

#### 4 Ergebnisse

Von 209 Patienten mit einem Adenokarzinom des Magens wurden bei 39 Patienten (19%) in Knochenmarksaspiraten epitheliale Tumorzellen anhand von immunhistochemischer Färbung mit monoklonalen Zytokeratin-18 Antikörpern (Mab CK2) und klarer Zellkern-Morphologie (Abbildungen 15a und 15b) nachgewiesen. Von diesen 39 Patienten mit CK-positiven Knochenmarksbefunden unter Auswertung von  $2 \times 10^6$  Zellen wurden bei 19 Patienten 1-2 epitheliale Zellen und bei 20 Patienten mehr als 2 epitheliale Zellen, darunter 3-Zell-Cluster nachgewiesen (Abbildung 15).

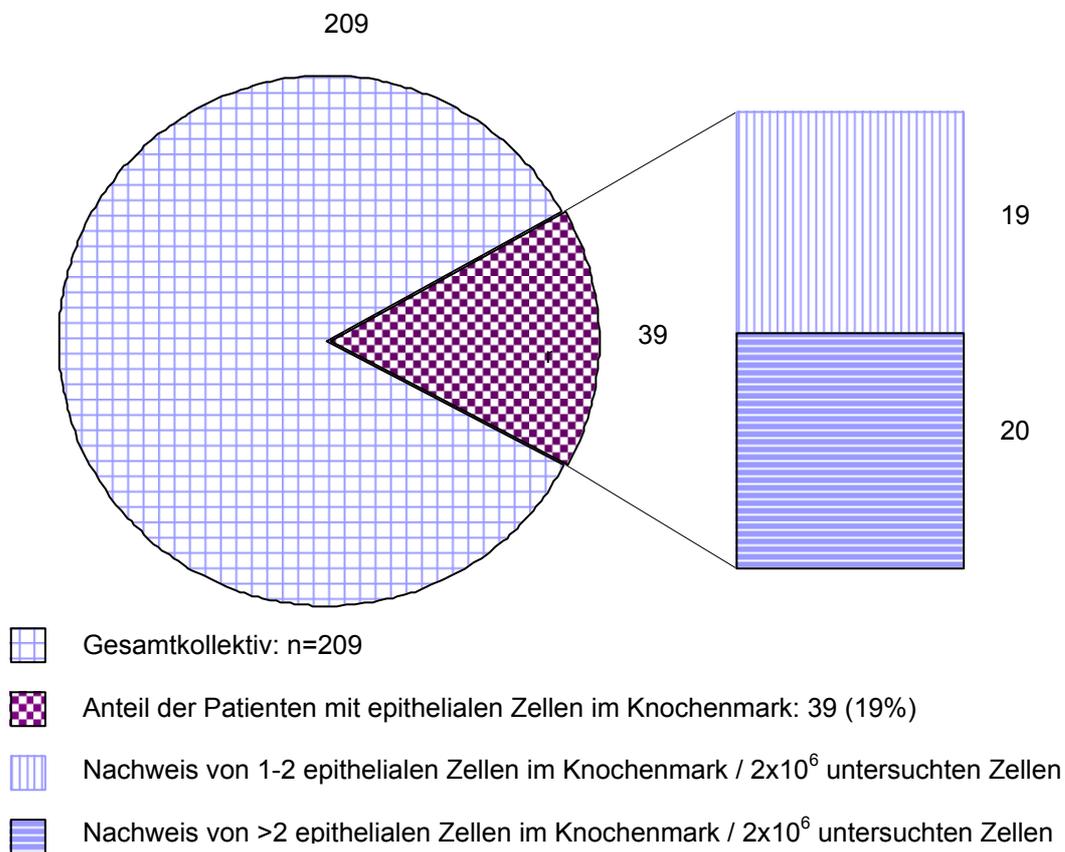


Abbildung 15: Graphische Darstellung des Patientenkollektivs hinsichtlich der Knochenmarksbefunde

Die folgende Tabelle demonstriert die klinischen und histopathologischen Charakteristika aller 209 Tumorpatienten in Korrelation zu deren Knochenmarksbeteiligung.

Tabelle 11: Klinische und histopathologische Charakteristika aller 209 Tumorpatienten in Korrelation zum Nachweis von CK-positiven Zellen im Knochenmark (Chi Quadrat Analyse mit Pearson Test; signifikante Werte sind hervorgehoben)

Variable	Kategorie	Gesamt (n)	CK-negativ	CK-positiv	p-Wert
<b>Alter (in Jahren)</b>	<60	89	77 (87%)	12 (13%)	0.556
	60-70	71	54 (76%)	17 (24%)	
	>70	49	39 (80%)	10 (20%)	
<b>Geschlecht</b>	Männlich	138	118 (86%)	20 (14%)	<b>0.009</b>
	Weiblich	71	52 (73%)	19 (27%)	
<b>Tumor-Lokalisation</b>	Proximal	80	68 (85%)	12 (15%)	0.423
	Mitte	52	39 (75%)	13 (25%)	
	Distal	58	49 (84%)	9 (16%)	
	Total	15	11 (73%)	4 (27%)	
	Multifokal	4	3 (75%)	1 (25%)	
<b>Invasionstiefe (pT*)</b>	1	35	30 (86%)	5 (14%)	0.283
	2	72	62 (88%)	10 (12%)	
	3	45	34 (76%)	11 (24%)	
	4	13	12 (92%)	1 (8%)	
<b>Lymphknoten-metastasierung (pN*)</b>	0	53	48 (91%)	5 (9%)	0.215
	1	28	26 (93%)	2 (7%)	
	2	67	52 (78%)	15 (22%)	
	3	17	12 (71%)	5 (29%)	
<b>Fernmetastasierung (M)</b>	0	124	105 (85%)	19 (15%)	<b>0.006</b>
	1	85	65 (76%)	20 (24%)	
<b>Grading (G*)</b>	1	7	7 (100%)	0 (0%)	0.939
	2	38	32 (84%)	6 (16%)	
	3	110	91 (83%)	19 (17%)	
	4	10	8 (80%)	2 (20%)	
<b>Lymphgefäß-Invasion (L*)</b>	0	69	58 (84%)	11 (16%)	0.480
	1	96	80 (83%)	16 (17%)	
<b>Veneninvasion (V*)</b>	0	122	106 (87%)	16 (13%)	0.148
	1	43	32 (84%)	11 (16%)	
<b>Lauren-Klassifikation*</b>	Diffus	39	33 (85%)	6 (15%)	0.891
	Intestinal	78	65 (83%)	13 (17%)	
	Gemischt	19	15 (79%)	4 (21%)	
	Nicht klassifiziert	29	25 (86%)	4 (14%)	
<b>UICC-Stadium*</b>	I	49	44 (90%)	5 (10%)	0.056
	II	19	19 (100%)	0 (0%)	
	III	39	31 (79%)	8 (21%)	
	IV	58	44 (79%)	14 (21%)	

\*Diese Angaben beziehen sich auf die 165 Patienten mit operativer Tumorresektion.

Patienten mit Fernmetastasierung wiesen signifikant häufiger Tumorzellen im Knochenmark auf. Von den 109 Patienten mit Status nach R0-Resektion hatten fünfzehn (14%) CK-positive Zellen im Knochenmark. 9 Patienten hatten 1-2 CK-positive Zellen und 6 Patienten >2 CK-positive Zellen im Knochenmark (siehe folgende Abbildung).

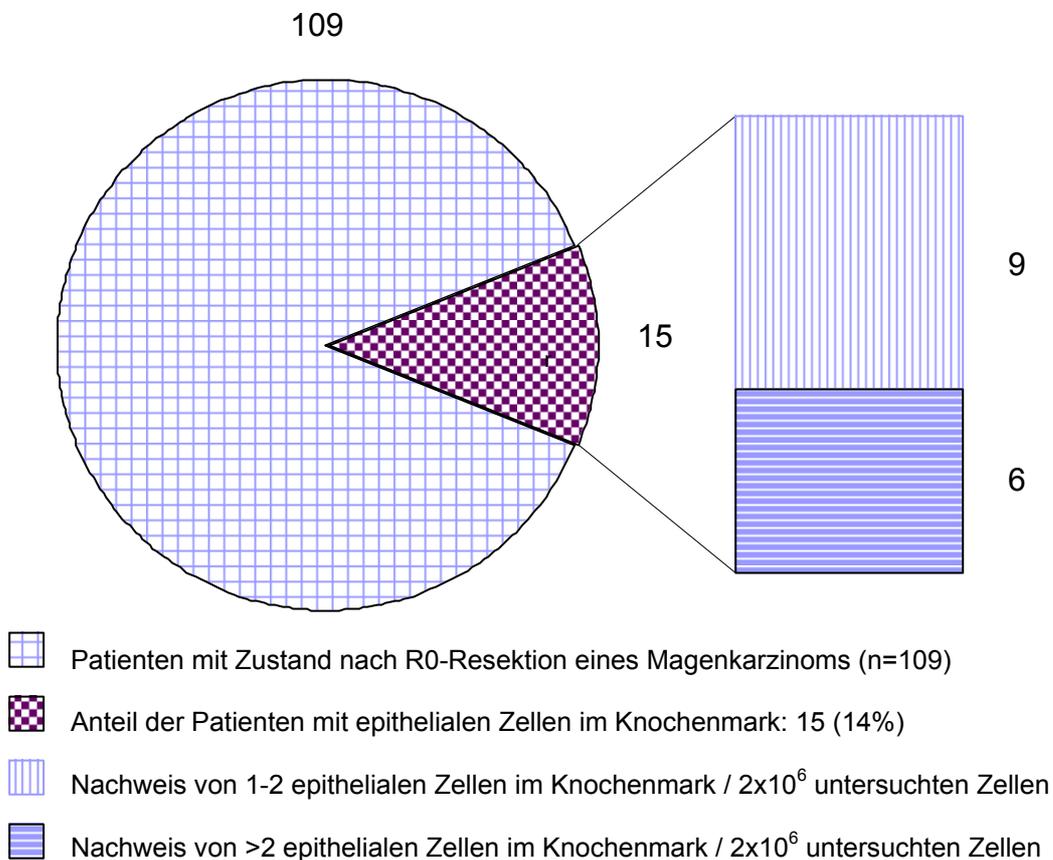


Abbildung 16: Graphische Darstellung des R0-resezierten Anteils des Patientenkollektivs hinsichtlich der Knochenmarksbefunde

Die klinischen und histopathologischen Befunde zeigten im Vergleich keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 12). Somit ist von einer homogenen Verteilung auszugehen und ein Einfluß dieser Faktoren statistisch zu vernachlässigen.

Tabelle 12: Klinische und histopathologische Charakteristika von 109 Tumorpatienten mit potentiell kurativer Resektion (R0, M0) in Korrelation zum Nachweis von CK-positiven Zellen im Knochenmark (Chi Quadrat Analyse mit Pearson Test)

Variable	Kategorie	Gesamt (n)	CK-negativ	CK-positiv	p-Wert
<b>Alter (in Jahren)</b>	<60	49	44 (90%)	5 (10%)	0.860
	60-70	37	31(84%)	6 (16%)	
	>70	23	19(83%)	4 (17%)	
<b>Geschlecht</b>	Männlich	70	61(87%)	9 (13%)	0.752
	Weiblich	39	33(85%)	6 (15%)	
<b>Tumor-Lokalisation</b>	Proximal	38	23(61%)	15 (39%)	0.869
	Mitte	26	22(85%)	4 (25%)	
	Distal	40	35(88%)	5(12%)	
	Total	3	2(67%)	1 (33%)	
	Multifokal	2	2 (100%)	0	
<b>Invasionstiefe (pT)</b>	1	32	27(84%)	5 (16%)	0.094
	2	51	47(92%)	4 (8%)	
	3	21	16(76%)	5 (24%)	
	4	5	4(80%)	1 (20%)	
<b>Lymphknoten-metastasierung (pN)</b>	0	50	45(90%)	5 (10%)	0.315
	1	21	19(90%)	2 (10%)	
	2	34	28(82%)	6 (18%)	
	3	4	2(50%)	2 (50%)	
<b>Grading (G)</b>	1	6	6(100%)	0 (0%)	0.900
	2	27	23(85%)	4 (15%)	
	3	71	60(84%)	11 (16%)	
	4	5	5(100%)	0 (0%)	
<b>Lymphgefäß-Invasion (L)</b>	0	64	54(84%)	10 (16%)	0.449
	1	45	40(89%)	5 (11%)	
<b>Veneninvasion (V)</b>	0	95	83(87%)	12 (13%)	0.304
	1	14	11(79%)	3 (21%)	
<b>Lauren-Klassifikation</b>	Diffus	30	25(83%)	5 (17%)	0.587
	Intestinal	45	39(86%)	6 (14%)	
	Gemischt	15	12(80%)	3 (20%)	
	Nicht klassifiziert	19	18(95%)	1 (5%)	
<b>UICC-Stadium</b>	I	47	42(89%)	5 (11%)	0.068
	II	18	18(100%)	0 (0%)	
	III	36	28(78%)	8 (22%)	
	IV	8	6(65%)	2(25%)	

Patienten mit positiven Knochenmarksbefunden zeigten eine signifikant erhöhte loco-regionäre Rezidivrate bei signifikant verkürzter Lokalrezidivfreiheit wie auch eine signifikant erhöhte Häufigkeit von Fernmetastasierung bei signifikant schneller auftretenden Fernmetastasen als Tumorpatienten ohne Knochenmarksbeteiligung (Tabellen 13 bis 16).

Tabelle 13: Rezidivhäufigkeit (lokal und systemisch) während der Nachbeobachtungszeit von 109 Magenkarzinompatientin mit potentiell kurativer Resektion (R0, M0) in Korrelation zum Knochenmarksstatus (Chi Quadrat Analyse mit Pearson Test)

	CK-negativ n=94	CK-positiv n=15	p-Wert
Kein Lokalrezidiv	86 (92%)	11 (73%)	0.037
Lokalrezidiv	8 (8%)	4 (27%)	
Keine Fernmetastasen	61 (65%)	5 (33%)	0.020
Fernmetastasen	33 (35%)	10 (67%)	

Tabelle 14: Rezidivhäufigkeit (lokal und systemisch) während der Nachbeobachtungszeit von 109 Magenkarzinompatientin mit potentiell kurativer Resektion (R0, M0) in Korrelation zur Anzahl CK-positiver Zellen in  $2 \times 10^6$  Knochenmarkszellen (Chi Quadrat Analyse mit Pearson Test)

	CK-negativ n=94	1-2 CK-positive Zellen n=9	>2 CK-positive Zellen n=6	p-Wert
Kein Lokalrezidiv	86 (92%)	8 (89%)	3 (50%)	0.007
Lokalrezidiv	8 (8%)	1 (11%)	3 (50%)	
Keine Fernmetastasen	61 (65%)	5 (56%)	0	0.007
Fernmetastasen	33 (35%)	4 (44%)	6 (100%)	

Tabelle 15: Zeit bis zum Auftreten von Fernmetastasen oder eines lokalen Rezidivs (Mean in Monaten) von 109 Magenkarzinompatientin mit potentiell kurativer Resektion (R0, M0) in Korrelation zum Knochenmarksstatus (Kaplan Meier Analyse, Log Rank Test)

	CK-negativ	CK-positiv	p-Wert
Zeit (Monate) bis zum Auftreten von Fernmetastasen	81	47	0.008
Zeit (Monaten) bis zum Auftreten eines Lokalrezidivs	106	71	0.0101

Tabelle 16: Zeit bis zum Auftreten von Fernmetastasen oder eines lokalen Rezidivs (Mean in Monaten) von 109 Magenkarzinompatientin mit potentiell kurativer Resektion (R0, M0) in Korrelation zur Anzahl CK-positiver Zellen in  $2 \times 10^6$  Knochenmarkszellen (Kaplan Meier Analyse, Log Rank Test).

	CK-negativ n=94	1-2 CK-positive Zellen n=13	>2 CK-positive Zellen n=2	p-Wert
Zeit (Monate) bis zum Auftreten von Fernmetastasen	81	59	31	0.0002
Zeit (Monate) bis zum Auftreten eines Lokalrezidivs	106	85	49	0.0002

Hinsichtlich der tumorbezogenen Überlebensdauer aller 209 Patienten zeigte die Patientengruppe mit CK-positiven Knochenmarksbefunden eine signifikant kürzere tumorbezogene Überlebenszeit (28 versus 54 Monate) wie in der folgenden Abbildung dargestellt.

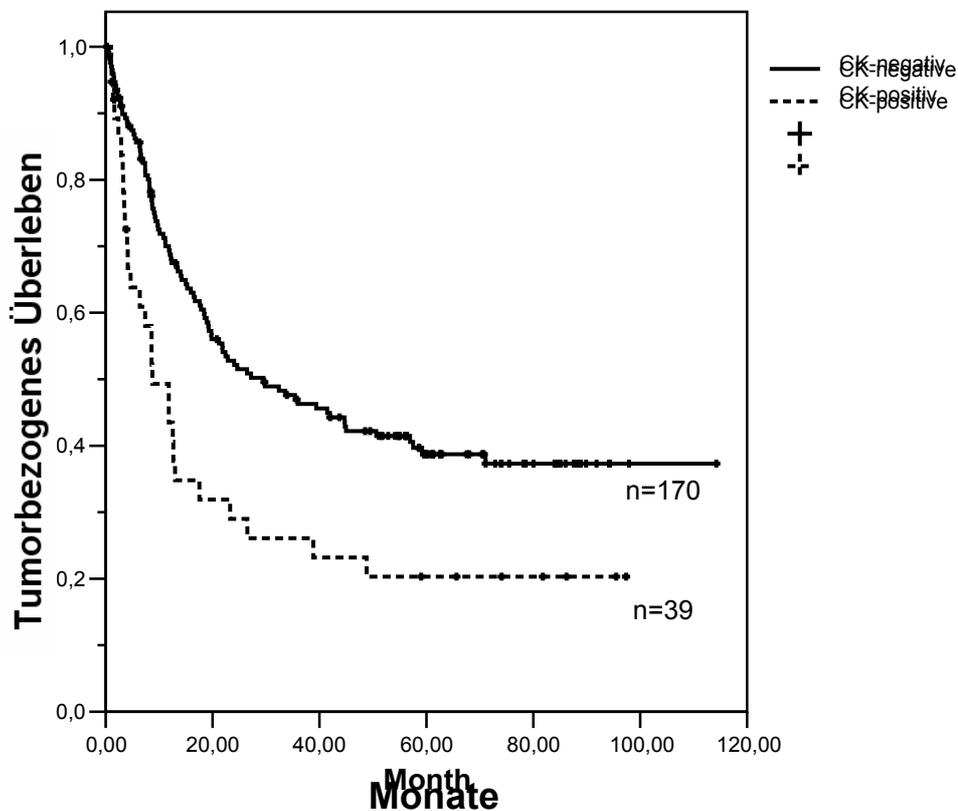


Abbildung 17: Tumorbezogenes Überleben aller 209 Magenkarzinompatienten in Korrelation zum Knochenmarksstatus (Kaplan-Meier Analyse mit Log Rank Test; mean: 28 versus 54 Monate,  $p=0.0025$ )

Diese Signifikanz begründet sich insbesondere auf den Patienten mit mehr als 2 CK-positiven Zellen pro  $2 \times 10^6$  untersuchten Knochenmarkszellen – diese überlebten im Median nur 16 Monate:

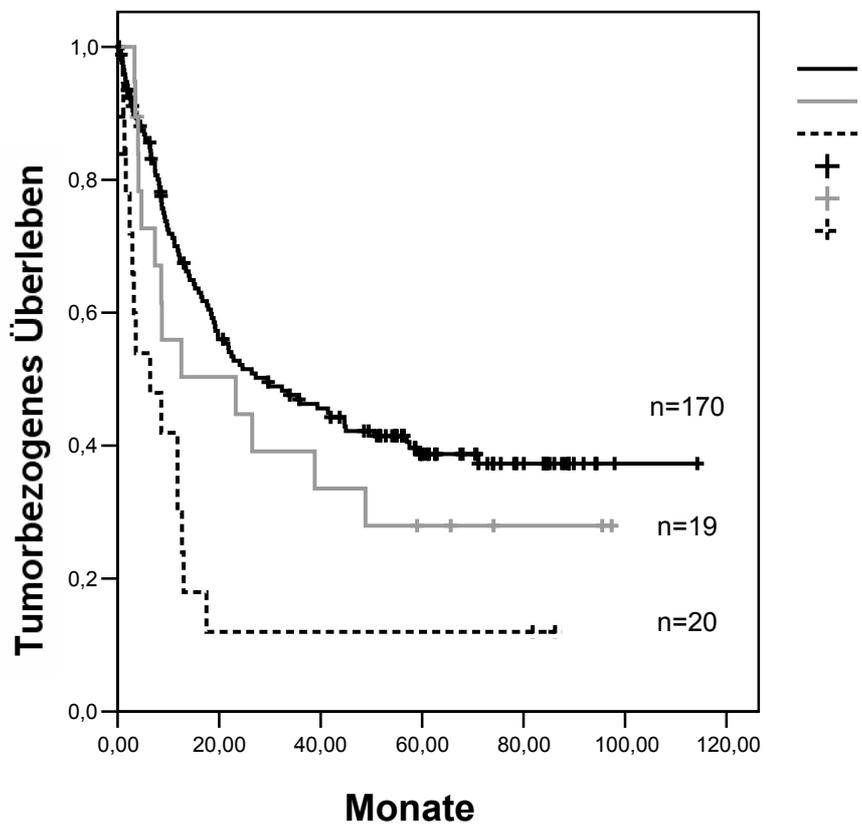


Abbildung 18: Tumorbezogenes Überleben aller 209 Magenkarzinompatienten in Korrelation zur Anzahl CK-positiver Zellen in  $2 \times 10^6$  Knochenmarkszellen (Kaplan Meier Analyse, mean: 16 Monate vs. 38 Monate vs. 54 Monate,  $p=0.0003$ ).

Während bei 109 R0-resezierten Patienten die tumorabhängige Überlebenszeit zwar deutlich, aber nicht signifikant verkürzt war (Abbildung 20), war für Patienten mit mehr als 2 CK-positiven Zellen pro  $2 \times 10^6$  untersuchten Knochenmarkszellen das tumorbezogene Überleben signifikant verkürzt (35 Monate) im Vergleich zu Patienten mit keiner oder 1-2 CK-positiven Zellen pro  $2 \times 10^6$  untersuchten Knochenmarkszellen (86 und 70 Monate; Abbildung 21, Tabelle 16).

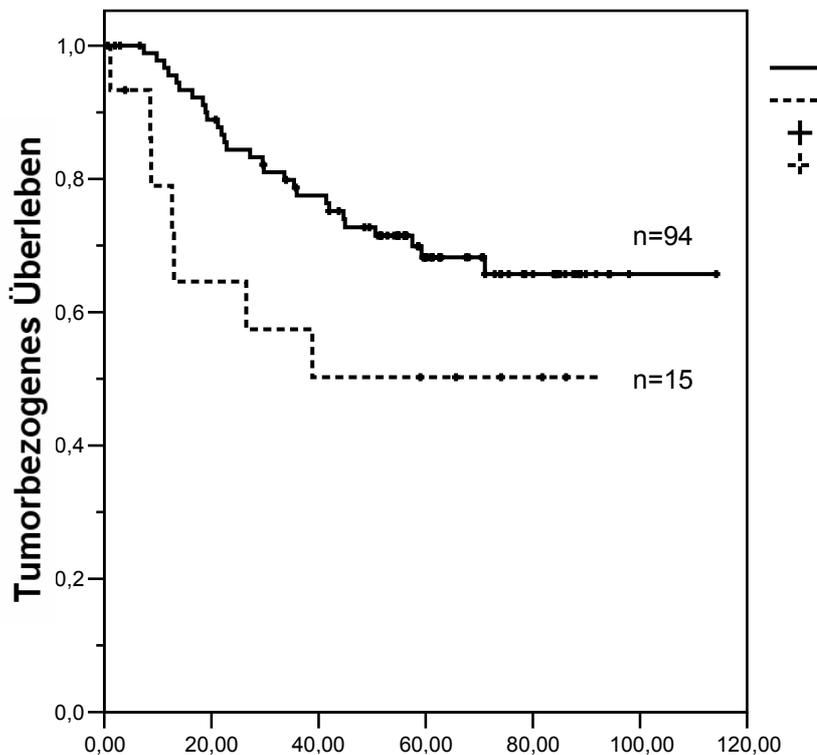


Abbildung 19: Tumorbezogenes Überleben von 109 Magenkarzinompatientin mit potentiell kurativer Resektion (R0, M0) in Korrelation zum Knochenmarksbefund (Kaplan Meier Analyse, mean: 57 vs. 86 Monate,  $p=0.0824$ ).

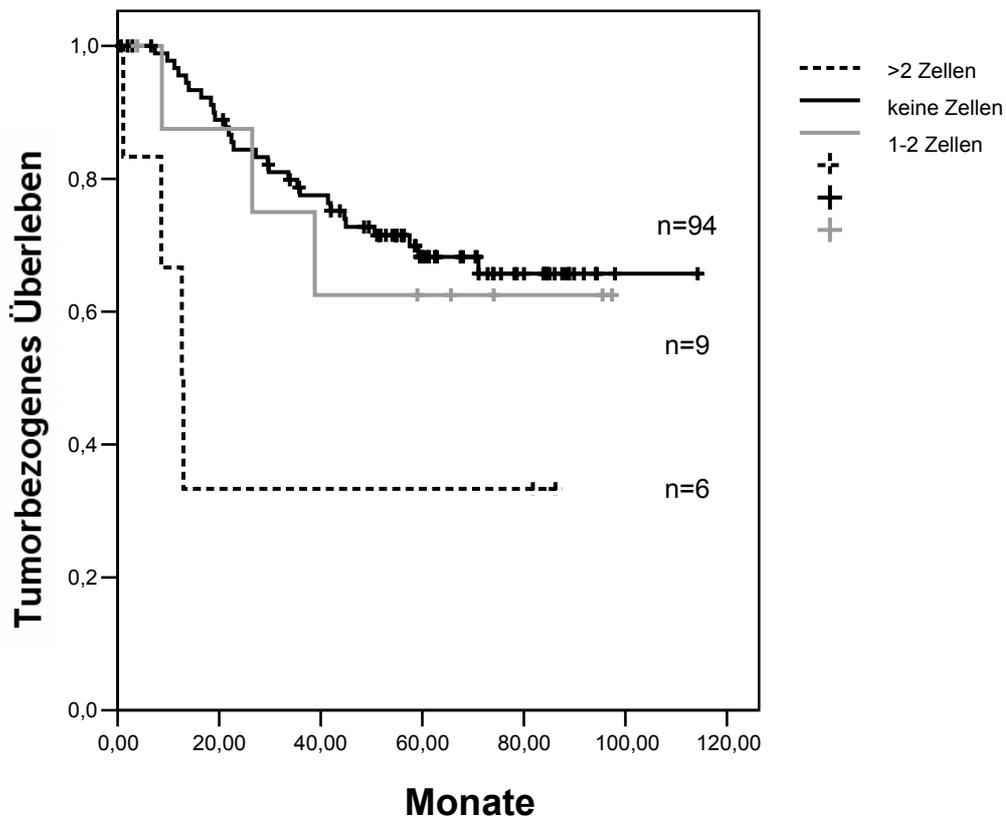


Abbildung 20: Tumorbezogenes Überleben von 109 Magenkarzinompatientin mit potentiell kurativer Resektion (R0, M0) in Korrelation zur Anzahl CK-positiver Zellen in  $2 \times 10^6$  Knochenmarkszellen (Kaplan Meier Analyse, mean: 35 Monate vs. 70 Monate vs. 86 Monate,  $p = 0.0178$ ).

Anhand einer multivariaten Cox-Regression konnten die folgenden Risikofaktoren als unabhängige prognostische Parameter für die tumorbezogene Mortalität identifiziert werden: Invasionstiefe, Lymphgefäßinvasion und das Vorliegen von mehr als 2 CK-positiven Zellen pro  $2 \times 10^6$  untersuchten Knochenmarkszellen (siehe folgende Tabellen).

Tabelle 17: Univariate vs. Multivariate Untersuchung des Knochenmarksstatus (neg. / pos.) wie auch etablierter Prognosefaktoren hinsichtlich des Tumorbezogenen Überlebens von Magenkarzinompatienten bei potentiell kurativer Resektion (R0, M0) mittels Cox Regression und Stepwise Forward Methode mit einem Konfidenzintervall von 95% (signifikante Werte hervorgehoben).

	Tumorbezogenes Überleben (univariat)	Tumorbezogenes Überleben (multivariat)
Alter	0.7619	0.642
Geschlecht	0.7767	0.853
Invasionstiefe (pT)	<b>0.00005</b>	<b>0.001</b>
Lymphknotenmetastasierung (pN)	<b>0.00005</b>	0.853
Grading (G)	0.371	0.062
Lymphgefäßinvasion (L)	<b>0.0005</b>	<b>0.001</b>
Veneninvasion (V)	0.3627	0.928
Knochenmarks-Zytologie (+/-)	<b>0.00005</b>	0.173

Tabelle 18: Multivariate Untersuchung der Bedeutung der Anzahl CK-positiver Zellen (0 / 1-2/ >2) in  $2 \times 10^6$  Knochenmarkszellen wie auch etablierter Prognosefaktoren hinsichtlich des Tumorbezogenen Überlebens von Magenkarzinompatienten bei potentiell kurativer Resektion (R0, M0) mittels Cox Regression und Stepwise Forward Methode mit einem Konfidenzintervall von 95% (signifikante Werte hervorgehoben).

	Tumorbezogenes Überleben (multivariat)
Alter	0.367
Geschlecht	0.968
Invasionstiefe (pT)	<b>0.003</b>
Lymphknotenmetastasierung (pN)	0.424
Grading (G)	0.093
Lymphgefäßinvasion (L)	<b>0.001</b>
Veneninvasion (V)	0.502
Anzahl CK-positiver Zellen im Knochenmark (0/1-2/>2)	<b>0.028</b>