5 und Tabelle 7.6 im Anhang). Nach der Korrektur bei multiplen Tests waren diese Ergebnisse nicht signifikant.

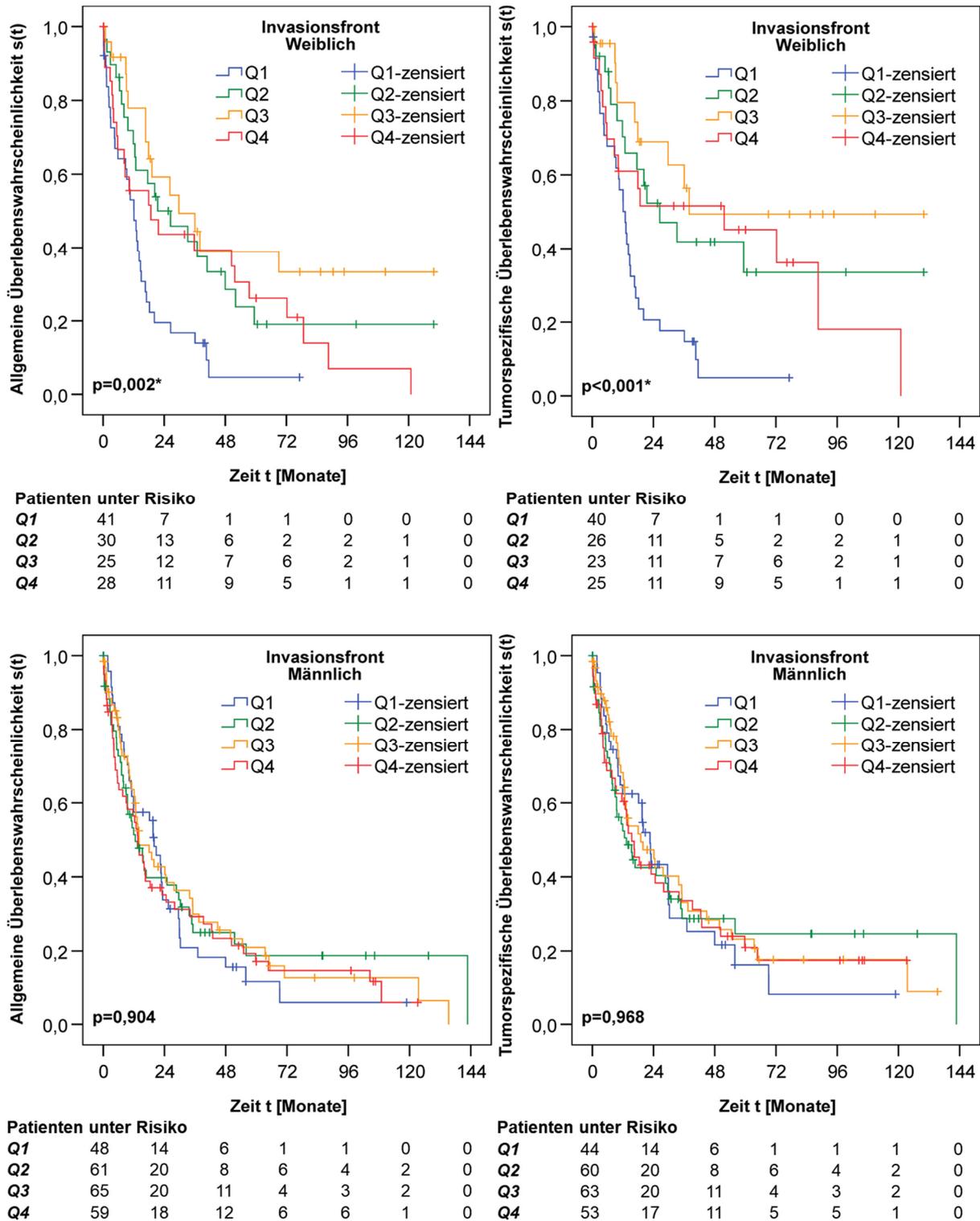


**Abbildung 3.5** Kaplan-Meier Kurven: Allgemeines und tumorspezifisches Überleben des Gesamtkollektivs abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront. Darunter sind die Zahlen der zum Zeitpunkt noch lebenden Patienten dargestellt.  $p$  = Signifikanzwert, bestimmt durch Logrank-Test (modifiziert nach Clausen et al. (89)).

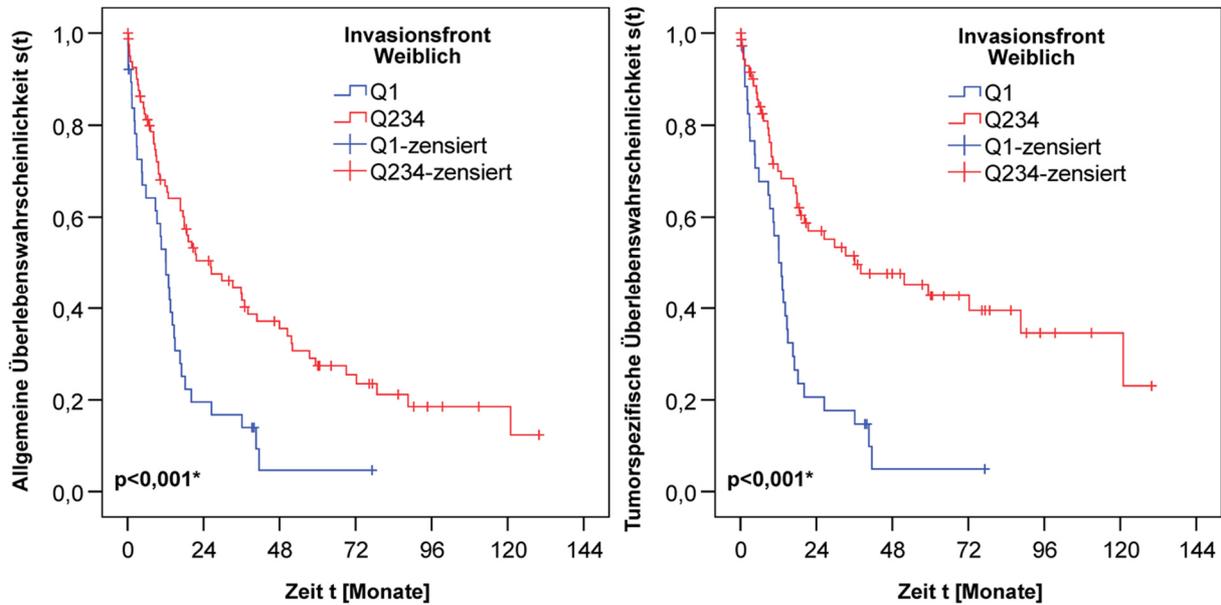
### 3.3.1 Prognostische Bedeutung getrennt nach Geschlechtern

Um die Bedeutung des Geschlechts zu überprüfen, wurde das Patientenüberleben noch einmal getrennt für beide Geschlechter betrachtet. Hierbei zeigte sich, dass die TAN-Anzahldichten bei den männlichen Patienten in keinem Zusammenhang zum Überleben stand. Bei den Frauen jedoch korrelierten die TAN-Anzahldichten stark mit der Prognose.

Bereits bei der Betrachtung der Quartile wiesen Frauen mit weniger TAN-Anzahldichten in der Mucosa ein geringeres allgemeines ( $p=0,18$ ) und tumorspezifisches Überleben ( $p=0,020$ ) auf (Vergleich Tabelle 7.7 im Anhang). In der Invasionsfront war dieser Effekt auf das allgemeine ( $p=0,002$ ; signifikant nach Korrektur bei multiplen Tests) und tumorspezifische Überleben ( $p<0,001$ ; signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests) noch deutlicher ausgeprägt (Vergleich Abbildung 3.6 und Tabelle 7.8 im Anhang). Auch bei der Dichotomisierung an der ersten Quartilengrenze zeigten Frauen mit erhöhten TAN-Anzahldichten in der Mucosa ein besseres allgemeines Überleben (medianes allgemeines Überleben  $15,7 \pm 4,3$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $21,5 \pm 4,4$  Monate bei erhöhten TAN;  $p=0,007$ ) und ein besseres tumorspezifisches Überleben (medianes tumorspezifisches Überleben  $10,4 \pm 4,6$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $23,6 \pm 6,5$  Monate bei erhöhten TAN;  $p=0,004$ ; signifikant nach Korrektur bei multiplen Tests) als Frauen mit erniedrigten TAN-Anzahldichten. Auch Frauen mit erhöhten TAN-Anzahldichten im Tumorzentrum hatten ein signifikant besseres tumorspezifisches Überleben (medianes tumorspezifisches Überleben  $12,9 \pm 1,5$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $18,8 \pm 3,7$  Monate bei erhöhten TAN;  $p=0,034$ ) als Frauen mit erniedrigten TAN-Anzahldichten. Nach der Korrektur für multiple Tests waren diese Ergebnisse nicht mehr signifikant (Vergleich Tabelle 7.9 im Anhang). Frauen mit erhöhten TAN-Anzahldichten in der Invasionsfront zeigten ein signifikant besseres allgemeines Überleben (medianes allgemeines Überleben  $12,1 \pm 1,9$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $26,3 \pm 7,3$  Monate bei erhöhten TAN;  $p<0,001$ ) und ein signifikant besseres tumorspezifisches Überleben (medianes tumorspezifisches Überleben  $12,9 \pm 1,9$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $36,1 \pm 16,9$  Monate bei erhöhten TAN;  $p<0,001$ ) als Frauen mit erniedrigten TAN-Anzahldichten (Abbildung 3.7 und Tabelle 3.4). Diese Ergebnisse blieben auch nach der Korrektur für multiple Tests signifikant.



**Abbildung 3.6** Kaplan-Meier Kurven: Allgemeines und tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht. Darunter sind die Zahlen der zum Zeitpunkt noch lebenden Patienten dargestellt.  $p$ =Signifikanzwert, bestimmt durch Logrank-Test; \* Signifikant nach Korrektur bei multiplen Tests (modifiziert nach Clausen et al. (89)).

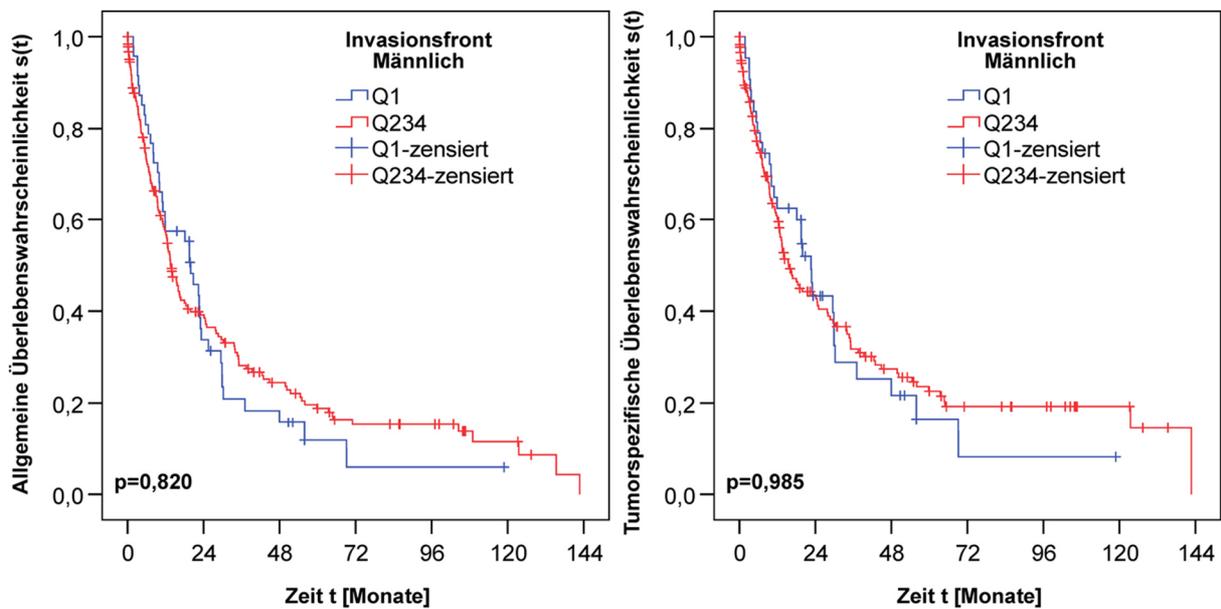


**Patienten unter Risiko**

Q1	41	7	1	1	0	0	0
Q234	83	36	22	13	5	3	0

**Patienten unter Risiko**

Q1	40	7	1	1	0	0	0
Q234	74	33	21	13	5	3	0



**Patienten unter Risiko**

Q1	48	14	6	1	1	0	0
Q234	185	58	31	16	13	5	0

**Patienten unter Risiko**

Q1	44	14	6	1	1	1	0
Q234	176	57	30	15	12	5	0

**Abbildung 3.7** Kaplan-Meier Kurven: Allgemeines und tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahlichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht. Darunter sind die Zahlen der zum Zeitpunkt noch lebenden Patienten dargestellt.  $p$ =Signifikanzwert, bestimmt durch Logrank-Test; \* Signifikant nach Korrektur für multiple Tests (modifiziert nach Clausen et al. (89)).

Tumorspezifisches Überleben [Monate]	Invasionsfront			
	Weiblich		Männlich	
	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>
p-Wert <sup>(3)</sup>		<0,001*		0,985
Gesamt / Events / Zensiert	40/31/9	74/38/36	44/31/13	176/118/58
Medianes Überleben	12,9 ± 1,9	36,1 ± 16,9	22,6 ± 2,3	15,5 ± 2,2
95% K.I.	9,3 - 16,6	2,9 - 69,2	18,0 - 27,2	11,1 - 19,8

**Table 3.4** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit dem tumorspezifischen Überleben für beide Geschlechter getrennt. <sup>(3)</sup> Logrank-Test; \* Signifikant nach Korrektur für multiple Tests.

### 3.3.2 Univariate Überlebensanalyse

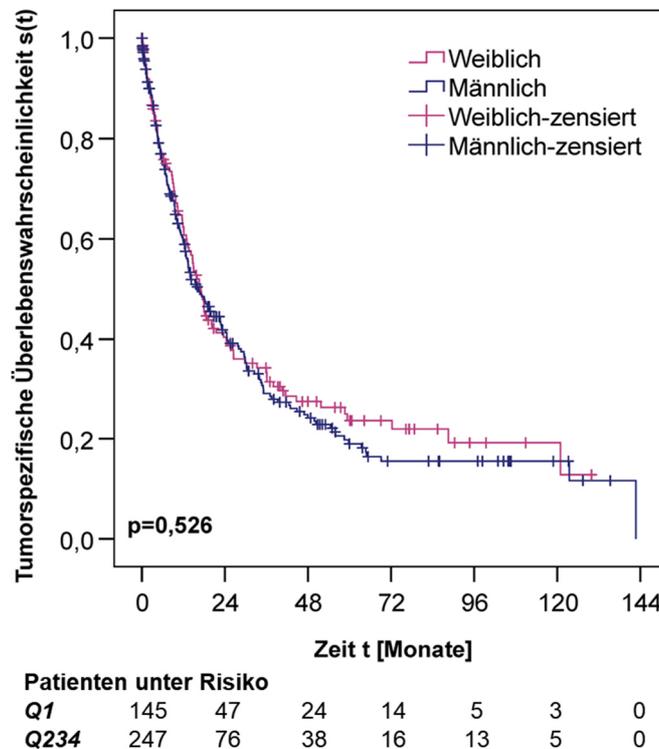
Die Prognose der Patienten war signifikant abhängig von der T-, N-, M-, L-, V-Kategorie, dem Resektionsstatus, dem UICC-Stadium, dem Grading, der Lymphknotenratio, dem MET- und MSI-Status, dem Laurén Phänotyp und der TAN-Anzahldichte in der Mucosa, dem Tumorzentrum und der Invasionsfront. Gleiches galt für die separat betrachteten weiblichen Patienten (Tabelle 3.5).

Tumorspezifische univariate Analyse der Frauen					
		Gesamt/Events/ Zensiert	Medianes Überleben	95% CI	p-Wert <sup>(3)</sup>
<b>T-Kategorie</b>	T1a/b	19/3/16	n.k.	n.k.	<0,001
	T2	15/7/8	51,7 ± 23,9	4,9 - 98,6	
	T3	53/36/17	20,3 ± 9,0	2,6 - 38,0	
	T4a/b	58/50/8	8,9 ± 2,1	4,8 - 13,0	
<b>M-Kategorie</b>	M0	109/64/45	26,1 ± 6,7	13,0 - 39,2	<0,001
	M1	36/32/4	7,3 ± 2,5	2,3 - 12,2	
<b>N-Kategorie</b>	N0	45/16/29	88,5 ± 22,7	44,1 - 133,0	<0,001
	N1	25/16/9	17,1 ± 3,3	10,5 - 23,6	
	N2	20/15/5	18,2 ± 4,5	9,4 - 27,0	
	N3a/b	55/49/6	9,3 ± 0,9	7,6 - 11,0	
<b>UICC-Stadium</b>	I	25/5/20	120,9 ± n.k.	n.k.	<0,001
	II	36/20/16	44,6 ± 12,0	21,2 - 68,1	
	III	48/39/9	13,6 ± 3,0	7,7 - 19,5	
	IV	36/32/4	7,3 ± 2,5	2,3 - 12,2	
<b>L-Kategorie</b>	L0	69/31/38	44,6 ± 16,1	13,1 - 76,2	<0,001
	L1	71/61/10	10,6 ± 2,7	5,3 - 16,0	
<b>V-Kategorie</b>	V0	126/81/45	17,9 ± 2,2	13,5 - 22,3	0,018
	V1	15/12/3	9,3 ± 6,9	0 - 22,7	
<b>Resektionsstatus</b>	R0	128/79/49	18,2 ± 3,3	11,6 - 24,8	<0,001
	R1	17/17/0	5,1 ± 2,3	0,5 - 9,7	
<b>Grading</b>	G1/2	25/9/16	88,5 ± 27,0	35,7 - 141,4	<0,001
	G3/4	120/87/33	14,6 ± 2,1	10,6 - 18,6	
<b>LN-Ratiogruppe</b>	<0,189	77/36/41	41,5 ± 13,5	15,0 - 68,0	<0,001
	≥0,189	68/60/8	9,7 ± 0,8	8,1 - 11,3	
<b>Laurén Typ</b>	Intestinal	55/30/25	26,5 ± 13,9	0 - 53,7	0,005
	Diffus	71/54/17	14,2 ± 1,6	11,0 - 17,3	
	Mischtyp	6/5/1	4,5 ± 0,9	2,6 - 6,4	
	Unklassifiziert	13/7/6	24,4 ± 13,2	0 - 50,2	
<b>MSI-Status</b>	MSS	132/91/41	15,5 ± 1,7	12,1 - 18,9	0,062
	MSI	12/5/7	51,7 ± n.k.	n.k.	
<b>MET-Status</b>	Negativ	137/90/47	17,5 ± 2,1	13,3 - 21,7	0,005
	Positiv	5/5/0	3,6 ± 1,3	1,1 - 6,2	
<b>Mucosa</b>	Q1	23/19/4	10,4 ± 4,6	1,3 - 19,4	0,004
<b>TAN-Anzahldichte</b>	Q2-Q4	67/34/33	23,6 ± 6,5	10,8 - 36,4	
<b>Tumorzentrum</b>	Q1	45/35/10	12,9 ± 1,5	10,0 - 15,9	0,034
<b>TAN-Anzahldichte</b>	Q2-Q4	100/61/39	18,8 ± 3,7	11,6 - 25,9	
<b>Invasionsfront</b>	Q1	40/31/9	12,9 ± 1,9	9,3 - 16,6	<0,001
<b>TAN-Anzahldichte</b>	Q2-Q4	74/38/36	36,1 ± 16,9	2,9 - 69,2	

**Tabelle 3.5** Univariate Analyse des tumorspezifischen Überlebens der Frauen. n.k.= nicht kalkulierbar; <sup>(3)</sup> Logrank-Test.

### 3.3.3 Prüfung auf Surrogateffekte

Es konnte kein genereller Unterschied zwischen Männern und Frauen im allgemeinen oder tumorspezifischen Überleben in der untersuchten Kohorte festgestellt werden (Abbildung 3.8 und Tabelle 3.6).



**Abbildung 3.8** Kaplan-Meier Kurve: Tumorspezifisches Überleben abhängig vom Geschlecht. Darunter sind die Zahlen der zum Zeitpunkt noch lebenden Patienten dargestellt.  $p$  = Signifikanzwert, bestimmt durch Logrank-Test (modifiziert nach Clausen et al. (89)).

	Gesamt	Frauen	Männer
<b>Allgemeines Überleben [Monate]</b>			p-Wert <sup>(3)</sup> 0,657
Gesamt / Events / Zensiert	420/329/91	157/122/35	263/207/56
Medianes Überleben	14,9 ± 1,1	16,0 ± 1,7	13,7 ± 1,3
95% K.I.	12,7 - 17,1	12,7 - 19,3	11,1 - 16,3
<b>Tumorspezifisches Überleben [Monate]</b>			p-Wert <sup>(3)</sup> 0,526
Gesamt / Events / Zensiert	392/269/123	145/96/49	247/173/74
Medianes Überleben	16,7 ± 1,5	17,1 ± 1,5	16,4 ± 2,1
95% K.I.	13,7 - 19,6	14,2 - 20,0	12,3 - 20,4

**Tabelle 3.6** Korrelation des Geschlechts mit dem Überleben. <sup>(3)</sup> Logrank-Test.

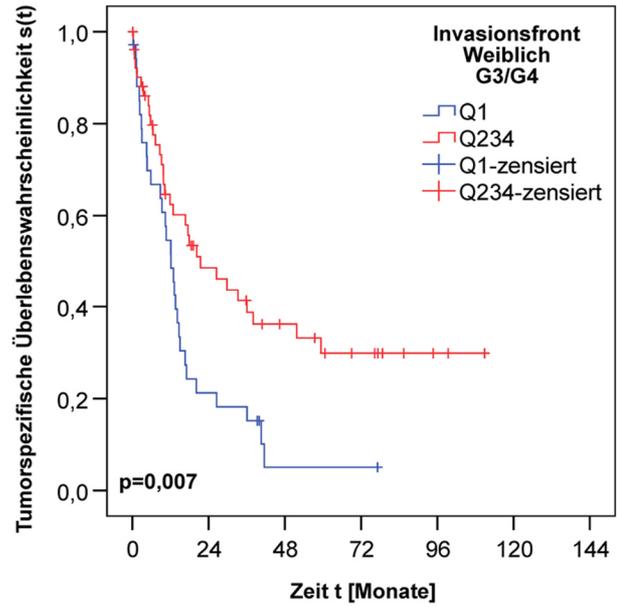
Sowohl eine Korrelation mit dem Überleben als auch einen geschlechtsspezifischen Unterschied der TAN-Anzahldichte wiesen das Grading, der MET-Status und der Laurén Phänotyp auf.

Frauen, mit entdifferenzierten Tumoren, die eine erhöhte TAN-Anzahldichte in der Invasionsfront aufwiesen, zeigten ein signifikant besseres tumorspezifisches Überleben (medianes tumorspezifisches Überleben  $12,1 \pm 1,6$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $21,5 \pm 7,6$  Monate bei erhöhten TAN;  $p=0,007$ ) als Frauen mit erniedrigten TAN-Anzahldichten. Die Fallzahl der Frauen mit gut differenzierten Tumoren war wesentlich geringer und für eine Kalkulation nicht ausreichend. Ein Effekt der TAN-Anzahldichte auf das Überleben lässt sich lediglich erraten. Bei den Männern zeigte sich kein signifikanter Unterschied (Abbildung 3.9 und Tabelle 3.7).

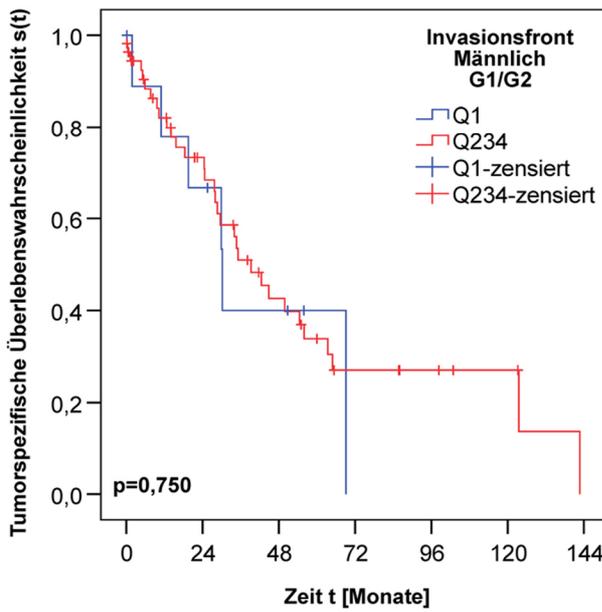
Tumorspezifisches Überleben [Monate]	Invasionsfront G1/G2			
	Weiblich		Männlich	
	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>
p-Wert <sup>(3)</sup>	0,095		0,750	
Gesamt / Events / Zensiert	2/1/1	22/7/15	10/6/4	55/32/23
Medianes Überleben	18,2 ± n.k.	120,9 ± 28,7	30,2 ± 7,0	39,3 ± 6,2
95% K.I.	n.k.	64,7 - 177,1	16,5 - 43,9	27,1 - 51,4
Tumorspezifisches Überleben [Monate]	Invasionsfront G3/G4			
	Weiblich		Männlich	
	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>
p-Wert <sup>(3)</sup>		0,007	0,433	
Gesamt / Events / Zensiert	38/30/8	52/31/21	34/25/9	121/86/35
Medianes Überleben	12,1 ± 1,6	21,5 ± 7,6	19,9 ± 3,6	12,1 ± 1,5
95% K.I.	8,9 - 15,3	6,6 - 36,3	12,9 - 27,0	9,2 - 15,1

**Tabelle 3.7** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit dem tumorspezifischen Überleben. Getrennt nach Geschlecht und Grading. n.k. = nicht kalkulierbar; <sup>(3)</sup> Logrank-Test.

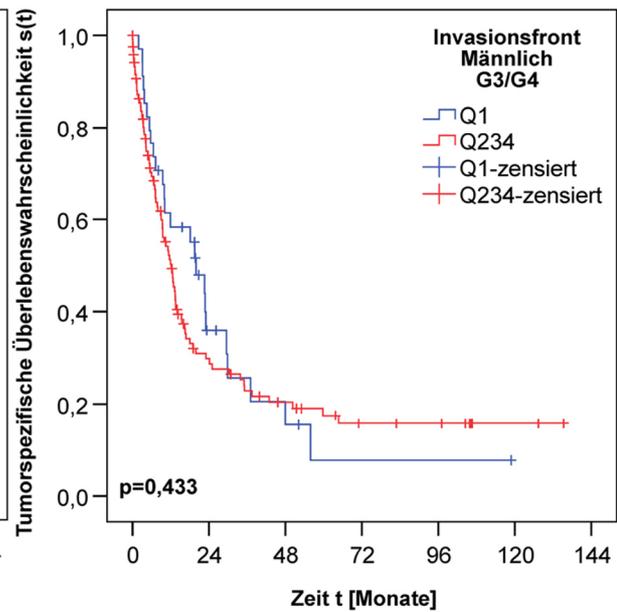
**Abbildung 3.9** Kaplan-Meier Kurven: Tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht und Grading. Darunter sind die Zahlen der zum Zeitpunkt noch lebenden Patienten dargestellt.  $p$  = Signifikanzwert, bestimmt durch Logrank-Test.



Patienten unter Risiko							
Q1	38	7	1	1	0	0	0
Q234	52	20	12	7	2	0	0



Patienten unter Risiko							
Q1	10	6	3	0	0	0	0
Q234	55	30	15	7	5	3	0

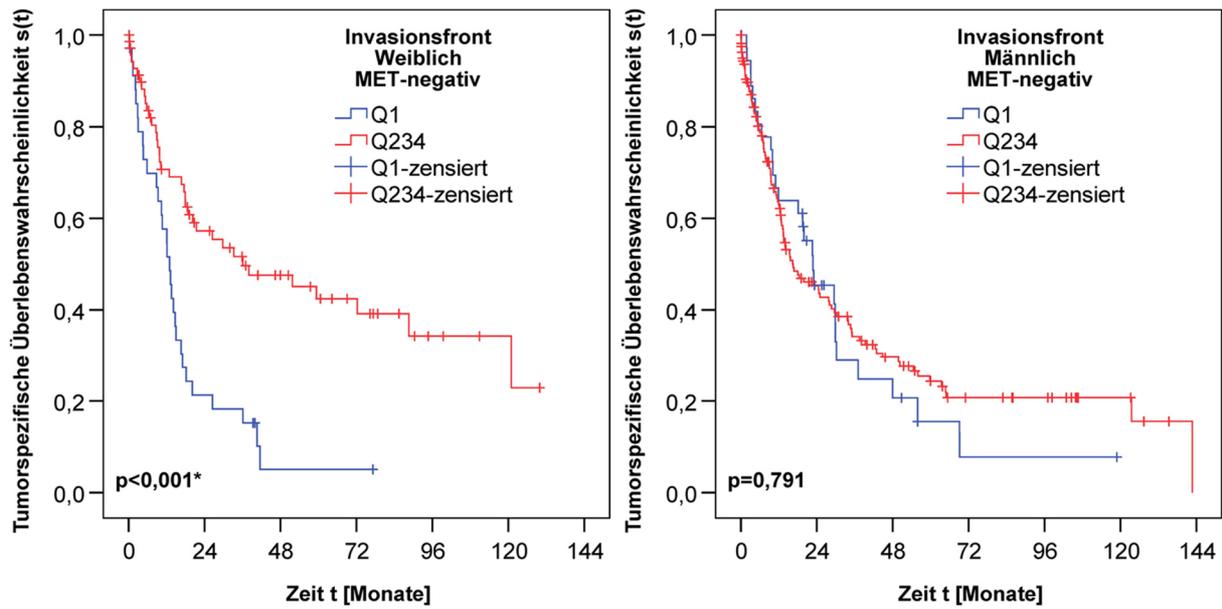


Patienten unter Risiko							
Q1	34	8	3	1	1	0	0
Q234	121	27	15	8	7	2	0

Auch beim MET-Status konnten lediglich Frauen, mit negativem MET-Status, die eine erhöhte TAN-Anzahldichte in der Invasionsfront aufwiesen, ein signifikant besseres tumorspezifisches Überleben (medianes tumorspezifisches Überleben  $12,9 \pm 1,7$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $36,1 \pm 16,5$  Monate bei erhöhten TAN;  $p < 0,001$ ; signifikant nach Korrektur bei multiplen Tests) zeigten als Frauen mit erniedrigten TAN-Anzahldichten. Die Fallzahl von Patienten mit positivem MET-Status war zu niedrig für eine valide Aussage. Die Männer zeigten keinen Unterschied im Überleben (Abbildung 3.10 und Tabelle 3.8).

Tumorspezifisches Überleben [Monate]	Invasionsfront MET-Status negativ			
	Weiblich		Männlich	
	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>
p-Wert <sup>(3)</sup>		<0,001*		0,791
Gesamt / Events / Zensiert	38/30/8	72/37/35	37/27/10	161/105/56
Medianes Überleben	$12,9 \pm 1,7$	$36,1 \pm 16,5$	$22,8 \pm 5,9$	$16,5 \pm 4,2$
95% K.I.	9,7 - 16,2	3,8 - 68,4	11,3 - 34,3	8,2 - 24,8
Tumorspezifisches Überleben [Monate]	Invasionsfront MET-Status positiv			
	Weiblich		Männlich	
	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>
p-Wert <sup>(3)</sup>		0,317		0,978
Gesamt / Events / Zensiert	1/1/0	1/1/0	4/3/1	13/11/2
Medianes Überleben	$1,49 \pm \text{n.k.}$	$11,9 \pm \text{n.k.}$	$5,7 \pm 1,9$	$5,4 \pm 0,9$
95% K.I.	n.k.	n.k.	1,9 - 9,4	3,6 - 7,3

**Tabelle 3.8** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit dem tumorspezifischen Überleben. Getrennt nach Geschlecht und MET-Status. n.k.= nicht kalkulierbar; <sup>(3)</sup> Logrank-Test; \*Signifikant nach der Korrektur für multiple Tests.



Patienten unter Risiko							
Q1	38	7	1	1	0	0	0
Q234	72	32	20	13	5	3	0

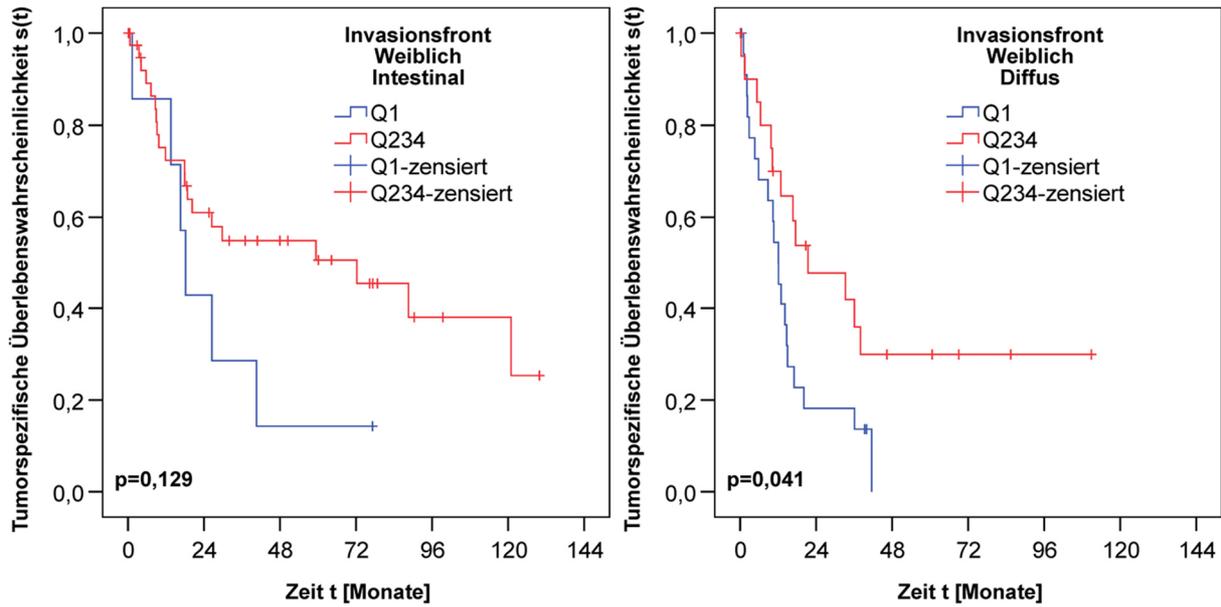
Patienten unter Risiko							
Q1	37	13	5	1	1	0	0
Q234	161	54	30	15	12	5	0

**Abbildung 3.10** Kaplan-Meier Kurven: Tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht und MET-Status. Darunter sind die Zahlen der zum Zeitpunkt noch lebenden Patienten dargestellt.  $p$  = Signifikanzwert, bestimmt durch Logrank-Test; \* signifikant nach der Korrektur für multiple Tests.

Ähnlich verhielt es sich beim Phänotyp. Frauen, die an diffusen Tumoren erkrankt waren und gleichzeitig eine erhöhte TAN-Anzahldichte in der Invasionsfront aufwiesen, zeigten ein signifikant besseres tumorspezifisches Überleben (medianes tumorspezifisches Überleben  $12,1 \pm 1,5$  Monate bei erniedrigten TAN vs.  $21,5 \pm 11,0$  Monate bei erhöhten TAN;  $p=0,041$ ) als Frauen mit erniedrigten TAN-Anzahldichten. Auch hier lässt sich der nicht signifikante Effekt bei den Frauen mit intestinalen Tumoren lediglich erahnen. Die Männer zeigen, unabhängig vom Phänotyp, keinen Unterschied im Überleben (Abbildung 3.11 und Tabelle 3.9).

Tumorspezifisches Überleben [Monate]	Invasionsfront Intestinal			
	Weiblich		Männlich	
	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>
p-Wert <sup>(3)</sup>	0,129		0,725	
Gesamt / Events / Zensiert	8/5/2	41/20/21	19/13/6	121/85/36
Medianes Überleben	$18,2 \pm 2,1$	$72,2 \pm 28,7$	$22,6 \pm 6,1$	$15,4 \pm 2,6$
95% K.I.	14,1 - 22,3	15,9 - 128,6	10,7 - 34,5	10,3 - 20,4
Tumorspezifisches Überleben [Monate]	Invasionsfront Diffus			
	Weiblich		Männlich	
	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>
p-Wert <sup>(3)</sup>		0,041	0,749	
Gesamt / Events / Zensiert	27/20/7	21/13/8	19/13/6	17/10/7
Medianes Überleben	$12,1 \pm 1,5$	$21,5 \pm 11,0$	$23,0 \pm 5,5$	$16,5 \pm 7,7$
95% K.I.	9,1 - 15,0	0 - 43,1	12,2 - 33,8	1,5 - 31,6

**Tabelle 3.9** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit dem tumorspezifischen Überleben. Getrennt nach Geschlechtern und Laurén Phänotyp. <sup>(3)</sup> Logrank-Test.

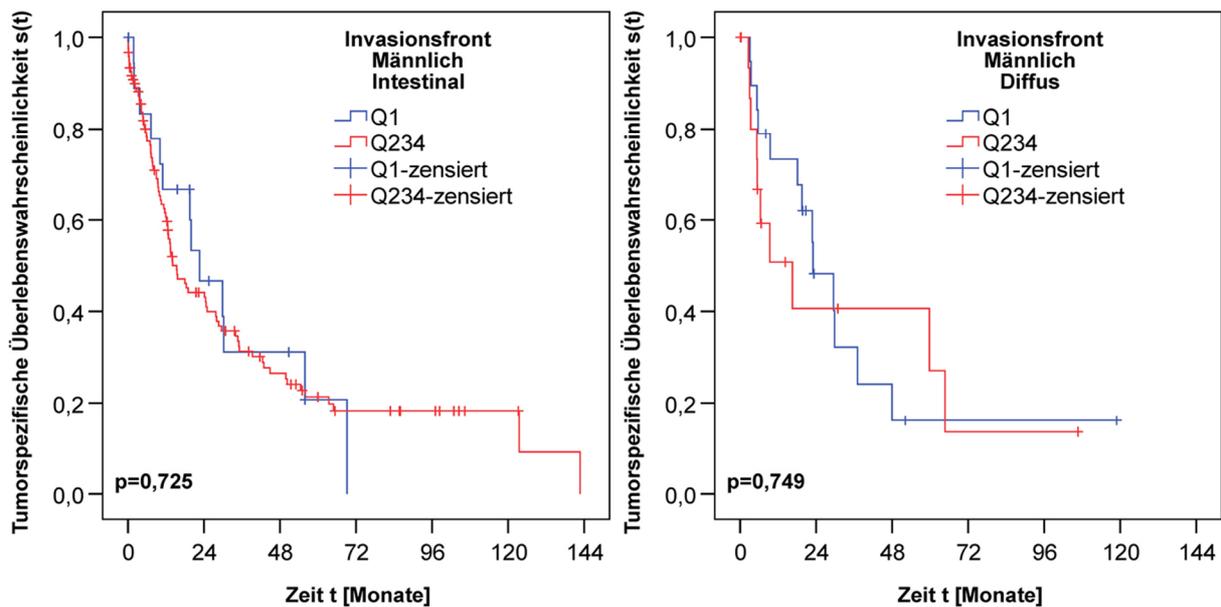


Patienten unter Risiko

Q1	8	3	1	1	0	0	0
Q234	41	21	14	10	4	3	0

Patienten unter Risiko

Q1	27	4	0	0	0	0	0
Q234	21	8	4	2	1	0	0



Patienten unter Risiko

Q1	19	7	4	0	0	0	0
Q234	121	42	22	11	8	3	0

Patienten unter Risiko

Q1	19	6	2	1	1	0	0
Q234	17	4	3	1	1	0	0

**Abbildung 3.11** Kaplan-Meier Kurven: Tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahlichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht und Laurén Phänotyp. Darunter sind die Zahlen der zum Zeitpunkt noch lebenden Patienten dargestellt.  $p$  = Signifikanzwert, bestimmt durch Logrank-Test (modifiziert nach Clausen et al. (89)).

### 3.3.4 Multivariate Überlebensanalyse

In der multivariaten Überlebensanalyse erwiesen sich die TAN-Anzahldichte in der Invasionsfront (HR 2,76; 95% KI 1,61 - 4,70), der Resektionsstatus, die L- und die N-Kategorie als signifikante, unabhängige Prognosefaktoren für das tumorspezifische Überleben von Frauen mit Magenkarzinom (Tabelle 3.10).

Multivariate Analyse der Frauen				
		HR	95% KI	p-Wert
<b>N-Kategorie</b>	N1 vs. N0	2,26	0,92 - 5,53	0,002
	N2 vs. N0	2,49	1,01 - 6,17	0,076
	N3a/b vs. N0	4,35	2,02 - 9,36	<0,001
<b>L-Kategorie</b>	L1 vs. L0	2,01	1,08 - 3,71	0,027
<b>Resektionsstatus</b>	R1 vs. R0	6,78	3,15 - 14,62	<0,001
<b>Invasionsfront TAN-Anzahldichte</b>	Q1 vs. Q234	2,76	1,61 - 4,70	<0,001

*Tabelle 3.10 Multivariate Überlebensanalyse bei Frauen.*

## 4 Diskussion

Sexueller Dimorphismus in der Immunantwort betrifft auch die Unterschiede in der Immunüberwachung zwischen Männern und Frauen, welches zu den geschlechterspezifischen Unterschieden in malignen Tumoren beitragen könnte (77). Meine Ergebnisse bestätigen in einer unabhängigen europäischen Patientenkohorte die zuvor von Caruso *et al.* (59) beschriebenen geschlechterspezifischen Unterschiede im tumorbiologischen Effekt von TAN. Ein genereller Überlebensvorteil für Magenkarzinompatientinnen gegenüber den männlichen Betroffenen konnte nicht ermittelt werden. Somit ist die TAN-Anzahldichte in der Invasionsfront der Magenkarzinompatientinnen ein geschlechtsspezifischer unabhängiger Prognosefaktor (HR 2,76; 95 % KI 1,61 - 4,70) und nicht Folge eines generell besseren Überlebens weiblicher gegenüber männlichen Patienten.

### 4.1 Diskussion der Methodik

#### 4.1.1 Das Kollektiv

Die geschlechterspezifische Verteilung und das UICC-Stadium bei Diagnosestellung sind vergleichbar mit den Daten der Gesamtbevölkerung. Auch erkrankten die Frauen im untersuchten Kollektiv, ebenso wie in der Gesamtbevölkerung, im Schnitt später als die Männer. Jedoch lag das mittlere Erkrankungsalter beim untersuchten Kollektiv niedriger als in der Gesamtbevölkerung (7).

Aufgrund dieser Umstände wird das betrachtete Patientenkollektiv als repräsentativ und geeignet zur Beantwortung der Fragestellungen angesehen. Es kann kein Rückschluss auf den Effekt von Chemotherapie auf TAN im Magenkarzinom gezogen werden, da keiner der Patienten perioperative oder neoadjuvante Chemotherapie erhielt. Ebenfalls fand die postoperative Behandlung keine Betrachtung. Diese war zum Zeitpunkt der Kollektiverstellung noch nicht im heutigen Maße standardisiert und dürfte jedoch den Geschlechtsdimorphismus nicht erklären, da in der onkologischen Systemtherapie des Magenkarzinoms keine Unterschiede zwischen Frauen und Männern gemacht werden.

### **4.1.2 Untersuchtes Material und Ermittlung der Kompartimente**

Anders als bisherige Untersuchungen von TAN im Magenkarzinom wurden hier keine ausgewählten, besonders repräsentativen Sektionen (59, 62, 63) oder Gewebe-Microarrays (60) ausgewertet. Stattdessen wurden Ganzgewebeschnitte untersucht. Um die räumliche Verteilung der TAN im Magenkarzinom zu untersuchen, wurden vier Kompartimente (tumorfremie peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumorzentrum und Invasionsfront) getrennt betrachtet.

Zur Vermeidung eines Beobachterfehlers wurde eine digitale Bildanalysesoftware eingesetzt und auf eine manuelle Zählung der Zellen verzichtet.

Computergestütztes Arbeiten hat den großen Vorteil der Objektivität. Allerdings beinhaltet die manuelle Eingrenzung der Kompartimente nach wie vor die Gefahr des subjektiven Fehlers. Besonders das Kompartiment Tumoroberfläche erwies sich als fehleranfällig, da die Schorfnekrose nicht immer eindeutig von der Tumoroberfläche abzugrenzen war. Um die Kompartimente vergleichbar zu machen, wurden sie von einer Person nach definierten Regeln kategorisiert und die gezeichneten Bereiche von einem erfahrenen Facharzt für Pathologie überprüft.

### **4.1.3 Identifizierung der TAN**

Zur Darstellung der neutrophilen Granulozyten wurde eine Anti-MPO-Immunfärbung verwendet. MPO ist ein lysosomales Enzym, welches in hohen Mengen in neutrophilen Granulozyten und in geringeren Mengen auch in Monozyten und gewebständigen Makrophagen nachgewiesen werden kann (98).

Um das Risiko der Fehlinterpretation von anderen Zellen oder Detritus als TAN durch die Bilderkennungssoftware Definiens® zu vermindern, wurden weitere zytomorphologische Eigenschaften eines neutrophilen Granulozyten zur Voraussetzung gemacht. Während der Auswahl der einzustellenden Parameter wurden die vom Programm erkannten Zellen von einem Pathologen beurteilt. Auch unter der Bearbeitung wurde bei jedem Präparat stichprobenartig geprüft, ob die gewünschte Zellart richtig identifiziert wurde. So konnte sichergestellt werden, dass es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um TAN und nicht um andere Zellen oder Artefakte handelt.

#### **4.1.4 Variation der *cut-off* Werte**

Um die TAN-Anzahldichten mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika vergleichen zu können, wurden die Fälle zunächst am Median dichotomisiert. Da dies nicht sensitiv genug erschien, um die große Bandbreite an TAN-Anzahldichten darzustellen, wurde anschließend eine Einteilung in Quartile ( $Q_1$ ,  $Q_2$ ,  $Q_3$  und  $Q_4$ ) genutzt. Außerdem wurden zur näheren Betrachtung die Quartile in erniedrigte TAN-Anzahldichte ( $Q_1$ ) und erhöhte TAN-Anzahldichte ( $Q_{234}$ ) eingeteilt, um einen nahezu „physiologischen *cut-off*“ zu finden. Dieser befindet sich unterhalb des Medians. Diese ermittelten *cut-offs* haben keine auf andere Kollektive übertragbare Wertigkeit.

Wegen dieser mehrfachen Unterteilung entstand eine hohe Anzahl durchgeführter statistischer Tests. Um die Kumulation eines Alphafehlers zu neutralisieren wurde die Simes (Benjamini-Hochberg)-Prozedur (96, 97) für multiple Tests eingesetzt.

#### **4.1.5 Diskrepanz zur zuvor veröffentlichten Studie**

Bei der veröffentlichten Studie (89) erfüllten 17 Patientenfälle die Ausschlusskriterien und befanden sich damit irrtümlicherweise in der für die Publikation erstellten Auswertung. Leider ist dies erst beim Abfassen dieser Dissertation und somit nach der Veröffentlichung aufgefallen.

Dies betraf zwei weibliche und 15 männliche Fälle. Bei 11 Patienten handelte es sich um sekundäre Magenkarzinome und in sechs Fällen waren die Patienten neoadjuvant behandelt worden. Nach Aufdeckung des Irrtums wurden alle statistischen Untersuchungen mit dem korrigierten Datensatz wiederholt. Es ergaben sich auf Grund der großen Fallzahl keine starken Änderungen der Signifikanzwerte. In der vorliegenden Dissertation sind nur die korrigierten Datensätze dargestellt.

## 4.2 Diskussion der Ergebnisse

### 4.2.1 Spezifische Anreicherung der TAN in den Kompartimenten

Die TAN-Anzahldichte der einzelnen Kompartimente war in ihrer räumlichen Verteilung innerhalb eines Präparats signifikant verschieden. Insbesondere in der Tumeroberfläche, unterhalb der Schorfnekrose, zeigten sich vermehrt TAN. Die wenigsten TAN waren in der peritumoralen Mucosa zu finden. Wie bei Li *et al.* (63) wurde eine spezifische Anreicherung von TAN auch an der Invasionsfront beobachtet. Die zuvor beschriebenen Hinweise auf intratumorale Heterogenität im Magenkarzinom gilt auch für TAN. Die erhobenen Daten zeigen, dass die TAN kein zufälliges, unspezifisches Begleitinfiltrat bei Verlust der mucosalen Barrierefunktion bilden, sondern eine spezifische Anreicherung in den verschiedenen Tumorkompartimenten darstellen.

### 4.2.2 Korrelation der TAN-Anzahldichte mit dem Tumor Phänotyp

TAN gehören in das zelluläre Kompartiment des TIME (48). Vom *The Cancer Genome Atlas Research Network* (39) wurde das Magenkarzinom molekular klassifiziert und in EBV-positive, mikrosatelliten-instabile, chromosomal-instabile und genomisch-stabile Magenkarzinome eingeteilt. Der diffuse Phänotyp wurde vermehrt in der genomisch stabilen Gruppe angetroffen, welcher insbesondere in für die Zelladhäsion wichtigen Molekülen viele Mutationen aufweist (39).

Im untersuchten Kollektiv zeichneten sich die Magenkarzinome vom diffusen Phänotyp, im Gegensatz zu den intestinalen, unklassifizierten und Misch-Typen, durch wenige bis fehlende TAN im Tumorzentrum und der Invasionsfront aus. Auch Abe *et al.* fanden unterschiedliche TAN-Anzahldichten in den verschiedenen Lauren Phänotypen (25). Fu *et al.* beobachteten lediglich unterschiedliche Verteilungsmuster in intestinalen und diffusen Tumortypen und keine Unterschiede in der TAN-Anzahldichte (99). Diese Daten bekräftigen die Annahme, dass auch die zelluläre Zusammensetzung des TIME vom Phänotyp, Genotyp und der Immunreaktion beeinflusst wird (48). Und könnte die Unterschiede der TAN-Anzahldichten in diffusen und nichtdiffusen Magenkarzinomen erklären. Es legt außerdem die Vermutung nahe, dass die Tumoren vom diffusen und nicht-diffusen Phänotyp nach Laurén sich in der Fähigkeit, TAN zu rekrutieren, unterscheiden.

### 4.2.3 Tumorbioologische Funktion der TAN

In der untersuchten Kohorte war die TAN-Anzahldichte sowohl im Tumorzentrum als auch in der Invasionsfront mit dem MSI- und EBV-Status assoziiert. Beide, MSI- und EBV-assozierte Magenkarzinome, sind dafür bekannt, eine starke immunologische Antwort zu induzieren. Wie bereits von Abe *et al.* beschrieben, betrifft dies bei EBV-assozierten Magenkarzinomen auch die Rekrutierung von TAN (25). Bei MSI wird bislang davon ausgegangen, dass sich sein Einfluss primär auf das erworbene Immunsystem beschränkt (100). Es wäre jedoch denkbar, dass auch das angeborene Immunsystem bei MSI-Magenkarzinomen eine Rolle spielt. Dies sollten weitere Studien klären.

Weder der Tumor noch das TIME sind statisch. Tumor und Immunsystem stehen in einem wechselhaften Verhältnis. Also verändert sich während der Tumorprogression nicht nur der Tumor, sondern auch sein Microenvironment (48). Dies könnte die stetige Abnahme von erhöhten TAN-Anzahldichten ( $Q_{234}$ ) in der Invasionsfront bei fortgeschrittenen Tumoren erklären. 84,0 % der T1-Tumoren hatten erhöhte TAN-Anzahldichten in der Invasionsfront, wobei lediglich 69,5 % der T4-Tumoren eine erhöhte TAN-Anzahldichte aufwiesen. Dies betrifft auch das Grading. In Tumoren mit gering und entdifferenzierten (G3/4) Tumoren konnten häufiger weniger TAN gefunden werden.

Zusammenfassend zeigt sich, dass TAN biologisch relevant für Tumoren des Magens sind. Dieser Effekt kann in der untersuchten Kohorte insbesondere bei einem *cut-off* unterhalb des Medians festgestellt werden.

### 4.2.4 Bedeutung des Geschlechts

Das Immunsystem zeigt in Bezug auf Infektionen, Impfungen und Autoimmunkrankheiten geschlechterspezifische Unterschiede (80).

Das Geschlecht scheint auch einen Einfluss auf die Immunüberwachung und Immunevasion im Magenkarzinom zu haben. Dass Männer ungefähr doppelt so oft am Magenkarzinom erkranken wie Frauen, lässt sich nicht mit dem wichtigsten Risikofaktor, einer vermehrten *H. pylori* Infektion, erklären (19, 101). Frauen mit längerer Fruchtbarkeit, später Menopause oder Hormonersatztherapie haben ein niedrigeres Risiko, ein Magenkarzinom zu entwickeln (101, 102). Übereinstimmend mit anderen Studien zeigten auch in der untersuchten Kohorte Frauen ein im allgemeinen

späteres Erkrankungsalter (4), häufiger einen diffusen Laurén Phänotyp (103), eher distal gelegene Tumoren (4), häufiger entdifferenzierte Tumoren (G3/G4) (103) und waren seltener EBV-positiv als Männer (39). Außerdem waren Frauen dieser Kohorte seltener MET-positiv als Männer. Eine stärkere Verbreitung von MSI-Tumoren bei Frauen (39) konnten wir in dieser Kohorte nicht feststellen. Auch ein genereller Unterschied in den TAN-Anzahldichten der einzelnen Kompartimente konnte nicht nachgewiesen werden. Jedoch zeigten sich in der Invasionsfront der Frauen bei einem niedrigen *cut-off* häufiger erniedrigte TAN-Anzahldichten.

In Bezug auf das Magenkarzinom spricht alles dafür, dass die Geschlechter separat betrachtet werden sollten.

#### **4.2.5 TAN als Prognosefaktor**

Aufgrund der meist erst verspäteten Diagnose ist das Magenkarzinom mit einer im allgemeinen schlechten Prognose vergesellschaftet. Auch wegen der Heterogenität der Tumoren gestaltet sich die Vorhersage der Prognose im individuellen Fall schwierig.

Eine hohe TAN-Anzahldichte im Bereich der Invasionsfront korrelierte bei Frauen mit einem besseren allgemeinen und tumorspezifischen Überleben. Auf das Überleben der Männer hatte die TAN-Anzahldichte keinerlei Einfluss. Das gesamt- und tumorspezifische Überleben der Geschlechter unterschied sich nicht. Auch konnte dieser Effekt nicht auf andere das Überleben beeinflussende Parameter, wie den MET-Status, den Phänotyp nach Laurén oder das Grading, zurückgeführt werden.

Es stellte sich sogar heraus, dass die TAN-Anzahldichte in der Invasionsfront ein unabhängiger Prognosefaktor für am Magenkarzinom erkrankte Frauen war.

Interessanterweise konnten Studien an TAN in asiatischen Kohorten keine geschlechterspezifischen Unterschiede finden (60–63, 99). Aber auch die Immunsignaturen von Magenkarzinomen in asiatischen und nicht-asiatischen Kohorten unterscheiden sich signifikant. Dies betrifft auch die Marker der TAN (z.B. CD66b) (104) und könnte zum Unterschied im klinischen Outcome beitragen. Da es sich bei der untersuchten Kohorte ausschließlich um kaukasische Patienten handelte, können die Daten nicht auf asiatische Patienten übertragen werden.

Die bisher beschriebenen Ergebnisse könnten bedeuten, dass TAN im Magenkarzinom bei den Geschlechtern unterschiedliche Phänotypen haben. Frauen könnten fähig sein, mehr effektive N1-TAN zu aktivieren. Ohne validen Biomarker zur Unterscheidung von N1- und N2-TAN gestaltet sich die Prüfung dieser Aussage schwierig. Auch könnten noch andere Mechanismen eine Rolle spielen.

### **4.3 Perspektive**

Da keiner der Patienten eine perioperative oder neoadjuvante Chemotherapie erhalten hatte, kann noch kein Rückschluss über chemotherapeutische Effekte auf TAN gezogen werden. Um diese Wissenslücke zu füllen, läuft am Institut für Pathologie des UKSH bereits eine Nachfolgestudie, die sich mit diesem wichtigen Thema beschäftigt.

## 5 Zusammenfassung

Das Magenkarzinom ist in Deutschland der achthäufigste maligne Tumor bei Männern und der zehnthäufigste maligne Tumor bei Frauen. Tumor-assoziierte neutrophile Granulozyten (TAN) sind Teil des Tumormikroenvironments und könnten zur Biologie des Magenkarzinoms beitragen.

In dieser Dissertation sollten die Hypothesen geprüft werden, ob tumor-assoziierte neutrophile Granulozyten sich im Mikroenvironment anreichern, mit Patientencharakteristika und der Prognose korrelieren und geschlechtsspezifische Unterschiede zeigen. Dafür wurden Großflächenschnitte von 432 therapienaiven Magenkarzinomen mittels Myeloperoxidase-Immunfärbung gefärbt und anschließend hochauflösend digitalisiert. In jedem Tumor wurden die Kompartimente peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumorzentrum und Invasionsfront markiert. Mithilfe der Bildanalysesoftware Definiens® wurden die tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten identifiziert. Die Anzahldichte der tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten (TAN/mm<sup>2</sup>) konnte so objektiv bestimmt werden.

Es ließen sich innerhalb der Präparate signifikant unterschiedliche Anzahldichten von tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten zwischen 0 bis 6711,0 TAN/mm<sup>2</sup> in den Kompartimenten nachweisen. Auch die Verteilung der tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten zwischen den Kompartimenten unterschied sich signifikant voneinander. In Tumorzentrum und Invasionsfront herrschten signifikante Unterschiede der Anzahldichten zwischen diffusen und nicht-diffusen Laurén Phänotypen. Die Anzahldichte der tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten korrelierte in Tumorzentrum und Invasionsfront signifikant mit dem Laurén Phänotyp, im Tumorzentrum zusätzlich mit dem Differenzierungsgrad und in der Invasionsfront mit der Mikrosatelliteninstabilität.

Signifikante Assoziationen mit dem Geschlecht bestanden beim Laurén Phänotyp und der Tumorlokalisation. In der multivariaten Analyse ließ sich nachweisen, dass die Menge an tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront nur für Frauen ein unabhängiger Prognosefaktor für das tumorspezifische Überleben ist.

Meine Ergebnisse weisen auf die tumorbiologische Relevanz von tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten im Magenkarzinom hin. Tumor-assoziierte neutrophile

Granulozyten sind abhängig vom Geno-/Phänotyp, zeigen ein einzigartiges räumliches und zeitliches Verteilungsmuster und sind bei Frauen sogar ein unabhängiger Prognosefaktor. Es ergeben sich Hinweise auf einen sexuellen Dimorphismus in der immunologischen Antwort auf das Magenkarzinom, was Anlass für weitere Studien gibt. Insbesondere sollte geklärt werden, ob diese Beobachtungen auch bei neoadjuvant behandelten Magenkarzinompatienten gemacht werden können. Und in welcher Form die tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten im Magenkarzinom insbesondere bei Frauen durch ein von den Männern abweichendes Chemotherapieschema oder eine Immuntherapie nutzbar gemacht werden können.

## 6 Literatur

1. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell* 2000; 100(1):57–70. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9.
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011; 144(5):646–74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
3. Koch-Institut R. Krebs in Deutschland | 2013/2014 [Stand: 17.06.2018]. Verfügbar unter: [https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs\\_in\\_Deutschland/kid\\_2017/krebs\\_in\\_deutschland\\_2017.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2017/krebs_in_deutschland_2017.pdf?__blob=publicationFile).
4. Barnes B, Hrsg. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016. Berlin: Robert Koch-Institut; 2016.
5. Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW, editors. World Cancer Report: Cancer research for cancer development. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2020. Verfügbar unter: <http://publications.iarc.fr/586>.
6. Stewart BW, Wild C. World cancer report 2014. Lyon, France, Geneva, Switzerland: International Agency for Research on Cancer; WHO Press, World Health Organization; 2014.
7. Krebs in Deutschland für 2015/2016. 12. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft. Verfügbar unter: [https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs\\_in\\_Deutschland/kid\\_2019/krebs\\_in\\_deutschland\\_2019.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf?__blob=publicationFile).
8. European Network of Cancer Registries. Stomach cancer (SC) fact sheet; 2017 [Stand: 04.09.2020]. Verfügbar unter: [https://www.enrcr.eu/sites/default/files/factsheets/ENCR\\_Factsheet\\_Stomach\\_2017.pdf](https://www.enrcr.eu/sites/default/files/factsheets/ENCR_Factsheet_Stomach_2017.pdf).
9. Remmele W, Stolte M, Rüschoff J, Hrsg. Verdauungstrakt und Peritoneum. 3., neubearb. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer; 2013. (PathologieH. H. Kreipe : W. Remmele. Begr. von W. Remmele ; 0).
10. Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; 48(13):3554–60.
11. Correa P. Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* 1992; 52(24):6735–40.
12. Saeki N, Ono H, Sakamoto H, Yoshida T. Genetic factors related to gastric cancer susceptibility identified using a genome-wide association study. *Cancer Sci* 2013; 104(1):1–8. doi: 10.1111/cas.12042.
13. Warren JR. UNIDENTIFIED CURVED BACILLI ON GASTRIC EPITHELIUM IN ACTIVE CHRONIC GASTRITIS. *The Lancet* 1983; 321(8336):1273–5. doi: 10.1016/S0140-6736(83)92719-8.
14. Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2012; 100(Pt B).
15. GOODWIN CS, ARMSTRONG JA, CHILVERS T, PETERS M, COLLINS MD, SLY L et al. Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., Respectively. *International Journal of Systematic Bacteriology* 1989; 39(4):397–405. doi: 10.1099/00207713-39-4-397.

16. Suerbaum S, Michetti P. Helicobacter pylori infection. *N Engl J Med* 2002; 347(15):1175–86. doi: 10.1056/NEJMra020542.
17. Kable ME, Hansen LM, Styer CM, Deck SL, Rakhimova O, Shevtsova A et al. Host Determinants of Expression of the Helicobacter pylori BabA Adhesin. *Sci Rep* 2017; 7:46499. doi: 10.1038/srep46499.
18. S2k-Leitlinie Helicobacter pylori und gastroduodenale Ulkuskrankheit. *Z Gastroenterol* 2016; 54(04):327–63. doi: 10.1055/s-0042-102967.
19. Group HaCC. Gastric cancer and Helicobacter pylori: A combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut* 2001; 49(3):347–53. doi: 10.1136/gut.49.3.347.
20. Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of Helicobacter pylori CagA protein. *Science* 2002; 295(5555):683–6. doi: 10.1126/science.1067147.
21. Meyer H-J, Hölscher AH, Lordick F, Messmann H, Mönig S, Schumacher C et al. Aktuelle S3-Leitlinie zur Chirurgie des Magenkarzinoms. *Chirurg* 2012; 83(1):31–7 [Stand: 19.06.2018]. Verfügbar unter: [https://www.researchgate.net/profile/Florian\\_Lordick2/publication/51840172\\_Aktuelle\\_S3-Leitlinie\\_zur\\_Chirurgie\\_des\\_Magenkarzinoms/links/56fd347a08ae3c85c0c9be16/Aktuelle\\_S3-Leitlinie-zur-Chirurgie-des-Magenkarzinoms.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Florian_Lordick2/publication/51840172_Aktuelle_S3-Leitlinie_zur_Chirurgie_des_Magenkarzinoms/links/56fd347a08ae3c85c0c9be16/Aktuelle_S3-Leitlinie-zur-Chirurgie-des-Magenkarzinoms.pdf).
22. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF). S3 Leitlinie Magenkarzinom: Langversion 2.0, 2019 AWMF Registernummer: 032/009OL, [Stand: 04.08.2020]. Verfügbar unter: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/magenkarzinom/>.
23. EPSTEIN MA, ACHONG BG, BARR YM. VIRUS PARTICLES IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S LYMPHOMA. *Lancet* 1964; 1(7335):702–3.
24. Sousa H, Pinto-Correia A-L, Medeiros R, Dinis-Ribeiro M. Epstein-Barr virus is associated with gastric carcinoma: The question is what is the significance? *World J Gastroenterol* 2008; 14(27):4347–51.
25. Abe H, Morikawa T, Saito R, Yamashita H, Seto Y, Fukayama M. In Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma a high density of CD66b-positive tumor-associated neutrophils is associated with intestinal-type histology and low frequency of lymph node metastasis. *Virchows Arch* 2016; 468(5):539–48. doi: 10.1007/s00428-016-1915-z.
26. Oliveira C, Pinheiro H, Figueiredo J, Seruca R, Carneiro F. Familial gastric cancer: Genetic susceptibility, pathology, and implications for management. *The Lancet Oncology* 2015; 16(2):e60–e70. doi: 10.1016/S1470-2045(14)71016-2.
27. Yaghoobi M, Bijarchi R, Narod SA. Family history and the risk of gastric cancer. *Br J Cancer* 2010; 102(2):237–42. doi: 10.1038/sj.bjc.6605380.
28. Lynch HT, Silva E, Wirtzfeld D, Hebbard P, Lynch J, Huntsman DG. Hereditary diffuse gastric cancer: Prophylactic surgical oncology implications. *Surg Clin North Am* 2008; 88(4):759-78, vi-vii. doi: 10.1016/j.suc.2008.04.006.
29. World Cancer Research Fund International; American Institute for Cancer Research. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: A global perspective. 1. publ. Washington, DC: AICR; 2007.

30. Cogliano VJ, Baan R, Straif K, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F et al. Preventable exposures associated with human cancers. *J Natl Cancer Inst* 2011; 103(24):1827–39. doi: 10.1093/jnci/djr483.
31. Natori T, Sata M, Washida M, Hirata Y, Nagai R, Makuuchi M. Nicotine enhances neovascularization and promotes tumor growth. *Mol Cells* 2003; 16(2):143–6.
32. Sitarz R, Maciejewski R, Polkowski WP, Offerhaus GJA. Gastroenterostoma after Billroth antrectomy as a premalignant condition. *World J Gastroenterol* 2012; 18(25):3201–6. doi: 10.3748/wjg.v18.i25.3201.
33. Borchardt H, Borrmann R, Christeller E, Dietrich A, Fischer W, Gierke E et al. *Verdauungsschlauch: Erster Teil Rachen und Tonsillen · Speiseröhre Magen und Darm · Bauchfell*. Vienna: Springer; 1926. (Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie4/1). Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-7091-5436-6>.
34. Holzheimer RG, Hrsg. *Surgical treatment: Evidence-based and problem-oriented*. München: Zuckschwerdt; 2001. Verfügbar unter: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=surg>.
35. Brierley J, Gospodarowicz MK, Wittekind C, Hrsg. *TNM classification of malignant tumours*. Eighth edition. Chichester, West Sussex, UK, Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc; 2017.
36. International Agency for Research on Cancer. *Digestive system tumours: WHO classification of tumours series, 5th edition*. 5th edition. Lyon, France; 2019.
37. LAURÉN P. THE TWO HISTOLOGICAL MAIN TYPES OF GASTRIC CARCINOMA: DIFFUSE AND SO-CALLED INTESTINAL-TYPE CARCINOMA. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica* 1965; 64(1):31–49. doi: 10.1111/apm.1965.64.1.31.
38. Becker K, Mueller JD, Schulmacher C, Ott K, Fink U, Busch R et al. Histomorphology and grading of regression in gastric carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. *Cancer* 2003; 98(7):1521–30. doi: 10.1002/cncr.11660.
39. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014; 513(7517):202–9. doi: 10.1038/nature13480.
40. Yuza K, Nagahashi M, Watanabe S, Takabe K, Wakai T. Hypermutation and microsatellite instability in gastrointestinal cancers. *Oncotarget* 2017; 8(67):112103–15. doi: 10.18632/oncotarget.22783.
41. Brierley J, Gospodarowicz MK, Wittekind C, Hrsg. *TNM classification of malignant tumours*. Eighth edition. Chichester, West Sussex, UK, Hoboken, NJ: John Wiley & Sons Inc; 2017.
42. Jørgensen JT, Hersom M. HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature. *J Cancer* 2012; 3:137–44. doi: 10.7150/jca.4090.
43. Abnet CC, Freedman ND, Kamangar F, Leitzmann MF, Hollenbeck AR, Schatzkin A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of gastric and oesophageal adenocarcinomas: Results from a cohort study and a meta-analysis. *Br J Cancer* 2009; 100(3):551–7. doi: 10.1038/sj.bjc.6604880.
44. Nam SY, Choi IJ, Park KW, Kim CG, Lee JY, Kook M-C et al. Effect of repeated endoscopic screening on the incidence and treatment of gastric cancer in health

- screenes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21(8):855–60. doi: 10.1097/MEG.0b013e328318ed42.
45. Fukase K, Kato M, Kikuchi S, Inoue K, Uemura N, Okamoto S et al. Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on incidence of metachronous gastric carcinoma after endoscopic resection of early gastric cancer: An open-label, randomised controlled trial. *The Lancet* 2008; 372(9636):392–7. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61159-9.
  46. Tarin D. Clinical and biological implications of the tumor microenvironment. *Cancer Microenviron* 2012; 5(2):95–112. doi: 10.1007/s12307-012-0112-0.
  47. Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z. Tumors as organs: Complex tissues that interface with the entire organism. *Dev Cell* 2010; 18(6):884–901. doi: 10.1016/j.devcel.2010.05.012.
  48. Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, Chan V, Fearon DF, Merad M et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. *Nat Med* 2018; 24(5):541–50. doi: 10.1038/s41591-018-0014-x.
  49. Trinchieri G. Innate inflammation and cancer: Is it time for cancer prevention? *F1000 Med Rep* 2011; 3:11. doi: 10.3410/M3-11.
  50. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454(7203):436–44. doi: 10.1038/nature07205.
  51. Burnet FM. The Concept of Immunological Surveillance. In: Schwartz RS, Hrsg. *Immunological Aspects of Neoplasia*: S. Karger AG; 1970. S. 1–27 (Progress in Tumor Research).
  52. Fridlender ZG, Albelda SM. Tumor-associated neutrophils: Friend or foe? *Carcinogenesis* 2012; 33(5):949–55. doi: 10.1093/carcin/bgs123.
  53. Shaul ME, Fridlender ZG. Cancer related circulating and tumor-associated neutrophils - subtypes, sources and function. *FEBS J* 2018. doi: 10.1111/febs.14524.
  54. Piccard H, Muschel RJ, Opdenakker G. On the dual roles and polarized phenotypes of neutrophils in tumor development and progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012; 82(3):296–309. doi: 10.1016/j.critrevonc.2011.06.004.
  55. Lüllmann-Rauch R, Paulsen F. *Taschenlehrbuch Histologie*. 4., vollständig überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2012.
  56. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell* 2009; 16(3):183–94. doi: 10.1016/j.ccr.2009.06.017.
  57. Andzinski L, Wu C-F, Lienenklaus S, Kröger A, Weiss S, Jablonska J. Delayed apoptosis of tumor associated neutrophils in the absence of endogenous IFN- $\beta$ . *Int. J. Cancer* 2014; 6:n/a-n/a. doi: 10.1002/ijc.28957.
  58. Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-associated neutrophils as a new prognostic factor in cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9(6):e98259. doi: 10.1371/journal.pone.0098259.
  59. Caruso RA, Bellocco R, Pagano M, Bertoli G, Rigoli L, Inferrera C. Prognostic value of intratumoral neutrophils in advanced gastric carcinoma in a high-risk area in northern Italy. *Mod Pathol* 2002; 15(8):831–7. doi: 10.1097/01.MP.0000020391.98998.6B.

60. Huang X, Pan Y, Ma J, Kang Z, Xu X, Zhu Y et al. Prognostic significance of the infiltration of CD163+ macrophages combined with CD66b+ neutrophils in gastric cancer. *Cancer Med* 2018; 7(5):1731–41. doi: 10.1002/cam4.1420.
61. Zhang H, Liu H, Shen Z, Lin C, Wang X, Qin J et al. Tumor-infiltrating Neutrophils is Prognostic and Predictive for Postoperative Adjuvant Chemotherapy Benefit in Patients With Gastric Cancer. *Ann Surg* 2018; 267(2):311–8. doi: 10.1097/SLA.0000000000002058.
62. Zhao J-j, Pan K, Wang W, Chen J-g, Wu Y-h, Lv L et al. The prognostic value of tumor-infiltrating neutrophils in gastric adenocarcinoma after resection. *PLoS One* 2012; 7(3):e33655. doi: 10.1371/journal.pone.0033655.
63. Li T-J, Jiang Y-M, Hu Y-F, Huang L, Yu J, Zhao L-Y et al. Interleukin-17-Producing Neutrophils Link Inflammatory Stimuli to Disease Progression by Promoting Angiogenesis in Gastric Cancer. *Clin Cancer Res* 2017; 23(6):1575–85. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0617.
64. Zhu Q, Zhang X, Zhang L, Li W, Wu H, Yuan X et al. The IL-6-STAT3 axis mediates a reciprocal crosstalk between cancer-derived mesenchymal stem cells and neutrophils to synergistically prompt gastric cancer progression. *Cell Death Dis* 2014; 5:e1295. doi: 10.1038/cddis.2014.263.
65. Hiramatsu S, Tanaka H, Nishimura J, Sakimura C, Tamura T, Toyokawa T et al. Neutrophils in primary gastric tumors are correlated with neutrophil infiltration in tumor-draining lymph nodes and the systemic inflammatory response. *BMC Immunol* 2018; 19(1):13. doi: 10.1186/s12865-018-0251-2.
66. Wang T-T, Zhao Y-L, Peng L-S, Chen N, Chen W, Lv Y-P et al. Tumour-activated neutrophils in gastric cancer foster immune suppression and disease progression through GM-CSF-PD-L1 pathway. *Gut* 2017; 66(11):1900–11. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313075.
67. Jang TJ, Park JB, Im Lee J. The Expression of CD10 and CD15 Is Progressively Increased during Colorectal Cancer Development. *Korean J Pathol* 2013; 47(4):340–7. doi: 10.4132/KoreanJPathol.2013.47.4.340.
68. Schultz J, Kaminker K. Myeloperoxidase of the leucocyte of normal human blood. I. Content and localization. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1962; 96(3):465–7. doi: 10.1016/0003-9861(62)90321-1.
69. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: Oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood* 1998; 92(9):3007–17.
70. Malle E, Furtmüller PG, Sattler W, Obinger C. Myeloperoxidase: A target for new drug development? *Br J Pharmacol* 2007; 152(6):838–54. doi: 10.1038/sj.bjp.0707358.
71. Benelli R, Morini M, Carrozzino F, Ferrari N, Minghelli S, Santi L et al. Neutrophils as a key cellular target for angiostatin: Implications for regulation of angiogenesis and inflammation. *FASEB J* 2002; 16(2):267–9. doi: 10.1096/fj.01-0651fje.
72. Park J, Wysocki RW, Amoozgar Z, Maiorino L, Fein MR, Jorns J et al. Cancer cells induce metastasis-supporting neutrophil extracellular DNA traps. *Science Translational Medicine* 2016; 8(361):361ra138-361ra138. doi: 10.1126/scitranslmed.aag1711.
73. Souto JC, Vila L, Brú A. Polymorphonuclear neutrophils and cancer: Intense and sustained neutrophilia as a treatment against solid tumors. *Med Res Rev* 2011; 31(3):311–63. doi: 10.1002/med.20185.

74. Takeshima T, Pop LM, Laine A, Iyengar P, Vitetta ES, Hannan R. Key role for neutrophils in radiation-induced antitumor immune responses: Potentiation with G-CSF. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(40):11300–5. doi: 10.1073/pnas.1613187113.
75. Falagas ME, Mourtzoukou EG, Vardakas KZ. Sex differences in the incidence and severity of respiratory tract infections. *Respiratory Medicine* 2007; 101(9):1845–63. doi: 10.1016/j.rmed.2007.04.011.
76. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(10):626–38. doi: 10.1038/nri.2016.90.
77. Dorak MT, Karpuzoglu E. Gender differences in cancer susceptibility: An inadequately addressed issue. *Front Genet* 2012; 3:268. doi: 10.3389/fgene.2012.00268.
78. Beery AK, Zucker I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci Biobehav Rev* 2011; 35(3):565–72. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.07.002.
79. Schröder J. Gender Differences in Human Sepsis. *Arch Surg* 1998; 133(11):1200. doi: 10.1001/archsurg.133.11.1200.
80. Klein SL. Immune cells have sex and so should journal articles. *Endocrinology* 2012; 153(6):2544–50. doi: 10.1210/en.2011-2120.
81. Chatterjee S. Reliability of sexual dimorphism in blood. *Indian J Physiol Pharmacol* 2014; 58(4):400–2.
82. Spitzer JA, Zhang P. Gender differences in neutrophil function and cytokine-induced neutrophil chemoattractant generation in endotoxic rats. *Inflammation* 1996; 20(5):485–98.
83. Spolarics Z, Peña G, Qin Y, Donnelly RJ, Livingston DH. Inherent X-Linked Genetic Variability and Cellular Mosaicism Unique to Females Contribute to Sex-Related Differences in the Innate Immune Response. *Front. Immunol.* 2017; 8:91. doi: 10.3389/fimmu.2017.01455.
84. Qu K, Zaba LC, Giresi PG, Li R, Longmire M, Kim YH et al. Individuality and Variation of Personal Regulomes in Primary Human T Cells. *Cell Systems* 2015; 1(1):51–61. doi: 10.1016/j.cels.2015.06.003.
85. Wang J, Syrett CM, Kramer MC, Basu A, Atchison ML, Anguera MC. Unusual maintenance of X chromosome inactivation predisposes female lymphocytes for increased expression from the inactive X. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(14):E2029–E2038. doi: 10.1073/pnas.1520113113.
86. Carrel L, Willard HF. X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature* 2005; 434(7031):400–4. doi: 10.1038/nature03479.
87. Straub RH. The Complex Role of Estrogens in Inflammation. *Endocrine Reviews* 2007; 28(5):521–74. doi: 10.1210/er.2007-0001.
88. Jaillon S, Berthenet K, Garlanda C. Sexual Dimorphism in Innate Immunity. *Clin Rev Allergy Immunol* 2017. doi: 10.1007/s12016-017-8648-x.
89. Clausen F, Behrens H-M, Krüger S, Röcken C. Sexual dimorphism in gastric cancer: Tumor-associated neutrophils predict patient outcome only for women. *J Cancer Res Clin Oncol* 2020; 146(1):53–66. doi: 10.1007/s00432-019-03082-z.

90. F. Clausen, H.-M. Behrens, S. Krüger, C. Röcken. Der Gehalt an neutrophilen Granulozyten im Magenkarzinom korreliert mit der Patientenprognose. *Der Pathologe* 2018; 39(Suppl 1):124. doi: 10.1007/s00292-018-0442-x.
91. Altman DG, McShane LM, Sauerbrei W, Taube SE. Reporting Recommendations for Tumor Marker Prognostic Studies (REMARK): Explanation and Elaboration. *PLOS Medicine* 2012; 9(5):e1001216. Verfügbar unter: <https://journals.plos.org/plosmedicine/article/file?id=10.1371/journal.pmed.1001216&type=printable>.
92. Warneke VS, Behrens H-M, Haag J, Balschun K, Böger C, Becker T et al. Prognostic and putative predictive biomarkers of gastric cancer for personalized medicine. *Diagn Mol Pathol* 2013; 22(3):127–37. doi: 10.1097/PDM.0b013e318284188e.
93. Warneke VS, Behrens H-M, Böger C, Becker T, Lordick F, Ebert MPA et al. Her2/neu testing in gastric cancer: Evaluating the risk of sampling errors. *Ann Oncol* 2013; 24(3):725–33. doi: 10.1093/annonc/mds528.
94. Metzger M-L, Behrens H-M, Böger C, Haag J, Krüger S, Röcken C. MET in gastric cancer--discarding a 10% cutoff rule. *Histopathology* 2016; 68(2):241–53. doi: 10.1111/his.12745.
95. Mathiak M, Warneke VS, Behrens H-M, Haag J, Böger C, Krüger S et al. Clinicopathologic Characteristics of Microsatellite Instable Gastric Carcinomas Revisited: Urgent Need for Standardization. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2017; 25(1):12–24. doi: 10.1097/PAI.0000000000000264.
96. SIMES RJ. An improved Bonferroni procedure for multiple tests of significance. *Biometrika* 1986; 73(3):751–4. doi: 10.1093/biomet/73.3.751.
97. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)* 1995; 57(1):289–300. doi: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.
98. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: Friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005; 77(5):598–625. doi: 10.1189/jlb.1204697.
99. Fu H, Ma Y, Yang M, Zhang C, Huang H, Xia Y et al. Persisting and Increasing Neutrophil Infiltration Associates with Gastric Carcinogenesis and E-cadherin Downregulation. *Sci Rep* 2016; 6:29762. doi: 10.1038/srep29762.
100. Berry RS, Xiong M-J, Greenbaum A, Mortaji P, Nofchissey RA, Schultz F et al. High levels of tumor-associated neutrophils are associated with improved overall survival in patients with stage II colorectal cancer. *PLoS One* 2017; 12(12). doi: 10.1371/journal.pone.0188799.
101. Brusselaers N, Maret-Ouda J, Konings P, El-Serag HB, Lagergren J. Menopausal hormone therapy and the risk of esophageal and gastric cancer. *Int J Cancer* 2017; 140(7):1693–9. doi: 10.1002/ijc.30588.
102. Palli D, Cipriani F, Decarli A, Galli M, Saieva C, Fraumeni JF et al. Reproductive history and gastric cancer among post-menopausal women. *Int J Cancer* 1994; 56(6):812–5.
103. Kim SM, Min BH, Lee J, An JY, Lee JH, Sohn TS et al. Protective Effects of Female Reproductive Factors on Lauren Intestinal-Type Gastric Adenocarcinoma. *Yonsei Med J* 2018; 59(1):28–34. doi: 10.3349/ymj.2018.59.1.28.

104. Lin SJ, Gagnon-Bartsch JA, Tan IB, Earle S, Ruff L, Pettinger K et al. Signatures of tumour immunity distinguish Asian and non-Asian gastric adenocarcinomas. *Gut* 2015; 64(11):1721–31. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308252.

## 7 Anhang

### 7.1 Supplementäre Tabellen

78

			Mucosa		Tumoroberfläche		Tumorzentrum		Invasionsfront	
			Wenig	Viel	Wenig	Viel	Wenig	Viel	Wenig	Viel
	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Geschlecht</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246	0,365	347	0,148	432	1,0	369	0,081
Weiblich			55 (53,9)	47 (46,1)	57 (44,9)	70 (55,1)	81 (50,0)	81 (50,0)	73 (56,6)	56 (43,4)
Männlich			68 (47,2)	76 (52,8)	117 (53,2)	103 (46,8)	135 (50,0)	135 (50,0)	112 (46,7)	128 (53,3)
<b>Altersgruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246	0,898	347	0,915	432	0,847	369	1,0
< 68 Jahre			65 (50,8)	63 (49,2)	85 (50,6)	83 (49,4)	106 (49,3)	109 (50,7)	91 (50,0)	91 (50,0)
≥ 68 Jahre			58 (49,2)	60 (50,8)	89 (49,7)	90 (50,3)	110 (50,7)	107 (49,3)	94 (50,3)	93 (49,7)
<b>Lokalisation</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	244	0,782	344	0,303	429	1,0	367	0,323
Proximaler Magen			39 (52,0)	36 (48,0)	62 (54,4)	52 (45,6)	69 (49,6)	70 (50,4)	58 (46,8)	66 (53,2)
Distaler Magen			84 (49,7)	85 (50,3)	110 (47,8)	120 (52,2)	145 (50,0)	145 (50,0)	127 (52,3)	116 (47,7)
<b>Laurén Typ</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246	0,196	347	0,673	432	0,008	369	<0,001*
Intestinal			56 (46,7)	64 (53,3)	99 (51,3)	94 (48,7)	100 (44,1)	127 (55,9)	92 (43,8)	118 (56,2)
Diffus			50 (58,8)	35 (41,2)	46 (46,5)	53 (53,5)	83 (61,9)	51 (38,1)	65 (70,7)	27 (29,3)
Mischtyp			8 (47,1)	9 (52,9)	11 (45,8)	13 (54,2)	15 (51,7)	14 (48,3)	13 (50,0)	13 (50,0)
Unklassifiziert			9 (37,5)	15 (62,5)	18 (58,1)	13 (41,9)	18 (42,9)	24 (57,1)	15 (36,6)	26 (63,4)
<b>T-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	246	0,679	347	0,559	432	0,053	369	0,173
T1a/b			18 (47,4)	20 (52,6)	24 (55,8)	19 (44,2)	16 (31,4)	35 (68,6)	24 (48,0)	26 (52,0)
T2			19 (54,3)	16 (45,7)	25 (52,1)	23 (47,9)	22 (42,3)	30 (57,7)	20 (40,0)	30 (60,0)
T3			44 (46,8)	50 (53,2)	69 (48,3)	74 (51,7)	99 (56,6)	76 (43,4)	77 (51,0)	74 (49,0)
T4a/b			42 (53,2)	37 (46,8)	56 (49,6)	57 (50,4)	79 (51,3)	75 (48,7)	64 (54,2)	54 (45,8)

Tabelle 7.1 - Teil 1/3

			Mucosa		Tumeroberfläche		Tumorzentrum		Invasionsfront	
			Wenig	Viel	Wenig	Viel	Wenig	Viel	Wenig	Viel
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<b>M-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246	0,618	347	0,775	432	0,902	369	0,672
M0			99 (49,0)	103 (51,0)	143 (49,7)	145 (50,3)	174 (49,7)	176 (50,3)	153 (49,5)	156 (50,5)
M1			24 (54,5)	20 (45,5)	31 (52,5)	28 (47,5)	42 (51,2)	40 (48,8)	32 (53,3)	28 (46,7)
<b>N-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	246	0,192	347	0,874	432	0,137	369	0,515
N0			38 (48,1)	41 (51,9)	54 (53,5)	47 (46,5)	53 (43,4)	69 (56,6)	51 (44,7)	63 (55,3)
N1			18 (43,9)	23 (56,1)	22 (44,0)	28 (56,0)	32 (51,6)	30 (48,4)	28 (57,1)	21 (42,9)
N2			18 (42,9)	24 (57,1)	27 (47,4)	30 (52,6)	40 (52,6)	36 (47,4)	35 (54,7)	29 (45,3)
N3a/b			49 (58,3)	35 (41,7)	71 (51,1)	68 (48,9)	91 (52,9)	81 (47,1)	71 (50,0)	71 (50,0)
<b>UICC-Stadium</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	246	0,460	347	0,938	432	0,043	369	0,371
IA/B			26 (50,0)	26 (50,0)	35 (55,6)	28 (44,4)	29 (39,7)	44 (60,3)	35 (49,3)	36 (50,7)
IIA/B			26 (44,1)	33 (55,9)	35 (45,5)	42 (54,5)	42 (44,7)	52 (55,3)	37 (44,6)	46 (55,4)
IIIA/B/C			47 (51,6)	44 (48,4)	73 (49,3)	75 (50,7)	103 (56,3)	80 (43,7)	81 (52,3)	74 (47,7)
IV			24 (54,5)	20 (45,5)	31 (52,5)	28 (47,5)	42 (51,2)	40 (48,8)	32 (53,3)	28 (46,7)
<b>LN-Ratiogruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246	0,021	347	0,915	432	0,149	369	0,533
<0,189			59 (43,1)	78 (56,9)	88 (50,6)	86 (49,4)	98 (46,2)	114 (53,8)	90 (48,4)	96 (51,6)
≥0,189			64 (58,7)	45 (41,3)	86 (49,7)	87 (50,3)	118 (53,6)	102 (46,4)	95 (51,9)	88 (48,1)
<b>L-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	237	0,697	333	0,913	415	1,0	357	0,916
L0			61 (49,2)	63 (50,8)	81 (50,6)	79 (49,4)	100 (50,0)	100 (50,0)	89 (50,9)	86 (49,1)
L1			59 (52,2)	54 (47,8)	86 (49,7)	87 (50,3)	108 (50,2)	107 (49,8)	91 (50,0)	91 (50,0)
<b>V-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	236	0,007	331	0,721	414	1,0	357	0,182
V0			115 (53,7)	99 (46,3)	149 (50,3)	147 (49,7)	185 (50,3)	183 (49,7)	164 (51,7)	153 (48,3)
V1			5 (22,7)	17 (77,3)	16 (45,7)	19 (54,3)	23 (50,0)	23 (50,0)	16 (40,0)	24 (60,0)
<b>Grading</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246	0,763	347	0,388	432	0,141	369	0,079
G1/2			30 (52,6)	27 (47,4)	48 (54,5)	40 (45,5)	44 (43,1)	58 (56,9)	42 (42,4)	57 (57,6)
G3/G4			93 (49,2)	96 (50,8)	126 (48,6)	133 (51,4)	172 (52,1)	158 (47,9)	143 (53,0)	127 (47,0)

Tabelle 7.1 - Teil 2/3

			Mucosa		Tumoroberfläche		Tumorzentrum		Invasionsfront	
			Wenig	Viel	Wenig	Viel	Wenig	Viel	Wenig	Viel
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<b>Resektionsstatus</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	243	0,026	343	0,606	428	0,769	366	0,251
R0			102 (47,4)	113 (52,6)	154 (50,5)	151 (49,5)	186 (49,5)	190 (50,5)	159 (49,1)	165 (50,9)
R1/R2			20 (71,4)	8 (28,6)	17 (44,7)	21 (55,3)	27 (51,9)	25 (48,1)	25 (59,5)	17 (40,5)
<b>H. pylori</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	222	0,013	294	1,0	367	0,670	320	0,456
Negativ			99 (54,1)	84 (45,9)	120 (49,8)	121 (50,2)	154 (49,8)	155 (50,2)	136 (51,1)	130 (48,9)
Positiv			12 (30,8)	27 (69,2)	27 (50,9)	26 (49,1)	27 (46,6)	31 (53,4)	24 (44,4)	30 (55,6)
<b>EBV-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	239	0,163	340	0,799	421	0,252	358	0,444
Negativ			117 (51,8)	109 (48,2)	162 (50,0)	162 (50,0)	203 (50,6)	198 (49,4)	172 (50,3)	170 (49,7)
Positiv			4 (30,8)	9 (69,2)	7 (43,8)	9 (56,3)	7 (35,0)	13 (65,0)	6 (37,5)	10 (62,5)
<b>MSI-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	238	0,014	341	1,0	420	0,005	358	<0,001*
MSS			117 (53,2)	103 (46,8)	158 (50,2)	157 (49,8)	201 (51,8)	187 (48,2)	172 (52,6)	155 (47,4)
MSI			4 (22,2)	14 (77,8)	13 (50,0)	13 (50,0)	8 (25,0)	24 (75,0)	4 (12,9)	27 (87,1)
<b>HER2-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	228	0,241	324	0,063	405	0,022	345	0,030
Negativ			107 (51,4)	101 (48,6)	139 (47,6)	153 (52,4)	191 (51,8)	178 (48,2)	163 (52,4)	148 (47,6)
Positiv			7 (35,0)	13 (65,0)	21 (65,6)	11 (34,4)	11 (30,6)	25 (69,4)	11 (32,4)	23 (67,6)
<b>MET-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	242	0,041	340	0,832	423	0,454	361	0,527
Negativ			108 (48,0)	117 (52,0)	160 (50,5)	157 (49,5)	193 (49,1)	200 (50,9)	167 (49,4)	171 (50,6)
Positiv			13 (76,5)	4 (23,5)	11 (47,8)	12 (52,2)	17 (56,7)	13 (43,3)	13 (56,5)	10 (43,5)

**Tabelle 7.1** - Teil 3/3 Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, dichotomisiert am Median, mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika. <sup>(1)</sup> Exakter Test nach Fischer; <sup>(2)</sup> Kendalls Tau Test; \* Signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests.

			Mucosa				Tumeroberfläche					
			Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>		
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)						
<b>Geschlecht</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246				347				0,681	0,325
Weiblich			29 (28,4)	26 (25,5)	24 (23,5)	23 (22,5)	30 (23,6)	27 (21,3)	32 (25,2)	38 (29,9)		
Männlich			32 (22,2)	36 (25,0)	38 (26,4)	38 (26,4)	57 (25,9)	60 (27,3)	55 (25,0)	48 (21,8)		
<b>Altersgruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246				347				0,737	0,002*
< 68 Jahre			31 (24,2)	34 (26,6)	29 (22,7)	34 (26,6)	51 (30,4)	34 (20,2)	51 (30,4)	32 (19,0)		
≥ 68 Jahre			30 (25,4)	28 (23,7)	33 (28,0)	27 (22,9)	36 (20,1)	53 (29,6)	36 (20,1)	54 (30,2)		
<b>Lokalisation</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	244				344				0,330	0,415
Proximaler Magen			19 (25,3)	20 (26,7)	23 (30,7)	13 (17,3)	29 (25,4)	33 (28,9)	29 (25,4)	23 (20,2)		
Distaler Magen			42 (24,9)	42 (24,9)	39 (23,1)	46 (27,2)	58 (25,2)	52 (22,6)	57 (24,8)	63 (27,4)		
<b>Laurén Typ</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246				347				0,214	0,287
Intestinal			27 (22,5)	29 (24,2)	37 (30,8)	27 (22,5)	48 (24,9)	51 (26,4)	51 (26,4)	43 (22,3)		
Diffus			24 (28,2)	26 (30,6)	15 (17,6)	20 (23,5)	28 (28,3)	18 (18,2)	25 (25,3)	28 (28,3)		
Mischtyp			6 (35,3)	2 (11,8)	2 (11,8)	7 (41,2)	4 (16,7)	7 (29,2)	3 (12,5)	10 (41,7)		
Unklassifiziert			4 (16,7)	5 (20,8)	8 (33,3)	7 (29,2)	7 (22,6)	11 (35,5)	8 (25,8)	5 (16,1)		
<b>T-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	246				347				0,319	0,893
T1a/b			6 (15,8)	12 (31,6)	9 (23,7)	11 (28,9)	9 (20,9)	15 (34,9)	11 (25,6)	8 (18,6)		
T2			9 (25,7)	10 (28,6)	8 (22,9)	8 (22,9)	10 (20,8)	15 (31,3)	15 (31,3)	8 (16,7)		
T3			20 (21,3)	24 (25,5)	28 (29,8)	22 (23,4)	31 (21,7)	38 (26,6)	32 (22,4)	42 (29,4)		
T4a/b			26 (32,9)	16 (20,3)	17 (21,5)	20 (25,3)	37 (32,7)	19 (16,8)	29 (25,7)	28 (24,8)		
<b>N-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	246				347				0,188	0,749
N0			15 (19,0)	23 (29,1)	20 (25,3)	21 (26,6)	22 (21,8)	32 (31,7)	25 (24,8)	22 (21,8)		
N1			9 (22,0)	9 (22,0)	18 (43,9)	5 (12,2)	14 (28,0)	8 (16,0)	14 (28,0)	14 (28,0)		
N2			7 (16,7)	11 (26,2)	12 (28,6)	12 (28,6)	12 (21,1)	15 (26,3)	11 (19,3)	19 (33,3)		
N3a/b			30 (35,7)	19 (22,6)	12 (14,3)	23 (27,4)	39 (28,1)	32 (23,0)	37 (26,6)	31 (22,3)		

Tabelle 7.2 - Teil 1/3

			Mucosa				Tumoroberfläche											
			Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>								
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)												
<b>M-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246				0,864				347				0,988			
M0			49 (24,3)	50 (24,8)	53 (26,2)	50 (24,8)	71 (24,7)	72 (25,0)	73 (25,3)	72 (25,0)								
M1			12 (27,3)	12 (27,3)	9 (20,5)	11 (25,0)	16 (27,1)	15 (25,4)	14 (23,7)	14 (23,7)								
<b>UICC-Stadium</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	246				0,519				347				0,969			
IA/B			10 (19,2)	16 (30,8)	13 (25,0)	13 (25,0)	13 (20,6)	22 (34,9)	16 (25,4)	12 (19,0)								
IIA/B			13 (22,0)	13 (22,0)	21 (35,6)	12 (20,3)	18 (23,4)	17 (22,1)	23 (29,9)	19 (24,7)								
IIIA/B/C			26 (28,6)	21 (23,1)	19 (20,9)	25 (27,5)	40 (27,0)	33 (22,3)	34 (23,0)	41 (27,7)								
IV			12 (27,3)	12 (27,3)	9 (20,5)	11 (25,0)	16 (27,1)	15 (25,4)	14 (23,7)	14 (23,7)								
<b>LN-Ratiogruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246				0,009				347				0,308			
<0,189			25 (18,2)	34 (24,8)	44 (32,1)	34 (24,8)	38 (21,8)	50 (28,7)	45 (25,9)	41 (23,6)								
≥0,189			36 (33,0)	28 (25,7)	18 (16,5)	27 (24,8)	49 (28,3)	37 (21,4)	42 (24,3)	45 (26,0)								
<b>L-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	237				0,047				333				0,449			
L0			25 (20,2)	36 (29,0)	38 (30,6)	25 (20,2)	37 (23,1)	44 (27,5)	45 (28,1)	34 (21,3)								
L1			34 (30,1)	25 (22,1)	22 (19,5)	32 (28,3)	46 (26,6)	40 (23,1)	41 (23,7)	46 (26,6)								
<b>V-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	236				0,046				331				0,672			
V0			56 (26,2)	59 (27,6)	50 (23,4)	49 (22,9)	71 (24,0)	78 (26,4)	76 (25,7)	71 (24,0)								
V1			3 (13,6)	2 (9,1)	9 (40,9)	8 (36,4)	10 (28,6)	6 (17,1)	10 (28,6)	9 (25,7)								
<b>Grading</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	246				0,403				347				0,790			
G1/2			11 (19,3)	19 (33,3)	13 (22,8)	14 (24,6)	23 (26,1)	25 (28,4)	20 (22,7)	20 (22,7)								
G3/G4			50 (26,5)	43 (22,8)	49 (25,9)	47 (24,9)	64 (24,7)	62 (23,9)	67 (25,9)	66 (25,5)								
<b>Resektionsstatus</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	243				0,127				343				0,911			
R0			50 (23,3)	52 (24,2)	58 (27,0)	55 (25,6)	78 (25,6)	76 (24,9)	76 (24,9)	75 (24,6)								
R1/R2			10 (35,7)	10 (35,7)	4 (14,3)	4 (14,3)	8 (21,1)	9 (23,7)	10 (26,3)	11 (28,9)								

Tabelle 7.2 - Teil 2/3

		Mucosa				Tumoroberfläche					
		Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>		
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)						
<b>H. pylori</b>	n p-Wert <sup>(1)</sup>	222				<0,001*	294				0,218
Negativ		48 (26,2)	51 (27,9)	48 (26,2)	36 (19,7)	56 (23,2)	64 (26,6)	64 (26,6)	57 (23,7)		
Positiv		7 (17,9)	5 (12,8)	5 (12,8)	22 (56,4)	14 (26,4)	13 (24,5)	8 (15,1)	18 (34,0)		
<b>EBV-Status</b>	n p-Wert <sup>(1)</sup>	239				0,311	340				0,623
Negativ		58 (25,7)	59 (26,1)	58 (25,7)	51 (22,6)	78 (24,1)	84 (25,9)	82 (25,3)	80 (24,7)		
Positiv		2 (15,4)	2 (15,4)	3 (23,1)	6 (46,2)	5 (31,3)	2 (12,5)	5 (31,3)	4 (25,0)		
<b>MSI-Status</b>	n p-Wert <sup>(1)</sup>	238				0,008	341				0,522
MSS		60 (27,3)	57 (25,9)	51 (23,2)	52 (23,6)	77 (24,4)	81 (25,7)	81 (25,7)	76 (24,1)		
MSI		0 (0,0)	4 (22,2)	9 (50,0)	5 (27,8)	7 (26,9)	6 (23,1)	4 (15,4)	9 (34,6)		
<b>HER2-Status</b>	n p-Wert <sup>(1)</sup>	228				0,522	324				0,224
Negativ		51 (24,5)	56 (26,9)	51 (24,5)	50 (24,0)	68 (23,3)	71 (24,3)	77 (26,4)	76 (26,0)		
Positiv		4 (20,0)	3 (15,0)	7 (35,0)	6 (30,0)	12 (37,5)	9 (28,1)	6 (18,8)	5 (15,6)		
<b>MET-Status</b>	n p-Wert <sup>(1)</sup>	242				0,113	340				0,678
Negativ		56 (24,9)	52 (23,1)	60 (26,7)	57 (25,3)	80 (25,2)	80 (25,2)	77 (24,3)	80 (25,2)		
Positiv		5 (29,4)	8 (47,1)	2 (11,8)	2 (11,8)	5 (21,7)	6 (26,1)	8 (34,8)	4 (17,4)		

**Tabelle 7.2** - Teil 3/3 Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile (Q<sub>1</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>), mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika. Für die Kompartimente Mucosa und Tumoroberfläche. <sup>(1)</sup> Exakter Test nach Fischer; <sup>(2)</sup> Kendalls Tau Test; \* Signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests.

			Tumorzentrum				Invasionsfront			
			Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>
			n (%)							
<b>Geschlecht</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432				0,117			
Weiblich			49 (30,2)	32 (19,8)	39 (24,1)	42 (25,9)	42 (32,6)	31 (24,0)	25 (19,4)	31 (24,0)
Männlich			59 (21,9)	76 (28,1)	69 (25,6)	66 (24,4)	50 (20,8)	62 (25,8)	67 (27,9)	61 (25,4)
<b>Altersgruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432				0,653			
< 68 Jahre			56 (26,0)	50 (23,3)	58 (27,0)	51 (23,7)	46 (25,3)	45 (24,7)	49 (26,9)	42 (23,1)
≥ 68 Jahre			52 (24,0)	58 (26,7)	50 (23,0)	57 (26,3)	46 (24,6)	48 (25,7)	43 (23,0)	50 (26,7)
<b>Lokalisation</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	429				0,696			
Proximaler Magen			36 (25,9)	33 (23,7)	39 (28,1)	31 (22,3)	24 (19,4)	34 (27,4)	34 (27,4)	32 (25,8)
Distaler Magen			71 (24,5)	74 (25,5)	69 (23,8)	76 (26,2)	68 (28,0)	59 (24,3)	57 (23,5)	59 (24,3)
<b>Laurén Typ</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432				0,005			
Intestinal			40 (17,6)	60 (26,4)	61 (26,9)	66 (29,1)	32 (15,2)	60 (28,6)	59 (28,1)	59 (28,1)
Diffus			53 (39,6)	30 (22,4)	27 (20,1)	24 (17,9)	49 (53,3)	16 (17,4)	13 (14,1)	14 (15,2)
Mischtyp			7 (24,1)	8 (27,6)	8 (27,6)	6 (20,7)	7 (26,9)	6 (23,1)	7 (26,9)	6 (23,1)
Unklassifiziert			8 (19,0)	10 (23,8)	12 (28,6)	12 (28,6)	4 (9,8)	11 (26,8)	13 (31,7)	13 (31,7)
<b>T-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	432				0,012			
T1a/b			7 (13,7)	9 (17,6)	16 (31,4)	19 (37,3)	8 (16,0)	16 (32,0)	19 (38,0)	7 (14,0)
T2			11 (21,2)	11 (21,2)	7 (13,5)	23 (44,2)	8 (16,0)	12 (24,0)	9 (18,0)	21 (42,0)
T3			46 (26,3)	53 (30,3)	47 (26,9)	29 (16,6)	40 (26,5)	37 (24,5)	38 (25,2)	36 (23,8)
T4a/b			44 (28,6)	35 (22,7)	38 (24,7)	37 (24,0)	36 (30,5)	28 (23,7)	26 (22,0)	28 (23,7)
<b>N-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	432				0,047			
N0			24 (19,7)	29 (23,8)	32 (26,2)	37 (30,3)	24 (21,1)	27 (23,7)	33 (28,9)	30 (26,3)
N1			17 (27,4)	15 (24,2)	14 (22,6)	16 (25,8)	15 (30,6)	13 (26,5)	13 (26,5)	8 (16,3)
N2			18 (23,7)	22 (28,9)	17 (22,4)	19 (25,0)	20 (31,3)	15 (23,4)	12 (18,8)	17 (26,6)
N3a/b			49 (28,5)	42 (24,4)	45 (26,2)	36 (20,9)	33 (23,2)	38 (26,8)	34 (23,9)	37 (26,1)

Tabelle 7.3 - Teil 1/3

			Tumorzentrum				Invasionsfront											
			Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>								
			n (%)															
<b>M-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432				0,885				369				0,299			
M0			85 (24,3)	89 (25,4)	87 (24,9)	89 (25,4)	74 (23,9)	79 (25,6)	82 (26,5)	74 (23,9)								
M1			23 (28,0)	19 (23,2)	21 (25,6)	19 (23,2)	18 (30,0)	14 (23,3)	10 (16,7)	18 (30,0)								
<b>UICC-Stadium</b>	n	p-Wert <sup>(2)</sup>	432				0,017				369				0,539			
IA/B			12 (16,4)	17 (23,3)	19 (26,0)	25 (34,2)	13 (18,3)	22 (31,0)	23 (32,4)	13 (18,3)								
IIA/B			23 (24,5)	19 (20,2)	25 (26,6)	27 (28,7)	21 (25,3)	16 (19,3)	21 (25,3)	25 (30,1)								
IIIA/B/C			50 (27,3)	53 (29,0)	43 (23,5)	37 (20,2)	40 (25,8)	41 (26,5)	38 (24,5)	36 (23,2)								
IV			23 (28,0)	19 (23,2)	21 (25,6)	19 (23,2)	18 (30,0)	14 (23,3)	10 (16,7)	18 (30,0)								
<b>LN-Ratiogruppe</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432				0,288				369				0,878			
<0,189			46 (21,7)	52 (24,5)	54 (25,5)	60 (28,3)	46 (24,7)	44 (23,7)	49 (26,3)	47 (25,3)								
≥0,189			62 (28,2)	56 (25,5)	54 (24,5)	48 (21,8)	46 (25,1)	49 (26,8)	43 (23,5)	45 (24,6)								
<b>L-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	415				0,486				357				0,962			
L0			49 (24,5)	51 (25,5)	45 (22,5)	55 (27,5)	43 (24,6)	46 (26,3)	45 (25,7)	41 (23,4)								
L1			57 (26,5)	51 (23,7)	59 (27,4)	48 (22,3)	46 (25,3)	45 (24,7)	45 (24,7)	46 (25,3)								
<b>V-Kategorie</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	414				0,644				357				0,400			
V0			95 (25,8)	90 (24,5)	89 (24,2)	94 (25,5)	80 (25,2)	84 (26,5)	78 (24,6)	75 (23,7)								
V1			10 (21,7)	13 (28,3)	14 (30,4)	9 (19,6)	10 (25,0)	6 (15,0)	12 (30,0)	12 (30,0)								
<b>Grading</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	432				0,001*				369				0,053			
G1/2			13 (12,7)	31 (30,4)	23 (22,5)	35 (34,3)	15 (15,2)	27 (27,3)	30 (30,3)	27 (27,3)								
G3/G4			95 (28,8)	77 (23,3)	85 (25,8)	73 (22,1)	77 (28,5)	66 (24,4)	62 (23,0)	65 (24,1)								
<b>Resektionsstatus</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	428				0,769				366				0,353			
R0			95 (25,3)	91 (24,2)	96 (25,5)	94 (25,0)	80 (24,7)	79 (24,4)	85 (26,2)	80 (24,7)								
R1/R2			11 (21,2)	16 (30,8)	12 (23,1)	13 (25,0)	12 (28,6)	13 (31,0)	6 (14,3)	11 (26,2)								

Tabelle 7.3 - Teil 2/3

			Tumorzentrum				Invasionsfront			
			Q <sub>1</sub>		Q <sub>2</sub>		Q <sub>3</sub>		Q <sub>4</sub>	
			n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<b>H. pylori</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	367				0,277			
Negativ			86	(27,8)	68	(22,0)	76	(24,6)	79	(25,6)
Positiv			10	(17,2)	17	(29,3)	17	(29,3)	14	(24,1)
<b>EBV-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	421				0,152			
Negativ			103	(25,7)	100	(24,9)	98	(24,4)	100	(24,9)
Positiv			1	(5,0)	6	(30,0)	6	(30,0)	7	(35,0)
<b>MSI-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	420				0,026			
MSS			101	(26,0)	100	(25,8)	92	(23,7)	95	(24,5)
MSI			3	(9,4)	5	(15,6)	11	(34,4)	13	(40,6)
<b>HER2-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	405				0,076			
Negativ			98	(26,6)	93	(25,2)	86	(23,3)	92	(24,9)
Positiv			4	(11,1)	7	(19,4)	13	(36,1)	12	(33,3)
<b>MET-Status</b>	n	p-Wert <sup>(1)</sup>	423				0,242			
Negativ			98	(24,9)	95	(24,2)	97	(24,7)	103	(26,2)
Positiv			6	(20,0)	11	(36,7)	9	(30,0)	4	(13,3)
							358			
							0,047			
							358			
							<0,001*			
							345			
							0,018			
							361			
							0,846			

**Table 7.3** - Teil 3/3 Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile (Q<sub>1</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>), mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika. Für die Kompartimente Tumorzentrum und Invasionsfront. <sup>(1)</sup> Exakter Test nach Fischer; <sup>(2)</sup> Kendalls Tau Test; \* Signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests.

	p-Wert <sup>(3)</sup>	Mucosa				Tumoroberfläche			
		Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>
<b>Allgemeines Ü. [Monate]</b>		0,136				0,269			
Gesamt / Events / Zensiert		58/49/9	61/45/16	60/44/16	58/43/15	87/68/19	85/66/19	82/63/19	83/69/14
Medianes Überleben		14,0 ± 2,5	18,1 ± 4,5	22,6 ± 4,4	17,9 ± 2,4	12,5 ± 2,1	17,9 ± 1,6	15,4 ± 2,9	18,2 ± 4,1
95% K.I.		9,0 - 19,0	9,2 - 27,0	14,1 - 31,1	13,1 - 22,7	8,4 - 16,7	14,8 - 21,1	9,7 - 21,0	10,3 - 26,1
<b>Tumorspezifisches Ü. [Monate]</b>		0,169				0,136			
Gesamt / Events / Zensiert		47/34/13	59/36/23	60/35/25	53/34/19	83/58/25	75/46/29	75/52/23	80/58/22
Medianes Überleben		13,2 ± 3,7	22,8 ± 8,4	24,5 ± 3,7	18,2 ± 2,2	14,2 ± 1,8	20,3 ± 7,5	15,5 ± 2,7	19,0 ± 4,1
95% K.I.		5,9 - 20,5	6,3 - 39,3	17,2 - 31,8	14,0 - 22,4	10,7 - 17,6	5,5 - 35,0	10,1 - 20,8	11,0 - 27,0
	p-Wert <sup>(3)</sup>	Tumorzentrum				Invasionsfront			
		Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>
<b>Allgemeines Ü. [Monate]</b>		0,347				0,079			
Gesamt / Events / Zensiert		107/87/20	106/80/26	105/82/23	102/80/22	89/72/17	91/65/26	90/61/29	87/72/15
Medianes Überleben		14,1 ± 1,7	17,3 ± 4,0	13,5 ± 1,8	16,0 ± 2,8	13,6 ± 2,4	15,6 ± 3,8	19,2 ± 4,8	14,1 ± 2,2
95% K.I.		10,7 - 17,4	9,4 - 25,3	9,9 - 17,1	10,4 - 21,6	8,9 - 18,2	8,3 - 23,0	9,8 - 28,5	9,8 - 18,4
<b>Tumorspezifisches Ü. [Monate]</b>		0,161				0,099			
Gesamt / Events / Zensiert		100/73/27	100/68/32	97/69/28	95/59/36	84/62/22	86/54/32	86/49/37	78/53/25
Medianes Überleben		14,2 ± 2,2	18,2 ± 4,4	15,4 ± 2,4	24,6 ± 8,2	15,0 ± 2,8	16,8 ± 6,1	24,5 ± 8,2	17,9 ± 4,7
95% K.I.		9,9 - 18,4	9,6 - 26,8	10,7 - 20,0	8,5 - 40,8	9,6 - 20,4	4,8 - 28,8	8,3 - 40,7	8,7 - 27,2

**Tabelle 7.4** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile (Q<sub>1</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben. Ü. = Überleben; <sup>(3)</sup> Logrank-Test.

	p-Wert <sup>(3)</sup>	Mucosa		Tumeroberfläche		Tumorzentrum		Invasionsfront	
		Wenig	Viel	Wenig	Viel	Wenig	Viel	Wenig	Viel
<b>Allgemeines Ü. [Monate]</b>		0,657		0,765		0,343		0,282	
Gesamt / Events / Zensiert		119/94/25	118/87/31	172/134/38	165/132/33	213/167/46	207/162/45	180/137/43	177/133/44
Medianes Überleben		16,0 ± 3,0	18,2 ± 2,9	14,7 ± 2,0	16,6 ± 1,7	15,5 ± 1,6	14,1 ± 1,5	14,7 ± 2,0	16,7 ± 2,0
95% K.I.		10,1 - 21,9	12,5 - 23,9	10,7 - 18,6	13,1 - 18,1	12,3 - 18,6	11,1 - 17,1	10,8 - 18,6	12,7 - 20,6
<b>Tumorspezifisches Ü. [Monate]</b>		0,732		0,841		0,221		0,131	
Gesamt / Events / Zensiert		106/70/36	113/69/44	158/104/54	155/110/45	200/141/59	192/128/64	170/116/54	164/102/62
Medianes Überleben		18,1 ± 4,5	22,6 ± 2,5	17,9 ± 4,1	17,3 ± 1,6	16,6 ± 1,8	17,2 ± 3,4	15,6 ± 2,4	19,9 ± 4,4
95% K.I.		9,2 - 27,0	17,8 - 27,4	9,9 - 26,0	14,1 - 20,4	13,2 - 20,0	10,5 - 23,9	10,9 - 20,4	11,3 - 28,5

**Tabelle 7.5** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt am Median, mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben. Ü. = Überleben; <sup>(3)</sup> Logrank-Test.

88

	Gesamt	Mucosa		Tumeroberfläche		Tumorzentrum		Invasionsfront	
		Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>234</sub>
<b>Allgemeines Ü. [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>		0,027	0,101		0,174		0,027	
Gesamt / Events / Zensiert	420/329/91	58/49/9	179/132/47	87/68/19	250/198/52	107/87/20	313/242/71	89/72/17	268/198/70
Medianes Überleben	14,9 ± 1,1	14,0 ± 2,5	18,2 ± 2,4	12,5 ± 2,1	16,7 ± 1,5	14,1 ± 1,7	15,6 ± 1,4	13,6 ± 2,4	16,5 ± 1,8
95% K.I.	12,7 - 17,1	9,0 - 19,0	13,5 - 22,9	8,4 - 16,7	13,1 - 19,6	10,7 - 17,4	12,9 - 18,4	8,9 - 18,2	13,0 - 20,0
<b>Tumorspezifisches Ü. [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>		0,041	0,137		0,171		0,022	
Gesamt / Events / Zensiert	392/269/123	47/34/13	172/105/67	83/58/25	230/156/74	100/73/27	292/196/96	84/62/22	250/156/94
Medianes Überleben	16,7 ± 1,5	13,2 ± 3,7	22,6 ± 2,7	14,2 ± 1,8	18,0 ± 2,2	14,2 ± 2,2	17,9 ± 2,7	15,0 ± 2,8	19,0 ± 3,5
95% K.I.	13,7 - 19,6	5,9 - 20,5	17,3 - 27,9	10,7 - 17,6	13,7 - 22,2	9,9 - 18,4	12,7 - 23,1	9,6 - 20,4	12,1 - 25,9

**Tabelle 7.6** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, dichotomisiert zwischen dem ersten Quartil (Q<sub>1</sub>) und den restlichen drei Quantilen (Q<sub>234</sub>), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben. Ü. = Überleben; <sup>(3)</sup> Logrank-Test.

		<b>Mucosa</b>									
		Weiblich				Männlich					
		<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>2</sub></b>	<b>Q<sub>3</sub></b>	<b>Q<sub>4</sub></b>	<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>2</sub></b>	<b>Q<sub>3</sub></b>	<b>Q<sub>4</sub></b>		
<b>Allgemeines Überleben [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>					0,018					0,529
Gesamt / Events / Zensiert		28/26/2	25/16/9	23/15/8	21/13/8	30/23/7	36/29/7	37/29/8	37/30/7		
Medianes Überleben		15,7 ± 4,3	21,7 ± 23,3	15,5 ± 10,7	23,6 ± 4,8	12,1 ± 2,0	16,0 ± 3,8	22,6 ± 3,0	13,2 ± 2,4		
95% K.I.		7,3 - 24,2	0 - 67,4	0 - 36,4	14,1 - 33,0	8,3 - 16,0	8,5 - 23,5	16,8 - 28,4	8,6 - 17,9		
<b>Tumorspezifisches Überleben [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>					0,020					0,367
Gesamt / Events / Zensiert		23/19/4	24/12/12	23/12/11	20/10/10	24/15/9	35/24/11	37/23/14	33/24/9		
Medianes Überleben		10,4 ± 4,6	72,2 ± 46,7	26,5 ± 12,3	20,1 ± 3,5	19,9 ± 8,3	22,8 ± 9,1	24,5 ± 3,1	13,2 ± 3,5		
95% K.I.		1,3 - 19,4	0 - 163,8	2,4 - 50,6	13,3 - 27,0	3,7 - 36,2	5,0 - 40,5	18,5 - 30,5	6,5 - 20,0		
		<b>Tumoroberfläche</b>									
		Weiblich				Männlich					
		<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>2</sub></b>	<b>Q<sub>3</sub></b>	<b>Q<sub>4</sub></b>	<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>2</sub></b>	<b>Q<sub>3</sub></b>	<b>Q<sub>4</sub></b>		
<b>Allgemeines Überleben [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>					0,097					0,399
Gesamt / Events / Zensiert		30/25/5	26/20/6	32/26/6	35/25/10	57/43/14	59/46/13	50/37/13	48/44/4		
Medianes Überleben		14,2 ± 3,7	17,9 ± 3,0	16,6 ± 2,9	33,2 ± 12,3	12,1 ± 1,8	17,3 ± 2,6	12,7 ± 3,8	13,6 ± 2,4		
95% K.I.		6,9 - 21,4	12,1 - 23,7	10,9 - 22,3	9,2 - 57,3	8,6 - 15,6	12,3 - 22,4	5,2 - 20,3	8,8 - 18,3		
<b>Tumorspezifisches Überleben [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>					0,052					0,121
Gesamt / Events / Zensiert		28/20/8	24/15/9	28/22/6	33/18/15	55/38/17	51/31/20	47/30/17	47/40/7		
Medianes Überleben		14,6 ± 3,7	17,9 ± 3,3	16,0 ± 3,8	36,0 ± 12,3	13,4 ± 4,7	30,3 ± 11,3	15,4 ± 4,7	14,0 ± 2,1		
95% K.I.		7,3 - 21,9	11,4 - 24,5	8,5 - 23,5	11,8 - 60,1	4,2 - 22,6	8,1 - 52,5	6,3 - 24,5	10,0 - 18,1		

**Tabelle 7.7** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile (Q<sub>1</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben, getrennt nach Geschlecht. In der Mucosa und der Tumoroberfläche. <sup>(3)</sup> Logrank-Test.

		Tumorzentrum							
		Weiblich				Männlich			
		Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>
<b>Allgemeines Überleben [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>	0,290				0,629			
Gesamt / Events / Zensiert		48/41/7	32/24/8	38/26/12	39/31/8	59/46/13	74/56/18	67/56/11	63/49/14
Medianes Überleben		14,2 ± 1,5	16,7 ± 2,9	16,0 ± 9,6	21,7 ± 5,0	14,1 ± 3,7	22,4 ± 5,3	13,4 ± 1,2	12,8 ± 1,6
95% K.I.		11,3 - 17,0	11,0 - 22,4	0 - 34,8	11,8 - 31,6	6,9 - 21,2	11,9 - 32,8	11,2 - 15,7	9,7 - 16,0
<b>Tumorspezifisches Ü. [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>	0,147				0,376			
Gesamt / Events / Zensiert		45/35/10	30/19/11	33/19/14	37/23/14	55/38/17	70/49/21	64/50/14	58/36/22
Medianes Überleben		12,9 ± 1,5	17,1 ± 2,4	23,6 ± 7,7	26,5 ± 13,3	17,3 ± 4,0	22,6 ± 6,5	13,4 ± 1,9	16,5 ± 9,1
95% K.I.		10,0 - 15,9	12,3 - 21,8	8,4 - 38,8	0,4 - 52,6	9,4 - 25,2	9,9 - 35,3	9,8 - 17,1	0 - 34,4
		Invasionsfront							
		Weiblich				Männlich			
		Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>
<b>Allgemeines Überleben [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>	0,002*				0,904			
Gesamt / Events / Zensiert		41/33/8	30/21/9	25/14/11	28/23/5	48/39/9	61/44/17	65/47/18	59/49/10
Medianes Überleben		12,1 ± 1,9	26,5 ± 9,5	29,8 ± 12,4	18,8 ± 9,4	19,9 ± 2,7	12,6 ± 2,7	14,0 ± 3,6	13,6 ± 2,1
95% K.I.		8,4 - 15,9	7,8 - 45,2	5,5 - 54,0	0,4 - 37,1	14,7 - 25,2	7,3 - 17,9	6,9 - 21,2	9,5 - 17,6
<b>Tumorspezifisches Ü. [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>	<0,001*				0,968			
Gesamt / Events / Zensiert		40/31/9	26/14/12	23/9/14	25/15/10	44/31/13	60/40/20	63/40/23	53/38/15
Medianes Überleben		12,9 ± 1,9	26,5 ± 9,1	38,0 ± n.k.	51,7 ± 29,7	22,6 ± 2,3	13,4 ± 3,5	19,0 ± 6,9	15,5 ± 2,8
95% K.I.		9,3 - 16,6	8,7 - 44,3	n.k.	0 - 110,0	18,0 - 27,2	6,6 - 20,3	5,6 - 32,4	10,0 - 20,9

**Tabelle 7.8** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile (Q<sub>1</sub>, Q<sub>2</sub>, Q<sub>3</sub>, Q<sub>4</sub>), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben, getrennt nach Geschlecht. Im Tumorzentrum und der Invasionsfront. Ü.= Überleben; <sup>(3)</sup> Logrank-Test; n.k.= nicht kalkulierbar; \* Signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests.

		<b>Mucosa</b>				<b>Tumoroberfläche</b>			
		Weiblich		Männlich		Weiblich		Männlich	
		<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>234</sub></b>	<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>234</sub></b>	<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>234</sub></b>	<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>234</sub></b>
<b>Allgemeines Überleben [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>		0,007		0,441		0,117		0,402
Gesamt / Events / Zensiert		28/26/2	69/44/25	30/23/7	110/88/22	30/25/5	93/71/22	57/43/14	157/127/30
Medianes Überleben		15,7 ± 4,3	21,5 ± 4,4	12,1 ± 2,0	16,4 ± 2,9	14,2 ± 3,7	18,2 ± 1,6	12,1 ± 1,8	14,0 ± 1,8
95% K.I.		7,3 - 24,2	12,8 - 30,1	8,3 - 16,0	10,6 - 22,1	6,9 - 21,4	15,0 - 21,4	8,6 - 15,6	10,5 - 17,6
<b>Tumorspezifisches Ü. [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>		0,004*		0,825		0,257		0,344
Gesamt / Events / Zensiert		23/19/4	67/34/33	24/15/9	105/71/34	28/20/8	85/55/30	55/38/17	145/101/44
Medianes Überleben		10,4 ± 4,6	23,6 ± 6,5	19,9 ± 8,3	22,6 ± 3,1	14,6 ± 3,7	18,8 ± 3,4	13,4 ± 4,7	16,5 ± 2,4
95% K.I.		1,3 - 19,4	10,8 - 36,4	3,7 - 36,2	16,6 - 28,6	7,3 - 21,9	12,0 - 25,5	4,2 - 22,6	11,9 - 21,2
		<b>Tumorzentrum</b>				<b>Invasionsfront</b>			
		Weiblich		Männlich		Weiblich		Männlich	
		<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>234</sub></b>	<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>234</sub></b>	<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>234</sub></b>	<b>Q<sub>1</sub></b>	<b>Q<sub>234</sub></b>
<b>Allgemeines Überleben [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>		0,089		0,660		<0,001*		0,820
Gesamt / Events / Zensiert		48/41/7	109/81/28	59/46/13	204/161/43	41/33/8	83/58/25	48/39/9	185/140/45
Medianes Überleben		14,2 ± 1,5	17,9 ± 2,8	14,1 ± 3,7	13,7 ± 1,3	12,1 ± 1,9	26,3 ± 7,3	19,9 ± 2,7	13,6 ± 1,2
95% K.I.		11,3 - 17,0	12,3 - 23,5	6,9 - 21,2	11,1 - 16,3	8,4 - 15,9	11,9 - 40,7	14,7 - 25,2	11,2 - 15,9
<b>Tumorspezifisches Ü. [Monate]</b>	p-Wert <sup>(3)</sup>		0,034		0,859		<0,001*		0,985
Gesamt / Events / Zensiert		45/35/10	100/61/39	55/38/17	192/135/57	40/31/9	74/38/36	44/31/13	176/118/58
Medianes Überleben		12,9 ± 1,5	18,8 ± 3,7	17,3 ± 4,0	15,6 ± 3,3	12,9 ± 1,9	36,1 ± 16,9	22,6 ± 2,3	15,5 ± 2,2
95% K.I.		10,0 - 15,9	11,6 - 25,9	9,4 - 25,2	9,2 - 22,1	9,3 - 16,6	2,9 - 69,2	18,0 - 27,2	11,1 - 19,8

**Tabelle 7.9** Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, dichotomisiert zwischen dem ersten Quartil (Q<sub>1</sub>) und den restlichen drei Quantilen (Q<sub>234</sub>), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben, getrennt nach Geschlecht. Ü. = Überleben; <sup>(3)</sup> Logrank-Test; \* Signifikant nach der Korrektur bei multiplen Tests.

## 7.2 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1.1</b> TNM-Klassifikation des Magenkarzinoms.....	12
<b>Tabelle 1.2</b> Stadieneinteilung des Magenkarzinoms nach UICC.....	13
<b>Tabelle 1.3</b> Differenzierungsgrade von Adenokarzinomen nach dem vier- oder zweistufigen Modell. ....	15
<b>Tabelle 1.4</b> Resektionsstatus von Tumoren.....	16
<b>Tabelle 3.1</b> Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in vier verschiedenen Kompartimenten des therapienaiven Magenkarzinoms. ....	37
<b>Tabelle 3.2</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, dichotomisiert zwischen dem ersten Quartil ( $Q_1$ ) und den restlichen drei Quantilen ( $Q_{234}$ ), mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika..	42 - 44
<b>Tabelle 3.3</b> Korrelation der klinisch-pathologischen Patientencharakteristika mit dem Geschlecht.....	45 - 46
<b>Tabelle 3.4</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit dem tumorspezifischen Überleben für beide Geschlechter getrennt.....	51
<b>Tabelle 3.5</b> Univariate Analyse des tumorspezifischen Überlebens der Frauen.....	52
<b>Tabelle 3.6</b> Korrelation des Geschlechts mit dem Überleben.....	53
<b>Tabelle 3.7</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit dem tumorspezifischen Überleben. Getrennt nach Geschlecht und Grading. ....	54
<b>Tabelle 3.8</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit dem tumorspezifischen Überleben. Getrennt nach Geschlecht und MET-Status. ....	56
<b>Tabelle 3.9</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit dem tumorspezifischen Überleben. Getrennt nach Geschlechtern und Laurén Phänotyp. ....	58

<b>Tabelle 3.10</b> Multivariate Überlebensanalyse bei Frauen.....	60
<b>Tabelle 7.1</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, dichotomisiert am Median, mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika. ....	78 - 80
<b>Tabelle 7.2</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile ( $Q_1, Q_2, Q_3, Q_4$ ), mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika. Für die Kompartimente Mucosa und Tumoroberfläche. ....	81 - 83
<b>Tabelle 7.3</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile ( $Q_1, Q_2, Q_3, Q_4$ ), mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika. Für die Kompartimente Tumorzentrum und Invasionsfront.....	84 - 86
<b>Tabelle 7.4</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile ( $Q_1, Q_2, Q_3, Q_4$ ), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben. ....	87
<b>Tabelle 7.5</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt am Median, mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben.....	88
<b>Tabelle 7.6</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, dichotomisiert zwischen dem ersten Quartil ( $Q_1$ ) und den restlichen drei Quantilen ( $Q_{234}$ ), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben. ...	88
<b>Tabelle 7.7</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile ( $Q_1, Q_2, Q_3, Q_4$ ), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben, getrennt nach Geschlecht. In der Mucosa und der Tumoroberfläche. ....	89
<b>Tabelle 7.8</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, geteilt in vier gleich große Quantile ( $Q_1, Q_2, Q_3, Q_4$ ), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben, getrennt nach Geschlecht. Im Tumorzentrum und der Invasionsfront.....	90
<b>Tabelle 7.9</b> Korrelation der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten, dichotomisiert zwischen dem ersten Quartil ( $Q_1$ ) und den restlichen drei Quantilen ( $Q_{234}$ ), mit dem allgemeinen und tumorspezifischen Überleben, getrennt nach Geschlecht.....	91

## 7.3 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 2.1</b> Darstellung der Benutzeroberfläche der VMP-Software und der Übersicht eines Präparates mit drei der markierten Kompartiment-Flächen: Tumoroberfläche, Tumorzentrum, Invasionsfront. ....	34
<b>Abbildung 3.1</b> Bilder einer beispielhaften Invasionsfront in Hämatoxylin-Eosin-Färbung und Myeloperoxidase-Immunfärbung. In (3) wurde jeder von Definiens Tissue Studio® erkannte Myeloperoxidase positive neutrophile Granulozyt mit einem gelben Punkt markiert. ....	36
<b>Abbildung 3.2</b> Darstellung der Unabhängigkeiten der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in den Kompartimenten innerhalb eines Präparats. ....	38
<b>Abbildung 3.3</b> Darstellung der Unabhängigkeiten der Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten innerhalb eines Kompartiments zwischen den Laurén Phänotypen. ....	39
<b>Abbildung 3.4</b> Boxplots mit den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten aufgeteilt nach dem Geschlecht in den verschiedenen Kompartimenten: peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumorzentrum und Invasionsfront. ....	40
<b>Abbildung 3.5</b> Kaplan-Meier Kurven: Allgemeines und tumorspezifisches Überleben des Gesamtkollektivs abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront mit Darstellung der Patienten unter Risiko. ....	47
<b>Abbildung 3.6</b> Kaplan-Meier Kurven: Allgemeines und tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht mit Darstellung der Patienten unter Risiko. ....	49
<b>Abbildung 3.7</b> Kaplan-Meier Kurven: Allgemeines und tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht mit Darstellung der Patienten unter Risiko. ....	50
<b>Abbildung 3.8</b> Kaplan-Meier Kurve: Tumorspezifisches Überleben abhängig vom Geschlecht mit Darstellung der Patienten unter Risiko. ....	53
<b>Abbildung 3.9</b> Kaplan-Meier Kurven: Tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht und Grading mit Darstellung der Patienten unter Risiko. ....	55

**Abbildung 3.10** Kaplan-Meier Kurven: Tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht und MET-Status mit Darstellung der Patienten unter Risiko. ....57

**Abbildung 3.11** Kaplan-Meier Kurven: Tumorspezifisches Überleben abhängig von den Anzahldichten der Myeloperoxidase positiven tumor-assoziierten neutrophilen Granulozyten in der Invasionsfront getrennt nach Geschlecht und Laurén Phänotyp mit Darstellung der Patienten unter Risiko. ....59

**Abbildung 7.1** Posterpräsentation bei der 102. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V. in Berlin, am 25.05.2018.....97

## 7.4 Publikationen

### 7.4.1 Abstract

15. Mai 2018

Der Pathologe 2018 • 39(Suppl 1):S124

**Der Gehalt an neutrophilen Granulozyten im Magenkarzinom korreliert mit der Patientenprognose.**

F. Clausen\*, H.-M. Behrens, S. Krüger, C. Röcken

Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein,  
Kiel, Deutschland

## 7.4.2 Kongressbeitrag

# Der Gehalt an neutrophilen Granulozyten im Magenkarzinom korreliert mit der Patientenprognose

Franziska Clausen, Hans-Michael Behrens, Sandra Krüger, Christoph Röcken  
 Institut für Pathologie, Christian-Albrechts-Universität, Kiel, Deutschland

### Einleitung

Tumorassoziierte neutrophile Granulozyten (TAN) stehen im Verdacht, tumorbiologisch relevant zu sein und lassen sich im Magenkarzinom (GC) auffällig oft im und um den Tumor herum nachweisen. In dieser Studie untersuchten wir die Hypothese, dass der TAN-Gehalt im GC mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika korreliert.

### Material und Methoden

In Ganzgewebeschnitten von 472 chemotherapienaiven GCs wurden die neutrophilen Granulozyten (TAN) mittels Myeloperoxidase-Immunfärbung dargestellt. Anschließend wurden die Präparate mit einem Slide-Scanner digitalisiert und mit der automatischen Bildanalyse-Software Definiens Tissue Studio wurden die TANs identifiziert. In den digitalisierten Präparaten wurden manuell die Kompartimente peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumorzentrum und Invasionsfront markiert. Aus den Flächeninhalten der markierten Areale und den darin identifizierten, quantifizierten TANs wurden die TAN-Anzahldichte der Kompartimente berechnet, in Quartile eingeteilt und mit klinisch-pathologischen Merkmalen verglichen

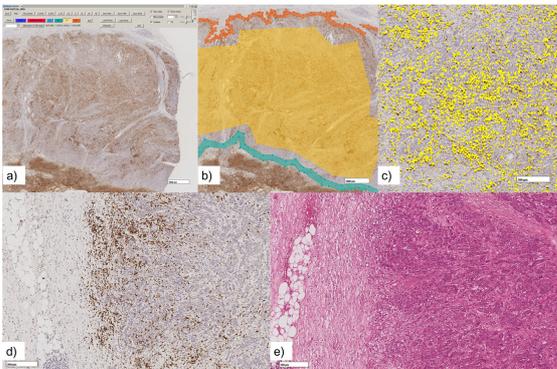


Abb. 1: a) Benutzeroberfläche von VMP. b) Präparat mit markierten Flächen (Tumoroberfläche, Tumorzentrum, Invasionsfront). c) Jeder von Definiens erkannte TAN wurde mit einem gelben Punkt markiert. d) Von TANs infiltrierte Invasionsfront. e) HE gefärbtes Referenzpräparat.

TAN-Anzahldichte [TAN/mm <sup>2</sup> ]	Mucosa				Tumoroberfläche				Tumorzentrum				Invasionsfront					
	n	25%-P	Median	75%-P	n	25%-P	Median	75%-P	n	25%-P	Median	75%-P	n	25%-P	Median	75%-P		
Intestinal	131	29.0	58.9	119.9	1.9	64.9	293	469.2	822.1	1337.4	3.2	3797.2	63.3	152.7	473.9	3.2	3797.2	
Diffus	88	21.4	48.9	109.8	2.1	202.2	103	400.5	1005.8	1498.3	5.7	3137.8	146	308	79.1	2795.3	3.0	2510.5
Mixed	18	17.9	57.4	110.6	7.3	209.7	25	556.1	1274.3	2556.8	3804.2	14.8	10	53.7	216.9	1465.5	12.9	1516.0
Unklassifiziert	26	40.3	76.9	151.0	7.1	276.7	34	561.9	815.2	1211.0	65.1	4227.0	49	65.6	376.3	256.8	6.5	5113.4

Abb. 2: Übersicht der Rohdaten. Darstellung der Quartilengrenzen (25%-Perzentile, Median und 75%-Perzentile) in den unterschiedlichen Kompartimenten.

### Ergebnisse

Der TAN-Gehalt zwischen peritumorale Mucosa, Tumoroberfläche, Tumor und Invasionsfront korreliert und ihre Mediane sind signifikant verschieden ( $p < 0,001$ ). Der Median betrug  $57/\text{mm}^2$  in der Mucosa,  $872/\text{mm}^2$  an der Tumoroberfläche,  $130/\text{mm}^2$  im Tumorzentrum und  $226/\text{mm}^2$  an der Invasionsfront. Wird das unterste mit den drei oberen Quartilen verglichen, korreliert der TAN-Gehalt mit dem Geschlecht (Tumorzentrum:  $p=0,047$ ; Invasionsfront:  $p=0,007$ ), dem Tumorstadium (Tumorzentrum:  $p=0,001$ ; Invasionsfront:  $p=0,006$ ), dem T-Stadium (Invasionsfront:  $p=0,011$ ), dem N-Stadium (Mucosa:  $p=0,012$ ), dem Epstein-Barr-Virus-Status (Tumorzentrum:  $p=0,022$ ; Invasionsfront:  $p=0,009$ ), der Microsatelliteninstabilität (MSI) (Mucosa:  $p=0,009$ ; Tumorzentrum:  $p=0,023$ ; Invasionsfront:  $p=0,002$ ); dem Laurén-Phänotyp (Tumorzentrum:  $p=0,006$ ; Invasionsfront:  $p=0,001$ ) und dem tumorspezifischen Überleben (Invasionsfront:  $p=0,012$ ). Vergleicht man das oberste mit den unteren drei Quartilen zeigt sich zudem eine Korrelation mit der Helicobacter pylori Besiedlung (Mucosa;  $p < 0,001$ ).

### Zusammenfassung

Unsere Untersuchungen bestätigen die Hypothese, dass der Gehalt an neutrophilen Granulozyten im Magenkarzinom mit klinisch-pathologischen Patientencharakteristika korreliert. Es zeigt sich, dass eine niedrige Schwelle bei den TANs einen signifikanten Unterschied macht. Lediglich bei der H. pylori Besiedlung der Mucosa sollte ein hoher Cut-off gewählt werden. Zusätzlich zeigt sich sogar eine Korrelation mit der Patientenprognose. Dass der TAN-Gehalt und die MSI einen signifikanten Zusammenhang zeigen, spricht gegen die vorherrschende Meinung, dass MSI vor allem die adaptive Immunantwort beeinflusst.

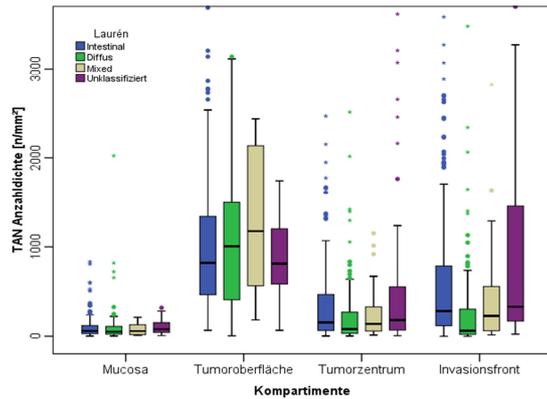


Abb. 3: Darstellung der TAN-Anzahldichte in den einzelnen Kompartimenten aufgetrennt nach Laurén-Phänotypen

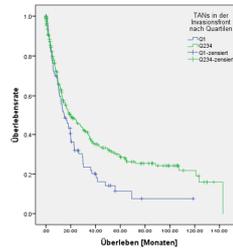


Abb. 4: Überlebensdaten in Abhängigkeit von der Anzahl der TANs an der Invasionsfront. Beim tumorspezifischen Überleben zeigt sich ein signifikanter Überlebensvorteil bei einer höheren TAN-Anzahldichte. Das mediane Überleben liegt beim unteren Quartil (Q<sub>1</sub>) bei 19,6 Monaten und bei den drei oberen Quartilen (Q<sub>3+</sub>) bei 14,6 Monaten.

	Total	Mucosa		Tumoroberfläche		Tumorzentrum		Invasionsfront	
		Q <sub>1</sub>	Q <sub>3+</sub>						
Geschlecht	n=472	263	0,557	263	0,557	263	0,557	263	0,557
Wweiblich	217 (46%)	112 (42%)	0,512	112 (42%)	0,512	112 (42%)	0,512	112 (42%)	0,512
Männlich	255 (54%)	151 (58%)	0,565	151 (58%)	0,565	151 (58%)	0,565	151 (58%)	0,565
Alter	n=472	263	0,557	263	0,557	263	0,557	263	0,557
< 65 years	312 (66%)	156 (59%)	0,569	156 (59%)	0,569	156 (59%)	0,569	156 (59%)	0,569
65-74 years	106 (22%)	53 (20%)	0,523	53 (20%)	0,523	53 (20%)	0,523	53 (20%)	0,523
≥ 75 years	54 (11%)	27 (10%)	0,535	27 (10%)	0,535	27 (10%)	0,535	27 (10%)	0,535
Stadium	n=472	263	0,557	263	0,557	263	0,557	263	0,557
I	286 (61%)	143 (54%)	0,503	143 (54%)	0,503	143 (54%)	0,503	143 (54%)	0,503
II	147 (31%)	74 (28%)	0,521	74 (28%)	0,521	74 (28%)	0,521	74 (28%)	0,521
III	39 (8%)	20 (8%)	0,515	20 (8%)	0,515	20 (8%)	0,515	20 (8%)	0,515
IV	9 (2%)	5 (2%)	0,500	5 (2%)	0,500	5 (2%)	0,500	5 (2%)	0,500
N-Stadium	n=472	263	0,557	263	0,557	263	0,557	263	0,557
N0	113 (24%)	57 (21%)	0,496	57 (21%)	0,496	57 (21%)	0,496	57 (21%)	0,496
N1	333 (71%)	166 (63%)	0,616	166 (63%)	0,616	166 (63%)	0,616	166 (63%)	0,616
N-Stadium	n=472	263	0,557	263	0,557	263	0,557	263	0,557
Negativ	333 (71%)	166 (63%)	0,616	166 (63%)	0,616	166 (63%)	0,616	166 (63%)	0,616
Positiv	139 (29%)	66 (25%)	0,500	66 (25%)	0,500	66 (25%)	0,500	66 (25%)	0,500
EBV-Status	n=472	263	0,557	263	0,557	263	0,557	263	0,557
Negativ	486 (103%)	243 (92%)	0,924	243 (92%)	0,924	243 (92%)	0,924	243 (92%)	0,924
Positiv	215 (45%)	110 (42%)	0,519	110 (42%)	0,519	110 (42%)	0,519	110 (42%)	0,519
MSI	n=472	263	0,557	263	0,557	263	0,557	263	0,557
MSI	352 (75%)	176 (67%)	0,491	176 (67%)	0,491	176 (67%)	0,491	176 (67%)	0,491
MSI	120 (25%)	61 (23%)	0,504	61 (23%)	0,504	61 (23%)	0,504	61 (23%)	0,504
MSI	352 (75%)	176 (67%)	0,491	176 (67%)	0,491	176 (67%)	0,491	176 (67%)	0,491
MSI	120 (25%)	61 (23%)	0,504	61 (23%)	0,504	61 (23%)	0,504	61 (23%)	0,504
Tumorspezifisches Überleben (Monate)	n=472	263	0,557	263	0,557	263	0,557	263	0,557
Total / Ereignis / Zensur	6050/10 / 189/142/47	3025/5 / 94/50/19	0,312	3025/5 / 94/50/19	0,312	3025/5 / 94/50/19	0,312	3025/5 / 94/50/19	0,312
Medianes Überleben	13,5	16,5	0,204	16,5	0,204	16,5	0,204	16,5	0,204
Total / Ereignis / Zensur	49/5/14	24/2/7	0,204	24/2/7	0,204	24/2/7	0,204	24/2/7	0,204
Medianes Überleben	13,5	16,5	0,204	16,5	0,204	16,5	0,204	16,5	0,204

Abb. 5: Ergebnistabelle. Das unterste (Q<sub>1</sub>) wurde gegen die restlichen drei Quartile (Q<sub>3+</sub>) aufgetragen und mit klinischen Parametern verglichen.

### 7.4.3 Fachzeitschriftenbeitrag

19. November 2019      Journal of Cancer Research and Clinical Oncology (2020)  
146:53–66

**Sexual dimorphism in gastric cancer: Tumor-associated neutrophils predict patient outcome only for women.**

Franziska Clausen<sup>1</sup>, Hans-Michael Behrens<sup>1</sup>,  
Sandra Krüger<sup>1</sup>, Christoph Röcken<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Pathology, Christian-Albrechts-University,  
Arnold-Heller-Str. 3, Haus U33, 24105 Kiel, Germany.

## 7.5 Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die beigefügte Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel genutzt habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen habe ich als solche gekennzeichnet.

Ich versichere außerdem, dass ich die beigefügte Dissertation nur in diesem und keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht habe und diesem Promotionsverfahren keine endgültig gescheiterten Promotionsverfahren vorausgegangen sind.

Kiel, den

## 7.6 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt zuerst Herrn Prof. Dr. med. C. Röcken, Direktor des Instituts für Pathologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung der Ressourcen und seine wirklich ausgezeichnete Betreuung.

Dank gilt auch den medizinisch-technischen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen, insbesondere Sandra Krüger für die Durchführung der immunpathologischen Färbungen und die Zusammenstellung des Patientenkollektivs.

Herrn Prof. Dr. med. W. Klapper, Leiter der Sektion Hämatopathologie am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel danke ich für die Bereitstellung der Bildanalysesoftware Definiens®.

Außerdem danke ich Herrn Dr. F. Vondung für das Einstellen der Bildanalyseparameter.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer. medic. H.- M. Behrens für die Hilfe bei der Bildanalyse, der statistischen Analyse und bei allen sonstigen technischen Kümmernissen. Aber auch für die vielen Gespräche und die moralische Unterstützung.

Auch meiner Patentante Anna Kiebart möchte ich für den motivierenden Zuspruch und das kritische Gegenlesen dieser Arbeit danken.

Meinen Eltern danke ich von ganzem Herzen dafür, dass sie mir bei allem stets den Rücken freihalten.

Schließlich möchte ich meinem Lebensgefährten Finn Rasmussen für seine Geduld und den liebevollen Rückhalt der letzten Jahre danken.