

Aus der Abteilung Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie  
(Prof. Dr. med. Dipl.-Phys. F. Schöndube)  
im Zentrum Chirurgie  
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

---

**Der Stellenwert der LDH-5-Exprimierung im  
Tumor sowie der Serum-LDH als Tumormarker  
für das Plattenepithelkarzinom der Lunge**

INAUGURAL - DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizinischen Fakultät  
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von  
Stefan Wiemeyer

aus  
Osnabrück

Göttingen 2010

**Dekan:** Prof. Dr. med. C. Frömmel

**I. Berichterstatter:** Prof. Dr. med. Dipl.-Phys. F. Schöndube

**II. Berichterstatter/in:** Priv.-Doz. Dr. med. L. Lüthje

**III. Berichterstatter/in:** Prof. Dr. med. M. Oppermann

Tag der mündlichen Prüfung: 22.02.2011

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>10</b>
1.1	Epidemiologie . . . . .	10
1.1.1	Mortalität . . . . .	10
1.1.2	Inzidenz . . . . .	11
1.2	Ätiologie . . . . .	12
1.2.1	inhalatives Zigarettenrauchen . . . . .	12
1.2.2	berufsbedingte Noxen . . . . .	12
1.2.3	umweltbedingte Noxen . . . . .	13
1.3	Pathogenese . . . . .	13
1.3.1	Morphogenese . . . . .	13
1.3.2	Pathogenetik . . . . .	14
1.4	Entitäten . . . . .	15
1.4.1	Allgemein . . . . .	15
1.4.2	Plattenepithelkarzinom . . . . .	15
1.4.3	Adenokarzinom . . . . .	18
1.4.4	kleinzelliges Karzinom (SCLC) . . . . .	20
1.4.5	großzelliges Karzinom . . . . .	20
1.4.6	Narbenkarzinom . . . . .	21
1.5	Einstufung (Staging) . . . . .	21
1.5.1	Das TNM-System . . . . .	21
1.5.2	Stadiengruppierung . . . . .	22
1.6	Therapie . . . . .	25
1.6.1	Therapieprinzipien . . . . .	25
1.6.2	Stadienadaptierte Therapie . . . . .	26
1.7	Prognose . . . . .	29
1.8	Ziel der Studie . . . . .	30
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>32</b>
2.1	Datenerfassung und Auswahl des Patientenkollektivs . . . . .	32
2.2	Definierung der Kollektive . . . . .	33
2.3	Laktatdehydrogenase (LDH) . . . . .	34
2.3.1	Funktion im Serum . . . . .	34
2.3.2	Cut-off-Wert der Serum-LDH . . . . .	35

2.3.3	Funktion im Tumor . . . . .	36
2.4	Immunhistochemie . . . . .	36
2.4.1	Selektion der Tumorblöcke . . . . .	36
2.4.2	Herstellen der Tumorschnitte . . . . .	37
2.4.3	Immunhistochemische Färbung . . . . .	37
2.4.4	Lichtmikroskopische Auswertung . . . . .	39
2.4.5	Cut-off-Werte der Tumor-LDH . . . . .	47
2.5	Statistische Verfahren . . . . .	47
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>49</b>
3.1	Epidemiologische Daten . . . . .	49
3.1.1	Demographische Übersicht . . . . .	49
3.1.2	Stadienadaptierte Überlebenszeiten . . . . .	51
3.2	Serum-LDH . . . . .	53
3.2.1	Verteilung der Serum-LDH . . . . .	53
3.2.2	Präoperative Serum-LDH . . . . .	54
3.2.3	Verlauf der Serum-LDH . . . . .	55
3.3	Tumor-LDH . . . . .	57
3.3.1	LDH-5-Gesamtimpression . . . . .	57
3.3.2	LDH-5-Expression . . . . .	62
3.3.3	LDH-5-Intensität . . . . .	67
3.4	Tumor- vs. Serum-LDH . . . . .	72
3.4.1	Überblick . . . . .	72
3.4.2	LDH-5-Gesamtimpression vs. Serum-LDH . . . . .	74
3.4.3	LDH-5-Expression vs. Serum-LDH . . . . .	75
3.4.4	LDH-5-Intensität vs. Serum-LDH . . . . .	76
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>78</b>
4.1	Demographie . . . . .	78
4.2	Kollektivdefinierung . . . . .	80
4.3	Immunhistochemische Methodik . . . . .	81
4.3.1	Problematik . . . . .	81
4.3.2	Cut-off-Werte . . . . .	82
4.3.3	Bewertung der Parameter . . . . .	83
4.3.4	Validierung durch Kontrolle . . . . .	84
4.4	Serum-LDH . . . . .	85
4.4.1	Präoperative Serum-LDH . . . . .	85
4.4.2	Verlauf der Serum-LDH . . . . .	88
4.5	Tumor-LDH . . . . .	89
4.5.1	LDH-5-Gesamtimpression . . . . .	89
4.5.2	LDH-5-Expression . . . . .	91
4.5.3	LDH-5-Intensität . . . . .	92

<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>94</b>
5.1	Erkenntnisse zur einleitenden Zielsetzung . . . . .	94
5.2	Pathophysiologische Erkenntnisse . . . . .	96
5.3	Klinische Implikationen . . . . .	97
5.4	Reevaluierung des Studienkonzepts . . . . .	98
5.4.1	Datenerhebung . . . . .	98
5.4.2	Serum-LDH . . . . .	98
5.4.3	Immunhistochemische Methodik . . . . .	99
5.4.4	Cutt-off-Werte . . . . .	99
5.4.5	Immunhistochemische Bewertung . . . . .	100
5.4.6	Fazit . . . . .	100
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>101</b>

# Tabellenverzeichnis

1.1	Histologische Klassifikation maligner epithelialer Tumore der Lunge (modifiziert nach Travis et al. (2004)) . . . . .	16
1.2	Vergleich zwischen Adenokarzinom und Plattenepithelkarzinom	19
1.3	Klinische TNM-Klassifikation (modifiziert nach Greene et al. (2002) und UICC (2002)) . . . . .	23
1.4	Stadiengruppierung des Bronchialkarzinoms (modifiziert nach Greene et al. (2002) und UICC (2002)) . . . . .	24
1.5	Prognosen des NSCLC (modifiziert nach Brundage et al. 2002) . . .	29
2.1	Definition der Kollektive . . . . .	33
2.2	Physiologisches Vorkommen der Isoformen der LDH . . . . .	35
2.3	Semiquantitative Skala für die LDH-5-Expression . . . . .	42
2.4	Semiquantitative Skala für die LDH-5-Intensität . . . . .	44
3.1	Epidemiologische Daten der Patienten . . . . .	50
3.2	Verteilung der Stadien und der adjuvanten Therapie bei lebenden und verstorbenen Patienten . . . . .	51
3.3	Stadienadaptierter Vergleich der Überlebensraten zwischen Patienten mit und ohne adjuvante Therapie . . . . .	53
3.4	Vergleich der prä- und postoperativen Serum-LDH-Mittelwerte zwischen den drei Kollektiven . . . . .	54
3.5	Korrelation zw. der präoperativen Serum-LDH und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B . . . . .	55
3.6	Korrelation zw. dem Verlauf der Serum-LDH und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B . . . . .	56
3.7	Stufenadaptierte Häufigkeit der ausgewerteten Felder der LDH-5-Gesamtimpression . . . . .	57
3.8	Stadienadaptierte Verteilung der LDH-5-Gesamtimpression im Kollektiv A . . . . .	58
3.9	Korrelation zw. der LDH-5-Gesamtimpression und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Hauptuntersuchung . . .	60
3.10	Korrelation der LDH-5-Gesamtimpression zur Kontrolle . . .	61
3.11	Korrelation zw. der LDH-5-Gesamtimpression und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Kontrolluntersuchung . .	61

3.12	Korrelation der Überlebenszeit in Gruppe 1 und 2 zw. der Haupt- und Kontrolluntersuchung (Gesamtimpression) . . . . .	62
3.13	Stufenadaptierte Häufigkeit der ausgewerteten Felder sowie der berechneten Mediane der LDH-5-Expression . . . . .	62
3.14	Stadienadaptierte Verteilung der LDH-5-Expression im Kollektiv A . . . . .	63
3.15	Korrelation zw. der LDH-5-Expression und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Hauptuntersuchung . . . . .	65
3.16	Korrelation der LDH-5-Expression zur Kontrolle . . . . .	66
3.17	Korrelation zw. der LDH-5-Expression und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Kontrolluntersuchung . . . . .	66
3.18	Korrelation der Überlebenszeit in Gruppe 1 und 2 zw. der Haupt- und Kontrolluntersuchung (Expression) . . . . .	67
3.19	Stufenadaptierte Häufigkeit der ausgewerteten Felder sowie der berechneten Mediane der LDH-5-Intensität . . . . .	67
3.20	Stadienadaptierte Verteilung der LDH-5-Intensität im Kollektiv A . . . . .	68
3.21	Korrelation zw. der LDH-5-Intensität und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Hauptuntersuchung . . . . .	70
3.22	Korrelation der LDH-5-Intensität zur Kontrolle . . . . .	71
3.23	Korrelation zw. der LDH-5-Intensität und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Kontrolluntersuchung . . . . .	71
3.24	Korrelation der Überlebenszeit in Gruppe 1 und 2 zw. der Haupt- und Kontrolluntersuchung (Intensität) . . . . .	72
3.25	Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und Tumor-LDH . . . . .	72
3.26	Stadienadaptierte Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und Tumor-LDH . . . . .	74
3.27	Stadienadaptierte Korrelation zwischen der präoperativen Serum-LDH und der LDH-5-Gesamtimpression für die Haupt- und Kontrolluntersuchung . . . . .	75
3.28	Stadienadaptierte Korrelation zwischen der präoperativen Serum-LDH und der LDH-5-Expression für die Haupt- und Kontrolluntersuchung . . . . .	76
3.29	Stadienadaptierte Korrelation zwischen der präoperativen Serum-LDH und der LDH-5-Intensität für die Haupt- und Kontrolluntersuchung . . . . .	77
4.1	Vergleich der stadienabhängigen Patientenverteilung sowie der 5-JÜR zwischen der vorliegenden Studie und Naruke et al. (2001) . . . . .	79
4.2	Studien, die die Serum-LDH als unabhängige Variable geprüft haben . . . . .	87

# Abbildungsverzeichnis

2.1	Energiegewinnung . . . . .	35
2.2	Indirekte Immunhistochemie (Zwei-Schritt-Methode) . . . . .	38
2.3	Beispiel einer Hämatoxylin-Eosin- und LDH-5-Färbung: Links: Lungenparenchym, Mitte: Tumor, Rechts: Nekrose . . . . .	40
2.4	LDH-5-Gesamtimpression der „Stufe 1“ in 25facher Vergröße- rung . . . . .	41
2.5	LDH-5-Gesamtimpression der „Stufe 5“ in 25facher Vergröße- rung . . . . .	42
2.6	Beispiel der LDH-5-Expression in 100facher Vergrößerung . . .	43
2.7	Beispiel der LDH-5-Intensität in 100facher Vergrößerung . . .	45
2.8	Auswertungsbogen . . . . .	46
3.1	Überlebenszeit des Gesamtkollektivs . . . . .	49
3.2	Stadienadaptierte Überlebenszeit . . . . .	52
3.3	Verteilung der Serum-LDH . . . . .	53
3.4	Korrelation zw. der präoperativen Serum-LDH und der Über- lebenszeit . . . . .	54
3.5	Korrelation zw. dem Verlauf der Serum-LDH und der Über- lebenszeit . . . . .	56
3.6	Stufenadaptierte Verteilung der LDH-5-Gesamtimpression . . .	58
3.7	Korrelation zw. LDH-5-Gesamtimpression und Überlebens- zeit im Kollektiv A . . . . .	58
3.8	Korrelation zw. LDH-5-Gesamtimpression und Überlebens- zeit im Kollektiv B . . . . .	59
3.9	Korrelation der LDH-5-Gesamtimpression zur Kontrolle . . . .	60
3.10	Stufenadaptierte Verteilung der LDH-5-Expression . . . . .	62
3.11	Korrelation zw. LDH-5-Expression und Überlebenszeit im Kol- lektiv A . . . . .	63
3.12	Korrelation zw. LDH-5-Expression und Überlebenszeit im Kol- lektiv B . . . . .	64
3.13	Korrelation der LDH-5-Expression zur Kontrolle . . . . .	65
3.14	Stufenadaptierte Verteilung der LDH-5-Intensität . . . . .	67
3.15	Korrelation zw. LDH-5-Intensität und Überlebenszeit im Kol- lektiv A . . . . .	68



3.16	Korrelation zw. LDH-5-Intensität und Überlebenszeit im Kollektiv B . . . . .	69
3.17	Korrelation der LDH-5-Intensität zur Kontrolle . . . . .	70
3.18	Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und Tumor-LDH .	73
3.19	Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und LDH-5-Gesamtimpression . . . . .	74
3.20	Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und LDH-5-Expression . . . . .	75
3.21	Korrelation zw. präop. Serum-LDH und LDH-5-Intensität . .	76

# Abkürzungsverzeichnis

<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>Acetyl-CoA</b>	Acetyl-Koenzym A
<b>AJCC</b>	American Joint Committee on Cancer
<b>AK-Diluent</b>	Antikörper-Diluent
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>bi. dest.</b>	Bidestillatus, doppelt destilliertes Wasser
<b>BK</b>	Bronchialkarzinom
<b>bzw.</b>	beziehungsweise
<b>CEA</b>	Carcino-Embryonales Antigen
<b>CK</b>	Zytokeratin
<b>DAB</b>	Diaminobenzidin
<b>3D-CRT</b>	Three-dimensional conformal radiation therapy
<b>DFG</b>	Deutsche Forschungsgesellschaft
<b>FHIT</b>	fragile histidine triade
<b>GEKID</b>	Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland
<b>GRD</b>	Gesamtreferenzdosis
<b>IARC</b>	International Agency for Research on Cancer
<b>5-JUER</b>	5-Jahresüberlebensrate
<b>Kfz</b>	Kraftfahrzeug
<b>LDH</b>	Laktatdehydrogenase
<b>LK</b>	Lymphknoten
<b>LOH</b>	Loss of Heterogeneity, Verlust der Heterogenität
<b>NAD<sup>+</sup></b>	Nikotinamidadenosindinukleotid - oxidierte Form
<b>NADH/H<sup>+</sup></b>	Nikotinamidadenosindinukleotid - reduzierte Form
<b>NSCLC</b>	Non small cell lung cancer, nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom
<b>PAH</b>	polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
<b>Rb</b>	Retinoblastoma
<b>RKI</b>	Robert Koch-Institut
<b>s.</b>	siehe
<b>SCC</b>	Squamous cell carcinoma, Plattenepithelkarzinom
<b>SCLC</b>	Small Cell Carcinoma, kleinzelliges Bronchialkarzinom

<b>sog.</b>	sogenannt
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>TNM</b>	T=Tumor, N=Nodus (Lymphknoten), M=Fernmetastase
<b>TP53</b>	Tumorsuppressorgen P53
<b>TSNA</b>	Tabak-spezifische N-Nitrosamine
<b>UICC</b>	Union internationale contre le cancer

# Kapitel 1

## Einleitung

### 1.1 Epidemiologie

#### 1.1.1 Mortalität

Das Bronchialkarzinom ist die häufigste zum Tode führende maligne Erkrankung weltweit (Korst and Ginsberg 2001; Häußinger and Kohlhäufel 2006; Jakschik und Blumenthal 1999). In Deutschland sterben etwa 40000 Menschen jährlich am Bronchialkarzinom (Hüttemann 2001) mit einer Mortalität von  $49,5/100000$  Einwohner gemittelt aus beiden Geschlechtern, wobei die Mortalität bei Männern  $71,6/100000$  und bei Frauen  $28,2/100000$  beträgt. Somit steht die Mortalität beider Geschlechter zusammen auf dem vierten Platz aller zum Tode führenden Krankheiten in Deutschland (chron. ischämische Herzkrankheit:  $98,2/100000$ , akuter Myokardinfarkt:  $74/100000$ , Herzinsuffizienz:  $58,1/100000$ ); unter Männern sogar auf dem dritten und unter Frauen auf dem siebten Platz. Dies macht 5% aller zum Tode führender Krankheiten aus (Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2006). Unter ausschließlicher Betrachtung der Krebstodesfälle macht der Lungenkrebs unter Männern etwa 26% und unter Frauen etwa 10% aller Todesfälle aus (RKI and GEKID 2006). Bei Frauen steigt die Mortalitätsrate weiterhin an, wohingegen sie bei den Männern tendenziell abfällt bzw. stagniert. Auch in USA steht das Bronchialkarzinom an der Spitze aller zum Tode führenden malignen Erkrankungen mit einem Anteil von 28,76% (Jemal et al. 2006). Die Mortalität bei Frauen ist in den USA seit 1950 um 500% gestiegen und hat 1987 sogar die des Mammakarzinoms übertroffen (Jakschik und Blumenthal 1999) - eine Folge der immer erfolgreicherer Behandlung des Mammakarzinoms bei nur kaum besser werdender Prognose des Bronchialkarzinoms und der Zunahme des Rauchverhaltens unter Frauen in den letzten 50 Jahren. Der Gipfel der Mortalitätsraten bei Männern wurde beim Bronchialkarzinom in den USA 1993 erreicht, so dass seitdem die Mortalität am Bronchialkarzinom unter Männern sinkt. Im Gegensatz dazu stieg die Mortalität bei Frauen im zuletzt erhobenen Zeitraum zwischen 1995 und 2002 als einzige weiterhin jährlich

um 0,3% an. Die Mortalitätsraten bei den drei weiteren häufigsten malignen Erkrankungen, d.h. die des Kolon- /Rektumkarzinoms mit 9,8% aller Karzinome, die des Mammakarzinoms mit 7,3% aller Karzinome und die des Prostatakarzinoms mit 4,8% aller Karzinome, sind bei Männern sowie Frauen rückläufig (Jemal et al. 2006).

### 1.1.2 Inzidenz

Ähnlich dem Verlauf der Mortalität verhält sich auch die Inzidenz des Bronchialkarzinoms. In Deutschland zeigte sich am Beispiel des Saarlandes, dass seit 1970 kein Anstieg der Inzidenz unter Männern mehr zu beobachten ist, wobei sich die Inzidenz bei Frauen allerdings fast verdreifacht hat (Dhom 2004). Obwohl dieser Anstieg unter Frauen langsam zurückgeht, gleicht sich das Verhältnis zwischen Männern und Frauen immer weiter an, so dass es erstmalig eine gleiche Inzidenz zwischen Männern und Frauen mit einem Erkrankungsalter unter 40 Jahren gegeben hat (RKI und GEKID 2006). Im Jahr 2002 gab es über alle Altersgruppen gemittelt bei Männern 32550 Neuerkrankungen mit einer Inzidenzrate von  $66,8/100000$  und bei Frauen 12450 Neuerkrankungen mit einer Inzidenzrate von  $21/100000$ . Das mittlere Erkrankungsalter, also die Hauptaltersgruppe, lag bei 68 Jahren (Gesundheitsberichterstattung des Bundes 2006). Wird nun die Inzidenz in Bezug zur Letalität gesetzt und mit anderen Karzinomen verglichen, wird die Aggressivität des Bronchialkarzinoms deutlich:

- Bei Männern beträgt die Inzidenz von Prostatakarzinomen in Bezug auf alle Karzinome 33% und die Letalität 9%, wobei die Inzidenz von Bronchialkarzinomen „lediglich“ 13% beträgt, aber die Letalität 31%.
- Bei Frauen beträgt die Inzidenz von Mammakarzinomen in Bezug auf alle Karzinome 31% und die Letalität 15%, wobei die Inzidenz von Bronchialkarzinomen „lediglich“ 12% beträgt, aber die Letalität 26% (Jemal et al. 2006).

Diese extrem schlechte Prognose des Bronchialkarzinoms spiegelt sich auch in den Kosten für die verschiedenen kurativen sowie palliativen Therapiestrategien wider, die der Staat zu tragen hat. Geschätzt fallen jedes Jahr 3,5 Milliarden Euro für die Versorgung von Atemwegs- und Lungenerkrankungen an (Häußinger and Kohlhäufel 2006), wobei das Bronchialkarzinom selbst – nach Schätzungen des Bundes im Jahr 2004 – etwa 1,3 Milliarden Euro davon verschlang. Die Devise kann also nur lauten, die Prävention, Früherkennung sowie die Therapie dieser schwerwiegenden Erkrankung weiterhin zu optimieren.

## 1.2 Ätiologie

### 1.2.1 inhalatives Zigarettenrauchen

Haupttrisikofaktor für die Entwicklung eines Bronchialkarzinoms ist zu 85% das inhalative Zigarettenrauchen (Häußinger and Kohlhäufel 2006; Hüttemann 2001). Dabei korreliert die Dauer und Anzahl des Zigarettenkonsums, die standardisiert in Packyears angegeben wird, direkt mit der Häufigkeit des Auftretens von Lungenkrebs (Sobue et al. 2002, Mizuno et al. 1989). Ein Packyear wird definiert als der Genuss von einer Schachtel Zigaretten (20 Stück) pro Tag über ein Jahr. Tückisch dabei ist die Tatsache, dass zwischen der hauptsächlichen Exposition des Zigarettenkonsums und der klinischen Erstmanifestation Jahrzehnte liegen, d.h., eine Zeitspanne von 20-30 Jahren bei einem Konsum von 20-30 Packyears (Hüttemann 2001). Wird ein Leben lang geraucht, so erhöht sich das Risiko, ein BK zu entwickeln, um das 20-30fache gegenüber einem Nichtraucher (Tyczyński et al. 2002). Bei Passivrauchern ist das relative Risiko ein Bronchialkarzinom zu entwickeln um 1,25 erhöht, unabhängig von der histologischen Klassifizierung (Bofetta 2002). Verantwortlich sind über 55 Karzinogene im Tabakrauch, von denen die polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe und Nitrosamine als besonders gefährlich hervorzuheben sind (Hecht 1999). Obwohl durch das Rauchen das Risiko für das Auftreten aller Arten von Lungenkrebs erhöht ist, so ist das Risiko für die Entwicklung eines Plattenepithelkarzinoms der Lunge am größten. Gegenüber Nichtrauchern ist das relative Risiko für Zigaretten konsumierende Männer, ein Plattenepithelkarzinom bzw. ein kleinzelliges Lungenkarzinom (SCLC) zu entwickeln, 58-fach erhöht. Im Gegensatz dazu ist das Risiko, ein Adenokarzinom zu entwickeln, 8-fach erhöht. Bei tabakrauchenden Frauen ist der Anstieg des relativen Risikos mit einer 18-fachen Erhöhung für die Entwicklung eines Plattenepithelkarzinom bzw. SCLC und einer 4-fachen Erhöhung für die Entwicklung eines Adenokarzinom etwas geringer als bei Männern (Simonato et al. 2001).

### 1.2.2 berufsbedingte Noxen

Ein weiterer Risikofaktor für die Entwicklung eines Bronchialkarzinoms sind die berufsbedingten Noxen, allen voran Asbest. Dieses Silikat-Mineral wird in verschiedene Gruppen unterteilt, je nachdem, ob die Fasern aus Krokydolith, Klinochrysotil, Grunerit, Anthophyllit oder Aktinolith bestehen. Die gesundheitsschädigende Wirkung zeigt sich bei Aufnahme in die Lunge in einem 6-fach erhöhten relativen Risiko, ein Bronchialkarzinom zu entwickeln (Bilello et al. 2002); in Kombination mit Rauchen ist das relative Risiko sogar 60-fach erhöht (Hammond et al. 1979). Beim Pleuramesotheliom sind Asbestfasern sogar in 50% der Fälle die Ursache für die Entwicklung. Neben Asbest sind Arsen, Chrom-6-Verbindungen, Dichlordiäthylsul-

fid, Haloether, ionisierende Strahlen, Kokerei-Rohgase, Nickelmetall sowie Quarzstaub nach deutscher Einstufung (Kanzerogenitätsklassen 1 und 2 der DFG-Senatskommission) bzw. IARC-Einstufung (Klasse 1 und 2A) als humankanzerogen gelistet. Diese Karzinogene sind zahlenmäßig jedoch nur für einen Bruchteil der Bronchialkarzinome verantwortlich, was unter anderem den immer besser werdenden Arbeitsschutzmaßnahmen in den letzten Jahren zuzuschreiben ist (Popp et al. 2003). Bei der beruflich exponierten Radonstrahlung waren vor allem die Mitarbeiter der ehemaligen Wismut AG betroffen.

### 1.2.3 umweltbedingte Noxen

Weitere wichtige Risikofaktoren sind die umweltbezogene Gefährdung durch Kfz-Abgase aus Dieselfahrzeugen sowie die geographisch zum Teil erhöhte Radonstrahlung. Grund für die Kanzerogenität der Kfz-Abgase aus Dieselfahrzeugen ist die Partikelgröße unter  $2,5\ \mu\text{m}$ . Diese Partikel sind lungengängig und zeigen bei Exposition einen linearen Zusammenhang zur Mortalität bei Lungenkrebs (Pope et al. 2002). In Deutschland kommt es dadurch zu etwa 1100 bis 2200 Todesfällen jährlich (Wichmann 2003).

Bei der Radonstrahlung kann der Schwellenwert einer ungefährlichen Dosis gerade in Kellerwohnungen in Abhängigkeit von den geologischen Gegebenheiten auch im privaten Bereich überschritten werden, wie z.B. im Göttinger Umland (Stiftung Warentest 2004). So führt eine Erhöhung der Radonkonzentration um  $100\ \text{Bq}/\text{m}^3$  zu einem Anstieg des Lungenkarzinomrisikos um 16% (Baysson et al. 2004). Bei zusätzlichem Zigarettenkonsum führt es, wie bei Asbest oder Arsen, zu einem überadditiven Risiko Lungenkrebs zu entwickeln, welches in diesem Fall um das 32-fache gegenüber risikofreien Personen erhöht wäre (Popp 1996).

## 1.3 Pathogenese

### 1.3.1 Morphogenese

Das Bronchialkarzinom nimmt in etwa 75% der Fälle seinen Ursprung von den Bronchien 1., 2. oder 3. Grades und nur ein kleiner Teil geht aus den Zellen der Alveolarsepten oder den terminalen Bronchien hervor. Der Anfang der Karzinomentstehung ist je nach Ursprung durch eine Plattenepithel-metaplasie oder Basalzellhyperplasie geprägt, die die Basalmembran jedoch nicht durchbrechen. Dabei ist nicht geklärt, wie lange der Prozess dauert, um die Mukosa anzuheben. Verändern sich die Zellen nun dysplastisch, handelt es sich um ein Carcinoma in situ. Beginnen sich die Zellen in eine plattenepitheliale, adenoide oder kleinzellige Variante zu differenzieren, gelten sie nach Penetration der Basalmembran als invasives Karzinom (Husain and Kumar 2005).

### 1.3.2 Pathogenetik

Bei etwa 40-90% der Plattenepithel- und Adenokarzinome sowie 70-80% der kleinzelligen Bronchialkarzinome ist im Tumorgewebe eine DNA-Aneuploidie nachzuweisen (Ukena et al. 1999). Diese wird durch diverse sukzessiv entstehende, genetische Veränderungen hervorgerufen. Dazu gehören unter anderem:

- allelische Verluste (Loss of heterogeneity)
- chromosomale Instabilitäten und Imbalancen
- Mutationen von Onkogenen und Tumorsuppressorgenen
- „Gene Silencing“ durch epigenetische Faktoren wie z.B. Promoter-Hypermethylierung
- aberrante Expression von Genen

(Hammar et al. 2004). Diese Muster der Tumorentwicklung werden als Mehrschritt-Kanzerogenese bezeichnet.

Es gibt gewisse genetische Veränderungen, die bei allen histologischen Subtypen sehr ähnlich sind. Die häufigste ist eine Mutation im Tumorsuppressorgen P53 (TP53), einem Mitglied der TP53-Gen-Familie, welches für das P53-Protein codiert. Dieses spielt eine wichtige Rolle im Zellzyklus, indem es antiproliferativ auf die Zelle wirkt. In etwa 50% aller NSCLC ist eine Mutation im TP53 nachzuweisen (Pfeifer et al. 2002); beim Plattenepithelkarzinom sogar in ca. 70% der Fälle.

Die zweithäufigste genetische Veränderung führt zur Inaktivierung des Retinoblastoma-Gens 1 (Rb1), einem Tumorsuppressorgen aus der Rb-Gen-Familie, die für das Rb-Protein codiert. Dieses hat unter physiologischen Bedingungen, genau wie das P53-Protein, eine Steuerfunktion am G1-S-Phase-Kontrollpunkt und nimmt diese je nach Phosphorylierungsgrad wahr. Die Phosphorylierung wiederum wird durch einen Komplex aus dem p16-Protein und einem Cyclin-Kinase-Komplex aus Zyklin D und der zyklin-abhängigen Kinase 4 reguliert. Der Verlust des Rb-Proteins ist beim NSCLC in 15% der Fälle nachzuweisen (Brambilla et al. 1999).

Die LOH spielt auf dem Arm des Chromosoms 3p eine wichtige Rolle, da sich in dieser Chromosomeregion DNA-Bereiche befinden, die für Tumorsuppressorgene codieren. Ein Beispiel ist das Tumorsuppressorgen FHIT (fragile histidine triade). Der Bereich von FHIT ist eine hochfragile Chromosomenregion, die leicht durch exogene Karzinogene, wie z.B. Tabaknoxen, geschädigt werden kann.

Wieviele dieser Gene allerdings für die Bronchialkarzinomentstehung verantwortlich sind, ist derzeit noch unzureichend geklärt. Gesichert ist nur, dass die Expressivität dieser Gene häufig bei Karzinomen variiert (Bittmann et



al. 2006).

Es gibt weitere genetische Veränderungen, die speziell beim Plattenepithelkarzinom der Lunge vorkommen. Tumorsuppressorgen 63, ein Mitglied der TP53-Familie, wird lediglich beim Plattenepithelkarzinom amplifiziert. Dieses Tumorsuppressorgen kommt bei keinem anderem Subtypus vor, was zur Hypothese führt, dass das Vorhandensein dieser Mutation möglicherweise für die Entstehung eines solchen Karzinoms erforderlich ist.

Somit kann die epigenetische Schädigung der DNA zum einen endogen durch Fehler in der Replikation, Reparatur und Transkription der DNA verursacht worden sein. Zum anderen kann die Schädigung der DNA aber auch exogen z.B. durch Inhalation von Tabaknoxen, die zu ras-Mutationen führen können, oder auch Exposition gegenüber Asbest oder Radon, welche P53-Mutationen zur Folge haben können, bedingt sein (Ukena et al. 1999).

## **1.4 Entitäten**

### **1.4.1 Allgemein**

Das Bronchialkarzinom macht etwa 95 - 98% aller bösartigen Tumoren der Lunge aus. Histologisch wird es in das kleinzellige (SCLC) und nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (NSCLC) unterteilt, wobei das NSCLC etwa 80% aller Bronchialkarzinome ausmacht (Korst and Ginsberg 2001). Die einzelnen histologischen Unterformen werden nach der WHO-Klassifikation von 2004 unterschieden (Travis et al. 2004) (Tabelle 1.1). Die häufigsten Entitäten des NSCLC sind das Plattenepithelkarzinom mit 30-40%, das Adenokarzinom mit 25-30%, das kleinzellige Karzinom mit 15-20% und das großzellige Karzinom mit weniger als 10% (Ukena et al. 1999).

### **1.4.2 Plattenepithelkarzinom**

#### **1.4.2.1 Epidemiologie**

Das Plattenepithelkarzinom (SCC) ist in Europa das häufigste Bronchialkarzinom und hat in den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts noch 50% aller Bronchialkarzinome ausgemacht (Lubin and Blot 1984). Allerdings ist die Häufigkeit in den letzten Jahrzehnten eher rückläufig (Charloux et al. 1997). In den USA kam es zwischen Ende der 70er Jahre und Mitte der 80er Jahre zu einem 50%igen Anstieg von SCC unter Männern und zu einer Verdoppelung des SCC unter Frauen (Devesa et al. 1991). Dieser Trend hat sich weiter verstärkt, so dass das SCC heute – zu Beginn des 21. Jahrhunderts – unter den farbigen und weißen Männern in USA, Kanada, Australien, Dänemark, etc. sogar um 30% abgenommen hat, wohingegen es unter Frauen in fast

allen betrachteten Ländern, v.a. in den Niederlanden und Norwegen, weiter zu einem Anstieg des SCC gekommen ist (Devesa et al. 2005). Dieses epidemiologische Verhalten zwischen den Geschlechtern spiegelt in etwa das

---

<b>Plattenepithelkarzinom (Squamous cell carcinoma, SCC)</b> papillär klarzellig kleinzellig basaloid
<b>Adenokarzinom</b> gemischter Subtyp azinär papillär bronchioloalveolär solides Adenokarzinom mit Schleimbildung
<b>Großzelliges Karzinom</b> großzellig neuroendokrin kombiniert großzellig neuroendokrin basaloid lymphoepithelial klarzellig großzellig mit rhabdoidem Phänotyp
<b>Adenosquamöses Karzinom</b>
<b>Sarkomatoide Karzinome</b>
<b>Bronchialdrüsenkarzinom/vom Speicheldrüsentyp</b> mukoepidermoid adenoidzystisch epithelial-myoepithelial
<b>Kleinzelliges Karzinom</b> <b>Kombiniertes kleinzelliges Karzinom</b>
<b>Karzinoidtumoren</b> typisch atypisch

---

Tabelle 1.1: Histologische Klassifikation maligner epithelialer Tumore der Lunge (modifiziert nach Travis et al. (2004))

Rauchverhalten, welches bei den Frauen in den letzten Jahrzehnten stark zugenommen hat, wider, so dass vor allem die Exposition gegenüber Tabaknoxen als Grund für den epidemiologischen Trend angenommen wird. Als Konsequenz gibt es mittlerweile viele Länder, in denen die Inzidenz des Adenokarzinoms schon die des SCC übertroffen hat, wie z.B. in Japan und den USA (Travis et al. 1995; Thun et al. 1997). In den „neueren“ Untersuchungen macht das SCC 28-37% aller Bronchialkarzinome aus (Parkin et al. 1999; Sobue et al. 2002) und ist vor allem bei tabak-rauchenden Männern über 40 Jahren und tabak-rauchenden Personen beiderlei Geschlechts über 60-65 Jahren anzutreffen (Perng et al. 1996).

#### **1.4.2.2 Lokalisation, Pathogenese, Fernmetastasierung**

Das SCC wird in eine zentrale und periphere Form unterteilt:

- Die zentrale Form macht etwa zwei Drittel der Plattenepithelkarzinome aus (Huhti et al. 1983) und ist gekennzeichnet durch ein endobronchiales, aber auch invasives Wachstum in das peribronchiale Gewebe, Lungenparenchym sowie anliegend Lymphknoten hinein. Für die Entwicklung wurde eine Dysplasie-Karzinom Sequenz beschrieben. Hierbei bildet sich das invasive Karzinom aus einer zuvor reversiblen Dysplasie des bronchialen Schleimhautepithels und nachfolgendem Stadium des irreversiblen Carcinoma in situ (Carter 1985). Danach breitet sich das invasive Karzinom entlang der Bronchien aus. Es kann zur Kompression der Pulmonalarterie sowie der Pulmonalvene kommen (Nagamoto et al. 1993; Shimosato and Miller 1993). Klinisch manifestiert sich das SCC häufig durch Kollaps des betroffenen Lungenlappens, durch eine obstruktive Pneumonie oder durch Hämoptysen. Fernmetastasen treten in der Regel erst spät auf (Hoffmann et al. 1997).
- Die periphere Form macht je nach Studie zwischen 3,3-33% der Plattenepithelkarzinome (Tomashefski et al. 1990; Huhti et al. 1983) und etwa 30-37% aller peripheren Lungentumoren aus (Higgins et al. 1975; Treasure and Belcher 1981). Ungefähr 50% der Pancoast-Tumoren sind plattenepithelialen Ursprungs. Die peripheren Plattenepithelkarzinome sind durchschnittlich kleiner als die zentralen, infiltrieren seltener in die hilären Lymphknoten, haben aber eine höhere Tendenz zur Infiltration der Brustwand. Sie proliferieren langsamer und scheinen eher lokal begrenzt zu bleiben, mit der Folge, dass bei diesen eine bessere Überlebenszeit zu beobachten ist (Shimosato 1999; Thomas and Piantadosi 1987). Die Kanzerogenese ist für diesen Typ des Plattenepithelkarzinoms allerdings erst unzureichend geklärt (Kwiatkowski et al. 1998; Malara et al. 1999). Im Gegensatz zum zentralen Typ ist eine Dysplasie-Karzinom Sequenz beim peripheren Typ des Plattenepithelkarzinoms kaum beobachtet worden (Funai et al. 2003).

### 1.4.2.3 Morphologie, Immunhistochemie

Das Plattenepithelkarzinom stellt makroskopisch eine weißlich, graue, bröckelige Masse dar, die sich vom Bronchialepithel ableitet und eine Verhornung zeigt. Mikroskopisch wird als Bedingung für die histologische Diagnose das Vorhandensein von Hornperlen oder Interzellularbrücken gefordert, die je nach Differenzierungsgrad mehr oder weniger vorhanden sind. Auch der Keratingehalt kann sehr stark variieren. Immunhistochemisch findet man in den meisten Plattenepithelkarzinomen die hochmolekularen Zytokeratine (34 $\beta$  E12), CK5/6 und CEA. Weniger häufig sind die niedermolekularen Zytokeratine Threoglobulin-Transkriptionsfaktor 1 (TTF-1) oder Zytokeratin 7 anzutreffen (Bittmann und Müller-Höcker 2006).

### 1.4.2.4 Risikofaktoren

Der größte Risikofaktor für die Entstehung eines Plattenepithelkarzinoms ist das inhalative Zigarettenrauchen. Diese enge Beziehung wird angenommen, da zum einen das Risiko für die Entwicklung eines solchen Karzinoms nach Einstellung des Rauchens enorm abfällt (Lubin and Blot 1984), zum anderen das Plattenepithelkarzinom gerade in den zentralen Atemwegen, in denen die Exposition gegenüber dem Zigarettenrauch am größten ist, am häufigsten auftritt (Morabia and Wynder 1991).

### 1.4.3 Adenokarzinom

Das Adenokarzinom der Lunge verzeichnete in den letzten Jahrzehnten einen signifikanten Anstieg weltweit (Greenberg et al. 1984), wodurch es heutzutage in vielen Ländern außerhalb Europas zum häufigsten Subtyp des Bronchialkarzinoms geworden ist (Travis et al. 1995; Takeshima et al. 1996). Sogar innerhalb Europas besteht eine zunehmende Inzidenz (Schottenfeld 2000). Auch zwischen den Geschlechtern verschiebt sich die Verteilung der Subtypen. Bei Männern nimmt das Verhältnis zwischen SCC und Adenokarzinom ab und bei Frauen steigt der sowieso schon größerer Anteil an Adenokarzinomen weiterhin an (Devesa et al. 2005). Obwohl es sich, wie auch das SCC, überwiegend bei Rauchern entwickelt, sind bei diesem Subtyp des Lungenkrebses anteilig mehr Nichtraucher betroffen, als bei allen anderen Arten des Bronchialkarzinoms (Perng et al. 1996). Des Weiteren macht das Adenokarzinom bei jungen Männern unter 40 Jahren und – wie schon zuvor beschrieben – Frauen jeden Alters den häufigsten Subtypus des Bronchialkarzinoms aus (Chen et al. 2005; DeCaro and Benfield 1982; Ramalingam et al. 1998). Da sich das Adenokarzinom überdurchschnittlich häufig bei Nichtrauchern entwickelt, wird angenommen, dass andere Faktoren die Entstehung eines Adenokarzinoms triggern können. Als solche Triggerfaktoren stellten sich beispielsweise Karotin, Vitamin C und Retinol heraus, die einen protektiven Effekt zeigten (Fontham et al. 1988). Ein prokarzinogener Triggerfaktor

dagegen scheint die Fähigkeit, das Antihypertensivum Debrisoquine metabolisieren zu können, zu sein (Caporaso et al. 1990). Außerdem wurden in operativ entfernten Lungenkarzinomen Progesteron- sowie Östrogenrezeptoren gefunden, die möglicherweise auch eine Rolle in der Kanzerogenese spielen (Cagle et al. 1990). Hauptrisikofaktor für den in den letzten Jahrzehnten enormen relativen Zuwachs unter den Subtypen der Bronchialkarzinome ist allerdings das inhalative Rauchen der „neuen“ Filterzigaretten. Bei diesen Filterzigaretten sind die schädlichen Rauchpartikel kleiner und werden dadurch in den meisten Fällen tiefer eingeatmet, wodurch diese weiter in die Peripherie der Lunge gelangen und dort zur Entstehung von Adenokarzinomen führen (Djordjevic et al. 1997). Außerdem wurde mit der Zeit die Konzentration von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH), die das Plattenepithelkarzinom induzieren, gesenkt und dafür die Konzentration von tabak-spezifischen N-Nitrosaminen (TSNAs), die Adenokarzinome verursachen, gesteigert (Hoffmann et al. 1997).

Makroskopisch stellt sich das Adenokarzinom meistens als grau-weißlicher, zentral fibrosierter Tumor dar, der in 75% der Fälle peripher liegt, die Pleura einziehen kann und schon früh Metastasen entwickelt. Klinisch ist es durch seine Morphologie oft erst spät zu erkennen, da es sich teilweise lange symptomlos entwickelt und diagnostisch als Narbe imponieren kann (Hoffman et al. 2000; Bittmann und Müller-Höcker 2006). Histologisch besteht es aus malignen epithelialen Zellen mit glandulärer Differenzierung und/oder Muzinproduktion und ist in der Regel, d.h. in etwa 80% der Fälle, eine Mischung aus azinären, papillären, bronchioalveolären oder soliden Wachstumsmustern (Bittmann und Müller-Höcker 2006). Aufgrund dieser Heterogenität ist es sehr schwierig, die Adenokarzinome klar zu differenzieren (Brambilla et al. 1999).

<b>Eigenschaft</b>	<b>Adenokarzinom</b>	<b>SCC</b>
Geschlecht	♀ >> ♂	♂ > ♀
Alter <40 Jahre	+++	+
Alter >60 Jahre	+++	++++
Assoziation zu Rauchen	+	++++
Lokalisation	v.a. peripher	eher zentral
Fernmetastasierung	lymphogen + hämatogen	meist lymphogen

Tabelle 1.2: Vergleich zwischen Adenokarzinom und Plattenepithelkarzinom

#### 1.4.4 kleinzelliges Karzinom (SCLC)

Das kleinzellige Karzinom der Lunge ist das dritthäufigste Bronchialkarzinom mit 8,1-19,2% aller histologischen Typen und hat in den letzten Jahrzehnten um etwa 60-100% zugenommen (Travis et al. 1995). Es wird angenommen, dass der Anstieg unter anderem auf die immer besser werdende Methoden in der Elektronenmikroskopie und Immunhistochemie zurückzuführen ist, da viele Bronchialkarzinome, die vorher als undifferenzierte Karzinome klassifiziert worden sind, mit genaueren Techniken als SCLC klassifiziert werden. Aktuell ist die Tendenz eher rückläufig (Travis et al. 1996), so dass 1997 die Inzidenz in Schottland bei  $8/100000$  Einwohner lag (Harkness et al. 2002). Ähnlich der Entstehung eines Plattenepithelkarzinoms weist die Entstehung eines SCLC eine sehr starke Korrelation zu einem intensiven Rauchverhalten der Patienten aus (Barbone et al. 1997; Hoffman et al. 2000; Khuder 2001). Hauptcharakteristika des SCLC sind die schnelle Tumorverdopplungszeit, die große Wachstumsfraktion, die frühe Entwicklung von Fernmetastasen und das gute initiale Ansprechen auf Chemo- und Strahlentherapie (Elias 1997), wobei die Prognose durch das schnelle Auftreten von Rezidiven trotzdem sehr schlecht ist (Govindan et al. 2006). Das SCLC ist ein maligner epithelialer Tumor, der aus kleinen Zellen mit wenig Zytoplasma, schlecht definierten Zellgrenzen, ausgeprägten Nekrosen und zahlreichen Mitosen besteht, sich makroskopisch als weißlich bröckelige Masse darstellt, zumeist zentral, perihilär lokalisiert ist und oft in das Lymphgefäßsystem einbricht (Bittmann und Müller-Höcker 2006). Dies erklärt vermutlich auch den ausgeprägten mediastinalen Lymphknotenbefall, der häufig mit dem SCLC einhergeht (Hoffman et al. 2000).

#### 1.4.5 großzelliges Karzinom

Das großzellige Karzinom steht an vierter Stelle der Häufigkeiten aller Bronchialkarzinome mit einem Anteil von 1-10% (Chen et al. 2005). Das Risiko, ein solches zu entwickeln, steigt, wie bei den anderen Typen auch, durch inhalatives Zigarettenrauchen, zeigt aber keine Beziehung zur Anzahl der Zigaretten, die pro Tag geraucht werden (Morabia and Wynder 1991). Es imponiert häufig als großer, peripherer Tumor, der manchmal eine Kavitation aufweist (Hoffman et al. 2000), und stellt sich makroskopisch durch eine rosa-bräunliche Schnittfläche mit Nekrosen und gelegentlich Hämorrhagien dar (Bittmann und Müller-Höcker 2006). Histologisch setzt es sich aus Zellballen und Trabekeln großer polygonaler Zellen mit vesikulären Zellkernen und prominenten Nukleolen bei nur mäßigem Zytoplasmaanteil zusammen, wobei diese Erscheinung oft sehr uneinheitlich ist, und vermutet wird, dass es zu einem großen Teil gering differenzierten Plattenepithel- bzw. Adenokarzinomen entspricht (Bittmann und Müller-Höcker 2006). Es wird in fünf Subtypen unterschieden, die der (Tabelle 1.1) zu entnehmen sind.

### 1.4.6 Narbenkarzinom

Die Häufigkeit der sog. Narbenkarzinome ist unklar, da in den meisten Fällen nach Resektion nicht sicher entschieden werden kann, ob sich das Bronchialkarzinom aus einer Narbe entwickelt hat, oder ob eine Narbe in dem Karzinom entstanden ist.

## 1.5 Einstufung (Staging)

### 1.5.1 Das TNM-System

Das TNM-System definiert die Ausdehnung des Befalls durch einen Tumor. Dabei steht das „T“ für Tumor und beschreibt sowohl die Ausdehnung, als auch das Verhalten des Primärtumors, das „N“ für Nodes (Lymphknoten) und gibt an, ob Lymphknotenmetastasen vorhanden sind oder fehlen, und das „M“ für Metastasen, was die Anwesenheit oder das Fehlen von Fernmetastasen anzeigt. Zusätzlich gibt es noch weitere Kennzeichnungen, die dem „TNM“ vorangestellt werden. Ein „c“ besagt, dass der Befund für die Einstufung klinisch gewonnen wurde. Mit „p“ gekennzeichnete Einstufungen wurden aus histopathologischen Untersuchungen ermittelt und haben damit eine höhere Zuverlässigkeit bei der Befundungssicherung. Ein „a“ besagt, dass die Tumorklassifizierung erst in einer Autopsie vollzogen wurde. Wird nach einer neoadjuvanten Behandlung der Resttumor klassifiziert, so wird dies mit einem „y“ gekennzeichnet. Handelt es sich um einen Rezidivtumor, so wird dem „TNM“ ein „r“ vorangestellt. Die genaue Einteilung des Bronchialkarzinoms nach der TNM-Klassifikation von Mountain (1997) ist der [Tabelle 1.3](#) zu entnehmen.

#### 1.5.1.1 Tumorausdehnung

Der Tumor wird je nach Größe und Infiltration in umliegende Strukturen in vier verschiedene Stufen eingeteilt. Dabei spielt es zusätzlich eine Rolle, ob ein Pleuraerguss vorliegt und ob der Tumor in unterschiedlichen Lungenlappen bereits Absiedlungen gebildet hat.

#### 1.5.1.2 Lymphknotenstationen

Die intraoperativ entfernten Lymphknoten wurden gemäß der modifizierten Systematik der American Thoracic Society den jeweiligen Stationen zugeordnet (Mountain and Dresler 1997). Hierbei lassen sich drei Lymphknoten-Gruppen unterscheiden:

1. die N1-Lymphknoten, die innerhalb der Plaura visceralis liegen und folgende Stationen beinhalten:
  - 10: hiläre Lymphknoten

- 11: Interlobärlymphknoten
  - 12,13 und 14: intrapulmonale Lymphknoten;
2. die N2-Lymphknoten, die innerhalb des Mediastinums liegen und folgende Stationen beinhalten:
    - 1: oberste mediastinale Lymphknoten
    - 2: obere paratracheale Lymphknoten
    - 3: retrotracheal angeordnete Lymphknoten
    - 4: untere paratracheale Lymphknoten
    - 5: subaortale Lymphknoten und aortopulmonales Fenster
    - 6: paraaortale Lymphknoten
    - 7: subkarinale Lymphknoten
    - 8: paraösophageale Lymphknoten
    - 9: Lymphknoten im Ligamentum pulmonale;
  3. die N3-Lymphknoten, die die kontralateralen Lymphknoten der Stationen 1 bis 9, die supraklavikulären Lymphknoten sowie die Skalenuslymphknoten beidseits beinhalten.

Ein anderes Schema zur Einteilung der Lymphknotenstationen ist das nach Naruke, welches in dieser Arbeit jedoch nicht gewählt wurde.

### 1.5.1.3 Fernmetastasen

Zu den Fernmetastasen zählen alle Absiedlungen des Tumors, die der gleichen histopathologischen Klassifikation entsprechen und sich nicht in der gleichen Lungenhälfte befinden wie der Primärtumor.

## 1.5.2 Stadiengruppierung

1987 wurden die TNM-Konstellationen zu vier Stadien zusammengefasst, mit dem Ziel, Patienten mit unterschiedlichem Befall, aber ähnlich zu erwartender Prognose, in eine Gruppe zusammenzuschließen (Mountain 1986). Diese Stadien wurden 1997 aufgrund der Erkenntnis, dass nicht alle Stadien optimal definiert wurden, revidiert (Mountain 1997):

- Stadium I wurde in IA und IB unterteilt
- Stadium II wurde in IIA und IIB unterteilt
- T3 N0 M0 wurde von Stadium III in IIB zurückgestuft.



---

<b>T</b>	<b>Primärtumor</b>
Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden; Nachweis von malignen Zellen im Sputum oder bei Bronchialspülungen, Tumor jedoch weder radiologisch noch bronchoskopisch sichtbar
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor 3 cm oder weniger in größter Ausdehnung, umgeben von Lungengewebe oder viszeraler Pleura, kein bronchoskopischer Nachweis einer Infiltration proximal eines Lappenbronchus <sup>1</sup>
T2	Tumor 3 cm oder mehr in größter Ausdehnung; die viszerale Pleura infiltrierend; Befall des Hauptbronchus 2 cm oder weiter distal der Carina, oder mit assoziierter Teilatektase oder obstruktiver Entzündung bis zum Hilus
T3	Tumor jeder Größe mit direkter Infiltration einer der folgenden Strukturen: Brustwand (einschließlich Pancoast-Tumore), Zwerchfell, mediastinale Pleura, parietales Perikard; Tumor im Hauptbronchus weniger als 2 cm distal der Carina, aber Carina selbst nicht befallen; Tumor mit kompletter Atektase oder obstruktiver Entzündung der ganzen Lunge
T4	Tumor jeder Größe mit Infiltration einer der folgenden Strukturen: Mediastinum, Herz, große Gefäße, Trachea, Ösophagus, Wirbelkörper, Carina; oder Tumor mit malignen Pleuraerguss

---

<b>N</b>	<b>Regionäre Lymphknoten</b>
Nx	Regionäre Lymphknoten (LK) können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in ipsilateralen peribronchialen LK und/oder in ipsilateralen Hilus-LK (einschließlich einer direkten Ausbreitung des Primärtumors)
N2	Metastasen in ipsilateralen, mediastinalen und/oder subkarinalen LK
N3	Metastasen in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen Hilus-, ipsi- oder kontralateralen Skalenus- oder supraclavikulären LK

---

<b>M</b>	<b>Metastasen</b>
Mx	Das Vorliegen von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

---

<sup>1</sup> Seltener, sich oberflächlich ausbreitender Tumor jeder Größe mit einer nur auf die Bronchialwand begrenzten Infiltration wird auch dann, wenn er sich weiter proximal ausbreitet, als T1 klassifiziert

Tabelle 1.3: Klinische TNM-Klassifikation (modifiziert nach Greene et al. (2002) und UICC (2002))

Die genaue Einteilung der Stadieneinteilung nach Mountain (1997) wird in **Tabelle 1.4** angegeben und von der Union internationale contre le cancer (UICC) sowie dem American Joint Committee on Cancer (AJCC) anerkannt.

Stadium	Subgruppe nach TNM
Okkultes Karzinom	TxN0M0
0	TisN0M0
IA	T1N0M0
IB	T2N0M0
IIA	T1N1M0
IIB	T2N1M0
IIIA	T3N0M0
	T3N1M0
	T1N2M0
	T2N2M0
IIIB	T3N2M0
	T4N0M0
	T4N1M0
	T4N2M0
	T1N3M0
	T2N3M0
	T3N3M0
T4N3M0	
IV	Jedes T Jedes N M1

Tabelle 1.4: Stadiengruppierung des Bronchialkarzinoms (modifiziert nach Greene et al. (2002) und UICC (2002))

Aktuell steht wieder eine neue Revision der Einteilung an, wobei diese bisher nicht verabschiedet wurde.

## 1.6 Therapie

### 1.6.1 Therapieprinzipien

#### 1.6.1.1 Chirurgie

Chirurgisch gesehen ist der Goldstandard der Therapie in den Stadien I und II die Lobektomie (Schuchert et al. 2007), bei der nach Durchtrennen der zum Lungenlappen gehörigen Segmentarterien, Venen und des Lappenbronchus an ihren Abgangsstellen der Lungenlappen reseziert wird. Bei kleinerem Eingriff, sprich der anatomischen Segmentresektion, bei der ein einzelnes Lungensegment mit den Segmentgefäßen und dem Segmentbronchus abgetrennt wird, steigt die Rezidivrate des Tumors an (Ginsberg and Rubenstein 1995; Landreneau et al. 1997), wobei bei größerem Eingriff, der Pneumektomie, bei der nach Durchtrennung des Hauptastes der A. pulmonalis, der beiden Pulmonalvenen und des Hauptbronchus die gesamte Lunge einseitig entfernt wird, eine bessere Entfernung des Tumorgewebes erreicht wird, aber die Morbidität und Letalität gegenüber einem kleineren Eingriff signifikant erhöht sind (5-Jahresüberlebensrate bei Pneumektomie: 44%; 5-Jahresüberlebensrate bei Lobektomie: 50%)(Simon et al. 2007; Bernard et al. 2001; Ferguson and Karrison 2000). Als weitere anatomische Variante gibt es noch die Manschettenresektion, bei der der tumorbefallene Lappen mit einer Manschette des Hauptbronchus oder der Pulmonalarterie reseziert wird und eine Reanastomosierung des nachgeschalteten Bronchus respektive Pulmonalarterie notwendig macht. Hiermit kann eine Pneumektomie umgangen werden und somit Lungenparenchym erhalten werden. Obligatorisch ist eine vollständige mediastinale Lymphknotendissektion zum Entfernen befallener Lymphknoten und zum pathologischen Tumorstaging (systematische radikale Lymphadenektomie). Als nichtanatomische Resektion gibt es die Keilresektion, die in der Regel bei unklaren Tumoren oder Lungenbiopsien eingesetzt wird.

#### 1.6.1.2 Strahlentherapie

Die Strahlentherapie wird im Wesentlichen primär bei funktioneller Inoperabilität, Verweigerung zur Operation und nichtresektablen Tumorstadien angewendet, sowie im adjuvanten Sinn, wenn operativ ein N2-Befall festgestellt wurde, oder nur eine R1- (mikroskopischer Resttumor) oder R2-Resektion (makroskopischer Resttumor) erzielt werden konnte. Dabei wird für die primäre Bestrahlung eine Gesamtreferenzdosis (GRD) von 70Gy und für die adjuvante Bestrahlung eine GRD von 50 Gy verwendet. Im Stadium I und II hat eine adjuvante Bestrahlung einen negativen Einfluss auf das Überleben der Patienten (PORT Meta-Analysis Trialists Group 1998). Umstritten ist noch, ob eine Radiotherapie im neoadjuvanten Sinn zu Überlebensvorteilen führt, wobei sich abzeichnet, dass ein Vorteil nur durch ei-

ne kombinierte Radio-/Chemotherapie zu erzielen ist. Eine Sonderstellung nimmt die Behandlung des Pancoast-Tumor ein. Hierbei besteht die klare Indikation zur neoadjuvanten Bestrahlung des ipsilateralen Hilus und des Mediastinums mit 40 Gy mit unmittelbar danach zu erfolgender chirurgischer Entfernung des Tumors. Als neue Variante zur Bestrahlung gibt es die three-dimensional conformal radiation therapy (3D-CRT) mit einer GRD von  $\geq 80$  Gy, mit der Überlebensvorteile bei der primären Therapie im Gegensatz zur herkömmlichen Bestrahlung im Stadium I, II und III (Sura et al. 2007), sowie bei der adjuvanten Bestrahlung im Stadium II nachgewiesen wurden (Machtay et al. 2001).

In der palliativen Situation, in der die Tumorerkrankung als nicht mehr heilbar angesehen wird, hat sich die Radiotherapie in der Linderung von Brustschmerzen, Husten und Atemnot bewährt, indem z.B. Obstruktionen beseitigt werden (Report to the Medical Research Council by its Lung Cancer Working Party 1991, Medical Research Council Lung Cancer Working Party 1992).

### **1.6.1.3 Pharmakotherapie**

Die Gabe von Chemotherapeutika wird im neoadjuvanten, adjuvanten und auch palliativen Sinn beim NSCLC angewandt. Im neoadjuvanten Sinn werden die Chemotherapeutika zur Tumorreduktion verwendet, um damit eine Operation besser zugänglich zu machen, sowie Mikrometastasen zu eradizieren (Choi et al. 1997). Dadurch soll den Patienten eine Chance auf vollständige Resektabilität im kurativen Sinn ermöglicht werden. Es gibt ältere Studien, die hierbei einen Überlebensvorteil für Patienten festgestellt haben (Roth et al. 1994). Neuere Studien, die dieselben Chemotherapeutika verwendeten, konnten diesen Vorteil allerdings nicht bestätigen (Depierre et al. 2002). Die endgültigen Ergebnisse der zur Zeit laufenden Studien mit neueren, platin-haltigen Chemotherapeutika stehen noch aus (Betticher et al. 2003; Cappuzzo et al. 2003). Des Weiteren werden gerade Antikörper – wie Erlotinib (Shepherd et al. 2005; Tsao et al. 2005) und Bevacizumab (Sandler et al. 2006) – gegen tumorspezifische Antigene sowie Tyrosinkinase-Hemmer getestet, die schon jetzt vielversprechende Ergebnisse zeigen.

## **1.6.2 Stadienadaptierte Therapie**

### **1.6.2.1 Stadium I**

Der Goldstandard der Therapie beim Stadium IA und IB ist die operative Resektion des Tumors. Hierbei hat sich die Lobektomie des befallenen Tumorellappens durchgesetzt (Schuchert et al. 2007). Japanische Arbeitsgruppen zeigten in zwei Studien, dass die gewebesparende Segmentektomie für Stadium IA bei einer Tumorgöße  $\leq 2$  cm keinen signifikanten Nachteil in der

5-Jahresüberlebensrate gegenüber der Lobektomie nachweisen konnten. Somit ist die Segmentektomie insbesondere für kardiopulmonal vorbelastete Patienten zuträglicher (Okada et al. 2003; Okada et al. 2005). Für Stadium IB wird der Nutzen der adjuvanten Chemotherapie diskutiert, da sowohl einige Studien eine Verbesserung der 5-Jahresüberlebensrate gegenüber der alleinigen Operation von 10-15% nachweisen konnten (Arriagada et al. 2004; Strauss et al. 2004), andere Studien diesen Benefit jedoch nicht bestätigen konnten (Scagliotti et al. 2003). Die primäre Bestrahlung des Tumors mit Heilungsraten von bis zu 25% ist heute nur noch bei inoperablen Patienten indiziert (Noordijk et al. 1988), oft in Kombination mit einer Chemotherapie (Curran et al. 2000). Seit einiger Zeit werden durch die 3D-CRT aufgrund einer verbesserten Bestrahlungstechnik bessere Ergebnisse als mit der herkömmlichen Bestrahlung erzielt (Sura et al. 2007).

### **1.6.2.2 Stadium II**

Die Therapie des Stadium II des NSCLC wird ähnlich angegangen wie beim Stadium I. Bei funktioneller Operabilität ist auch hier die chirurgische Entfernung des Tumors das Mittel der Wahl (Nakagawa et al. 2007). Je nach Studie werden 5-Jahresüberlebensraten von 25-55% erreicht, wobei nach Entfernung eines Plattenepithelkarzinoms die besten 5-Jahresüberlebensraten erzielt werden (Mountain 1997; Martini et al. 1992). Als operatives Verfahren ist hier wie im Stadium I die Lobektomie anzustreben. Eine adjuvante Behandlung durch Chemotherapeutika wird individuell durchgeführt, da einige Studien einen positiven Einfluss auf das Überleben der Patienten zeigten (Arriagada et al. 2004; Strauss et al. 2004). Aber auch hierbei gibt es Studien, die keinen signifikanten Vorteil für eine adjuvante Behandlung mit Chemotherapeutika feststellen konnten (Keller et al. 2000; Scagliotti et al. 2003). Mit den neuen Möglichkeiten der 3D-CRT zeigte eine Bestrahlung im adjuvanten Sinn sogar durchaus Vorteile auf das Überleben der Patienten (Machtay et al. 2001). Eine primäre Radiatio ist bei Stadium II nur bei inoperablen Patienten indiziert (Curran et al. 2000). Mit der 3D-CRT wird hierbei sogar eine 5-Jahresüberlebensrate von 36% erreicht (Sura et al. 2007).

### **1.6.2.3 Stadium IIIA**

Für das Stadium IIIA spielt die operative Resektion für Tumore, die als T3N1M0 eingestuft werden, eine wichtige Rolle mit Heilungsraten von bis zu 39% (Oda et al. 1998). Der Nutzen einer neoadjuvanten Chemotherapie ist hier nicht bewiesen (Roy and Donington 2007). T3N2M0 Tumoren werden in der Regel nicht mehr primär als operativ kurabel angesehen. Diese müssen, wenn eine Chance auf operative Resektion besteht, neoadjuvant vorbehandelt werden. Als Standard werden dafür Platin-basierende Chemo-

therapeutika allein oder konkomitant mit einer Radiotherapie verwendet. So konnten bei Albain et al. (1995) 85% der Patienten mit Stadium IIIA einer Operation zugänglich gemacht und eine 3-Jahresüberlebensrate von 27% erreicht werden. Auch im adjuvanten Sinn werden diese Chemotherapeutika verwendet, weil ein positiver Effekt auf die Überlebenszeit der Patienten nachgewiesen wurde. Wird durch eine neoadjuvante Behandlung ab Stadium T3N2M0 keine vollständige Eradikation der N2-Lymphknoten erreicht, ist es sinnvoller, an die neoadjuvante Therapie eine definitive Chemotherapie anzuschließen. Dabei können 5-Jahresüberlebenszeiten von 20,3% erreicht werden (Arriagada et al. 2004). Die Radiatio als alleinige primäre Therapie hat durch die 3D-CRT mit 5-Jahresüberlebensraten von 31% wieder an Potenz gewonnen (Sura et al. 2007).

#### 1.6.2.4 Stadium IIIB

Im Stadium IIIB sind die Chemo- und Radiotherapie die wesentlichen Therapieoptionen. In besonderen Fällen, bei denen höchstens ein N0-1 Lymphknotenbefall, aber T4 Status vorliegt, kann durch modernere Operationstechniken Hoffnung auf Heilung gemacht werden:

- T4 aufgrund Satellitenherd im gleichen Lungenlappen: 5-Jahresüberlebensrate von 20% (Deslauriers et al. 1989)
- T4 aufgrund Carinabeteiligung: 5-Jahresüberlebensrate bei R0 von 51% (Mitchell et al. 1999)
- T4 aufgrund Beteiligung großer Gefäße: 5-Jahresüberlebensrate von 31% (Spaggiari et al. 2000).

Allerdings liegt die Standardbehandlung des Stadium IIIB im Allgemeinen in einer zweifach Therapie mit Platin-basierenden Chemotherapeutika (Schiller et al. 2002; Numico et al. 2005). Da trotz Therapie die Prognosen für die einzelnen Untergruppen immer noch sehr schlecht sind, wird in diesem Bereich sehr forciert geforscht. Ein Versuch ist es, diese Patienten konkomitant oder nachfolgend zu bestrahlen, um sie damit im Sinne einer neoadjuvanten Behandlung operativ kurabel zu machen. Albain et al. (1995) konnte dadurch 80% der Patienten mit Stadium IIIB einer Operation zugänglich machen und eine 3-Jahresüberlebensrate von 24% erzielen. Bei einem anderen Versuch wurden den Patienten ein Dreierschema Chemotherapeutika mit konkomitanter Radiatio verabreicht anstatt des Zweierschemas mit Radiatio, und es hat sich ein gleich gutes bis sogar besseres Überleben mit einer 2-Jahresüberlebensrate von 34,6% ergeben (Furuse et al. 1999). Wie für das Stadium IIIA wird für die adjuvante chemotherapeutische Behandlung angenommen, dass eine solche Behandlung Vorteile bietet (Arriagada et al. 2004).

### 1.6.2.5 Stadium IV

Das Stadium IV wird in der Regel palliativ behandelt, da der Tumor bereits Fernmetastasen gebildet hat und nicht mehr als heilbar angesehen wird. Chemotherapeutisch hat Cisplatin eine verlängerte Überlebenszeit um 10 Wochen, eine Verbesserung der 1-Jahresüberlebensrate um 10% und eine Verbesserung der Lebensqualität im Vergleich zur „best supportive care“ gezeigt (Cullen et al. 1999). Diese „best supportive care“ umfasst das multi-professionelle Bemühen dem Patienten jeden Alters zu jedem Zeitpunkt unterstützende Behandlungsmaßnahmen für seine physischen, psycho-sozialen, spirituellen und kulturellen Bedürfnisse zur Verfügung stellen zu können. Des Weiteren nutzt man sich der Radiotherapie, um lokale Prozesse zu lindern. Seit neuestem werden gegen den Tumor gerichtete Antikörper getestet. In seltenen Fällen wird bei solitären Metastasen ein kurativer Ansatz durch ein neoadjuvantes Konzept mit nachfolgender Operation versucht.

## 1.7 Prognose

Die Prognose für das NSCLC hat sich in den letzten Jahrzehnten trotz neuerer Entwicklungen in der Chirurgie, Pharmakotherapie und Strahlentherapie nur geringfügig verbessert, ist aber mit einer mittleren Überlebenszeit von 8 Monaten und einer 5-Jahresüberlebensrate von unter 15%, über alle Stadien gemittelt, immer noch sehr schlecht (Jemal et al. 2006).

<b>Stadium</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>	<b>5-JÜR klinisches Staging</b>	<b>5-JÜR chirurgisches Staging<sup>1</sup></b>
IA	T1	N0	M0	61%	67%
IB	T2	N0	M0	38%	57%
IIA	T1	N1	M0	34%	55%
IIB	T2	N1	M0	24%	39%
	T3	N0	M0	22%	38%
IIIA	T3	N1	M0	9%	25%
	T1-3	N2	M0	13%	23%
IIIB	T4	N0-2	M0	7%	–
	T1-4	N3	M0	3%	–
IV	T1-4	N0-3	M1	1%	–

<sup>1</sup> Überlebensraten nach chirurgischer Verifikation des Stadiums und operativer Behandlung

Tabelle 1.5: Prognosen des NSCLC (modifiziert nach Brundage et al. 2002)

Dabei ist die 5-Jahresüberlebensrate in den USA mit 15% noch am besten, gefolgt von Europa mit 10% und schlussendlich den Entwicklungsländern mit 8,9% (Parkin et al. 2005). Diese Daten sind über alle Stadien gemittelt. Gerade in den früheren Stadien zeigt das NSCLC deutlich bessere Überlebenszeiten. Die UICC hat Ende der Neunzigerjahre eine Übersicht über die stadienabhängigen Prognosen veröffentlicht (Tabelle 1.5), wobei in neueren Quellen bei Patienten nach Operation eine 5-JUER für Stadium Ia von bis zu 79%, für Stadium Ib von 59,7% (Naruke et al. 2001), für Stadium IIA von 33-65%, für Stadium IIB von 27-56% (Ponn et al. 2005), für Stadium IIIa von 22-25,7%, für Stadium IIIb von 3,4-20.8% und für Stadium IV von 5,1% beschrieben wurde (Naruke et al. 2001).

## 1.8 Ziel der Studie

Diese Studie untersucht die Abhängigkeit der Prognose von Patienten mit operiertem Plattenepithelkarzinom der Lunge aus den Stadien IA-IIIb anhand der Serum-LDH-Werte sowie der Expressierung der LDH-5 im Tumor. Dabei wird der Schwerpunkt auf folgende Fragestellungen gelegt:

- Gibt es einen Zusammenhang zwischen präoperativ erfasstem Serum-LDH-Wert und LDH-5-Expressierung im Tumor?
- Kann anhand des präoperativ erfassten Serum-LDH-Wertes eine Aussage über die zu erwartende Prognose eines Patienten gestellt werden?
- Ermöglicht die Bestimmung des Verlaufs der Serum-LDH-Werte Aussagen über die Prognose eines Patienten?
- Ist es sinnvoll die Bewertung der LDH-5-Expressierung im Tumor in einen quantitativen und qualitativen Teil zu trennen?
- Erlaubt die LDH-5-Expressierung in den Tumorzellen eine Aussage über das stadienadaptierte Überleben eines Patienten?

Ein Teil dieser Fragestellungen, vor allem bezüglich der immunhistochemischen Betrachtung der LDH-5, hat die Arbeitsgruppe Koukourakis et al. (2003,2005) bereits ansatzweise für das NSCLC bearbeitet, wobei diese Gruppe auch die einzige ist, die bisher hierzu Daten veröffentlicht hat.

Bezüglich der Fragestellungen hinsichtlich der Serum-LDH gibt es wesentlich mehr Veröffentlichungen. Hierbei gibt es aber keine Studie, die ausschließlich das Plattenepithelkarzinom der Lunge betrachtet. Zudem variiert der Schwellenwert der Serum-LDH, ab wann von einer schlechteren Prognose ausgegangen werden kann, enorm, so dass speziell für das Plattenepithelkarzinom der Lunge das Verhalten der Serum-LDH analysiert wird.



Auftrag der vorliegenden Studie ist somit speziell das Expressionsverhalten der LDH-5 in den Tumorzellen – quantitativ wie auch qualitativ – für das Plattenepithelkarzinom der Lunge immunhistochemisch zu analysieren, um mit den gegebenenfalls einhergehenden Serum-LDH-Veränderungen Aussagen über die stadienadaptierten Überlebenszeiten eines Patienten ableiten zu können.

## Kapitel 2

# Material und Methoden

### 2.1 Datenerfassung und Auswahl des Patientenkollektivs

Die prä-, intra- und postoperativ ermittelten Patientendaten wurden in einer komplexen Datenbank (Access 2003) gespeichert. Insgesamt konnten 280 Patienten im Zeitraum zwischen 2000 und 2006 mit einem NSCLC erfasst werden. Davon hatten 61 Patienten ein Plattenepithelkarzinom der Lunge und mindestens ein Serum-LDH-Wert, der drei Monate vor Operation entnommen wurde, war bekannt.

Die präoperativen Daten bezogen sich zum einen auf die demographischen Merkmale der Patienten (Alter, Geschlecht), zum anderen auf die Beschreibung des klinischen Stagings (Computertomographie des Thorax, Magnetresonanztomographie des Schädels, Sonographie des Abdomens, Bronchoskopie der Lunge mit histologischer Tumorklassifikation; wenn vorhanden: Mediastinoskopie, Lungenperfusionsszintigraphie), der Symptome und Beschwerden, eines umfassenden Labors sowie funktionelle Parameter (Blutgasanalyse, Lungenfunktion, Karnofsky-Index).

Die intraoperativ erhobenen Daten schlossen neben der Operationsdauer und der Lungenresektionstechnik, etwaige operative Erweiterungen oder Besonderheiten sowie die genaue Zuordnung der entnommenen Lymphknoten nach der modifizierten ATS-Systematik mit ein (Mountain and Dresler 1997).

Die postoperativen Daten bezogen sich auf die Verweildauer auf der Intensivstation, die Angabe des intraoperativen Blutverlusts sowie gegebenenfalls notwendige Transfusionen, der pathologischen TNM-Klassifikation nach Mountain (1997) mit Angabe aller entfernten infiltrierten und tumorfreien Lymphknoten, der Erfassung sämtlicher postoperativer Komplikationen sowie notwendiger Revisionseingriffe und eines Entlassungslabors.

Zur Ermittlung des klinischen Zustandes des Patienten in der Nachbeobachtungsphase wurde, zum Abschluss der Untersuchungen, an alle behan-

delnden Haus- bzw. Fachärzte ein Nachsorgebogen geschickt, der Fragen in Bezug auf die letzte Vorstellung beim Untersucher, auf den Allgemeinzustand gemessen anhand der ECOG-Skala, den Todeszeitpunkt, Grund des Todes, Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen, Fernmetastasen und eines Zweittumors sowie die Durchführung von Strahlen-, Chemo- oder anderen Therapien beinhaltet. So konnte der Verlauf des Patienten optimal nachvollzogen werden.

Besonderen Wert wurde auf die Erfassung eines Serum-LDH-Wertes in einem Zeitraum von drei Monaten präoperativ sowie drei Monaten postoperativ gelegt.

Nach Prüfung der Unterlagen durch die zuständige Ethik-Kommission, wurden keine Einwände oder Bedenken bezüglich der Durchführung der vorliegenden Studie erhoben.

## 2.2 Definierung der Kollektive

Es gibt drei verschiedene Kollektive, an denen die Untersuchungen der vorliegenden Studie durchgeführt wurden: das Gesamtkollektiv, Kollektiv A und Kollektiv B (Tabelle 2.1).

	Größe	Ausschlusskriterien
<b>Gesamtkollektiv</b>	n=61	
<b>Kollektiv A</b>	n=53	Tod innerhalb von 30 Tagen
<b>Kollektiv B</b>	n=45	Tod innerhalb von 30 Tagen, R1-Resektion, nicht tumorbedingter Tod, unbekannte Todesursache

Tabelle 2.1: Definition der Kollektive

Das **Gesamtkollektiv** fasst alle Patienten der Studie mit ein. An diesem Kollektiv wurden zum einen die epidemiologischen Untersuchungen durchgeführt, zum anderen die Untersuchungen, die sich auf die Zusammenhänge zwischen der präoperativen Serum-LDH und der Tumor-LDH bezogen.

Das **Kollektiv A** mit 53 Patienten beinhaltet alle Patienten bis auf die perioperativ verstorbenen Patienten, d.h. diejenigen Patienten, die innerhalb 30 Tage postoperativ verstorben sind. Bei diesen Patienten wird davon ausgegangen, dass nicht der Tumor, sondern die Operation der Grund des Todes war.

Das **Kollektiv B** mit 45 Patienten schließt zusätzlich noch alle die Patienten aus, die an einer nicht tumorbedingten oder unbekannten Ursache

verstorben sind oder R1 reseziert wurden, sodass hierbei der Fokus auf den Primärtumor als Todesursache gelegt wird. Folglich werden nur Patienten betrachtet, die an einem Rezidiv oder an Spätmetastasen verstorben sind. An **Kollektiv A** sowie **Kollektiv B** wurden die Untersuchungen durchgeführt, die das jeweilige Kollektiv auf einen Zusammenhang zwischen der Serum-LDH bzw. Tumor-LDH und der Überlebenszeit der Patienten überprüften. Diese Untersuchungen wurden zum einen mit, zum anderen ohne neoadjuvant behandelte Patienten angestellt, um eine mögliche Beeinflussung der untersuchten Zusammenhänge durch eine neoadjuvante Therapie beurteilen zu können.

## 2.3 Laktatdehydrogenase (LDH)

### 2.3.1 Funktion im Serum

Die Glykolyse ist der Hauptweg einer Zelle zur Energiegewinnung. Hierbei wird Glukose zu Pyruvat umgewandelt, wobei Adenosintriphosphat (ATP) entsteht und Nikotinamidadenosindinukleotid ( $\text{NAD}^+$ ) zu  $\text{NADH}/\text{H}^+$  reduziert wird. Um eine kontinuierliche Glykolyse zu gewährleisten, muss kontinuierlich  $\text{NAD}^+$  zur Verfügung stehen, d.h. es muss fortlaufend das entstandene  $\text{NADH}/\text{H}^+$  zu  $\text{NAD}^+$  oxidiert werden. Dies kann auf zwei Wegen geschehen:

Ist das Sauerstoffangebot ausreichend, so wird  $\text{NAD}^+$  aerob nachgebildet. Das gebildete Pyruvat wird über die Pyruvatdehydrogenase zu Acetyl-Koenzym A (Acetyl-CoA) umgewandelt, welches im Krebs- (Zitronensäure-) Zyklus zu Wasser, ATP und Kohlenstoffdioxid umgebaut wird. Dabei wird  $\text{NADH}/\text{H}^+$  zu  $\text{NAD}^+$  oxidiert.

Muss  $\text{NAD}^+$  allerdings unter hypoxischen Bedingungen gebildet werden, so geschieht dies auf dem anaeroben Weg. Die LDH katalysiert Pyruvat zu Laktat, wobei das  $\text{H}^+$ -Ion von  $\text{NADH}/\text{H}^+$  benötigt wird und  $\text{NAD}^+$  entsteht (Abbildung 2.1).

Die Laktatdehydrogenase wird in fünf Isoenzyme unterteilt, bestehend aus vier Untereinheiten. Es gibt zwei verschiedene Polypeptide unterschiedlichen genetischen Ursprungs, die diese vier Untereinheiten bilden: das Polypeptid M und H. Je höher das Verhältnis M- zu H-Untereinheiten ist, desto höher ist die Affinität des Enzyms gegenüber Pyruvat. Je affiner das Enzym zu Pyruvat ist, desto höher ist die Umwandlungsrate von Pyruvat zu Laktat (Holbrook et al. 1975). Die einzelnen Isoformen und deren physiologisches Vorkommen werden in Tabelle 2.2 dargestellt.

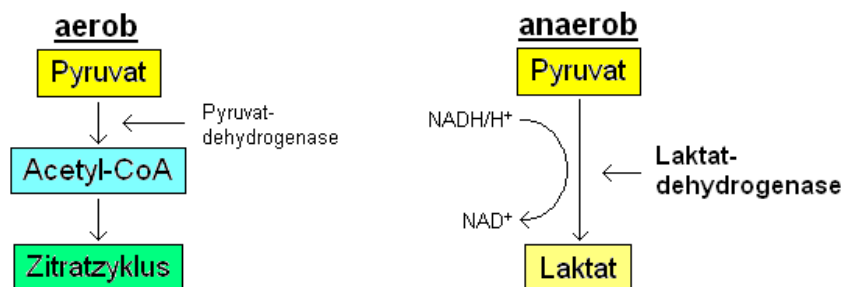


Abbildung 2.1: Energiegewinnung

Isoform	Untereinheiten	Gewebe
LDH-1	HHHH	Herz
LDH-2	HHHM	Lymphsystem
LDH-3	HHMM	Lunge
LDH-4	HMMM	Niere
LDH-5	MMMM	Leber, quergestreifte Muskulatur

Tabelle 2.2: Physiologisches Vorkommen der Isoformen der LDH

Im Serum ist die LDH ein Marker für das Ausmaß einer Gewebeschädigung und zeigt somit die Höhe eines Zellerfalls an. Daher wird der Wert vor allem bei Verdacht auf eine intravasale Hämolyse bzw. eine Gewebeschädigung bestimmt und liegt physiologisch bei einem Wert kleiner als 230-250 U/L.

### 2.3.2 Cut-off-Wert der Serum-LDH

#### 2.3.2.1 Präoperative Serum-LDH vs. Überleben

Ein Ziel der vorliegenden Studie ist zu prüfen, ob die Prognose eines Patienten ab einer bestimmten Höhe des präoperativen Serum-LDH-Wertes signifikant schlechter ist. Diese Trennlinie wurde durch Addition einer Standardabweichung zum Mittelwert aller präoperativen Serum-LDH-Werte gebildet, so dass die Trennlinie bei 240 U/L festgesetzt wurde. Die Serum-LDH-Werte >240 U/L als pathologisch hoch anzusehen, entspricht in etwa den bisher aktuellen Erkenntnissen. Zum einen wird ein Wert der Serum-LDH ab 230-250 U/L in den meisten Kliniken als pathologisch hoch angesehen. Zum anderen gibt es einige Studien, die bereits eine solche Untersuchung durchgeführt haben. Die Studie von Eberhardt et al. (1998) weist dabei die meisten Übereinstimmungen zu der vorliegenden Studie auf. In dessen Studie wurde die Trennlinie der präoperativen Serum-LDH zur Untersuchung auf Unterschiede in der Überlebenszeit ebenfalls bei >240 U/L festgesetzt.

### **2.3.2.2 Verlauf der Serum-LDH vs. Überleben**

Die Einteilung der Gruppen bei der Untersuchung zwischen dem Verlauf der Serum-LDH und der Überlebenszeit erfolgte in eine erste Gruppe mit einem Anstieg des Serum-LDH-Wertes vom präoperativen Wert zum Wert nach der Operation, und eine zweite Gruppe, mit einem Abfall des Serum-LDH-Wertes. Damit kann beurteilt werden, ob nicht nur das Niveau des präoperativen Serum-LDH-Wertes, sondern auch eine mögliche Beeinflussung des Serum-LDH-Wertes durch die Resektion des Tumors ermöglicht, eine Voraussage über die zu erwartende Prognose des Patienten machen zu können.

### **2.3.3 Funktion im Tumor**

In Tumorzellen ist vor allem die anaerobe Glykolyse zu finden, da intratumorös aufgrund der raschen Zellproliferation, des hohen Metabolismus, der defekten strukturellen sowie funktionellen Angiogenese und der weiten räumlichen Entfernung zwischen den Tumorzellen und den Gefäßen im Stroma zumeist Hypoxie herrscht (Giatromanolaki A and Harris 2001; Vaupel et al. 2001). Warburg (1956) beobachtete, dass Tumorzellen zudem anaerobe Glykolyse betreiben, auch wenn sie ausreichend mit Sauerstoff versorgt werden. Dieser Vorgang wird seitdem als Warburg-Effekt bezeichnet. Außerdem beschrieb Goldman et al. (1964), dass der prozentuale Anteil an M-Untereinheiten gegenüber H-Untereinheiten bei der LDH im Tumorgewebe wesentlich höher ist, als in gesundem Gewebe. Unter anderem wies er dieses Verhalten für das Bronchialkarzinom nach. Somit ist zu vermuten, dass Tumoren aus den zuvor genannten Gründen hauptsächlich die Energiegewinnung anaerob durch die Katalysierung von Pyruvat zu Laktat durch die LDH-5 vollziehen, da LDH-5 – ausschließlich bestehend aus M-Untereinheiten – die höchste Affinität gegenüber Pyruvat besitzt. Diese Annahme findet Bestätigung in einer Studie von Koukourakis et al. (2003a), der aufgrund einer immunhistochemischen Beobachtung beschrieb, dass die LDH-5 vermehrt in den Tumorzellen, die LDH-1 hingegen vermehrt im Stroma und in den Gefäßen exprimiert wurde.

## **2.4 Immunhistochemie**

### **2.4.1 Selektion der Tumorblöcke**

Bei der Selektion der Tumorblöcke wurde auf eine dezidierte und kontrollierte Auswahl des tatsächlichen Tumorgewebes im Tumorblock geachtet. Es wurde bei allen Untersuchungen immer der Primarius herangezogen. Hierfür wurde anhand des pathologischen Befundes und nach lichtmikroskopischer

Begutachtung aller Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitte eines Tumors mit Hilfe eines erfahrenen Pathologen der am besten geeignete Tumorblock für diese Studie ausgewählt. Dieser ausgewählte Tumorblock weist folglich den größten Anteil an zum Zeitpunkt der Resektion vitalen Tumorgewebe, im Vergleich zu allen Tumorblöcken des resezierten Tumors, auf.

## **2.4.2 Herstellen der Tumorschnitte**

Die gelagerten Blöcke müssen zuerst gekühlt werden, um sie dann auf dem Schlittenmikrotom SM 2000 R (Leica, Wetzlar, Deutschland) mit der Klinge „Mikrotome Blades S 35“ (Feather, Kita-Ku, Japan) in Präparate mit einer Stärke von 1  $\mu\text{m}$  zuzuschneiden. Diese Schnitte werden in kaltem, entionisiertem Wasser aufgefangen und dann vorsichtig in 45°C warmen Wasser überführt, um eine Streckung der Oberfläche zu erzielen. Anschließend werden die Schnitte auf silanisierte Objektträger (Menzel, Braunschweig, Deutschland) vorsichtig aufgenommen. Die Trocknung erfolgt über Nacht bei Raumtemperatur. In diesem Zustand sind die Schnitte im Dunkeln und bei Raumtemperatur unbegrenzt lagerbar.

## **2.4.3 Immunhistochemische Färbung**

### **2.4.3.1 Vorbereitung der Tumorschnitte**

Damit der Antikörper bei der immunhistochemischen Färbung das zu detektierende Epitop erkennen konnte, musste bei den Formalin-fixierten Geweben die Vernetzung der Aldehydgruppen aufgespalten werden. Daher wurden die Präparate in 3 Xylolbäder jeweils 3 Minuten entparaffiniert und anschließend über zweimal 100%igen Alkohol, sowie sukzessive jeweils einmal 96%igen, 70%igen, 50%igen, 30%igen Alkohol und bi. dest. für jeweils 3 Minuten rehydriert. Die Antigen-Demaskierung (Aldehydgruppen-Spaltung) erfolgte mit 10%igem Citratpuffer S 2031, pH 6,0 (Dako, Hamburg, Deutschland) im Dampfgerät (Braun, Kronberg, Deutschland) bei 90°C für 25 Minuten. Anschließend wurden die Präparate für 20 Minuten auf Raumtemperatur abgekühlt. Als nächstes wurden die Präparate in 0,05 M Tris-Puffer pH 7,6 fünfmal für jeweils 2 Minuten gewaschen. Danach wurde die endogene Peroxidase auf den Präparaten mit 3%igem Wasserstoffperoxyd S 2023 (Dako, Hamburg, Deutschland) für 15 Minuten in einer feuchten Kammer geblockt und die Präparate erneut in 0,05 M Tris-Puffer pH 7,6 fünfmal für jeweils 2 Minuten gewaschen. Anschließend wurden die Präparate in einer feuchten Kammer bei Raumtemperatur für 30 Minuten mit AK-Diluent S 2022 (Dako, Hamburg, Deutschland), einem Verdünnungsmedium, inkubiert und im Anschluss nur abgeklopft.

### 2.4.3.2 Prinzip der immunhistochemischen Färbung

Für die immunhistochemische Färbung wurde die indirekte Zwei-Schritt-Methode verwendet. Dabei wird im ersten Schritt ein spezifischer Antikörper – hierbei ab 9002 als Primärantikörper – auf das zu untersuchende Gewebe aufgebracht. Dieser Antikörper ist in diesem Fall gegen die LDH-5 im Zytoplasma gerichtet. Im zweiten Schritt wird der sogenannte Sekundärantikörper aufgetragen – hierbei ab 6747 – der gegen den Primärantikörper gerichtet ist. Dabei ist der Sekundärantikörper mit einem Enzym gekoppelt. Wird im Anschluss daran das passende Chromogen auf das Gewebe gegeben – in diesem Fall DAB (Dako, Hamburg, Deutschland) – wird dieses durch das gekoppelte Enzym am Sekundärantikörper umgewandelt und ein Farbumschlag ist sichtbar, der, wie in diesem Fall, braun ist (Abbildung 2.2).

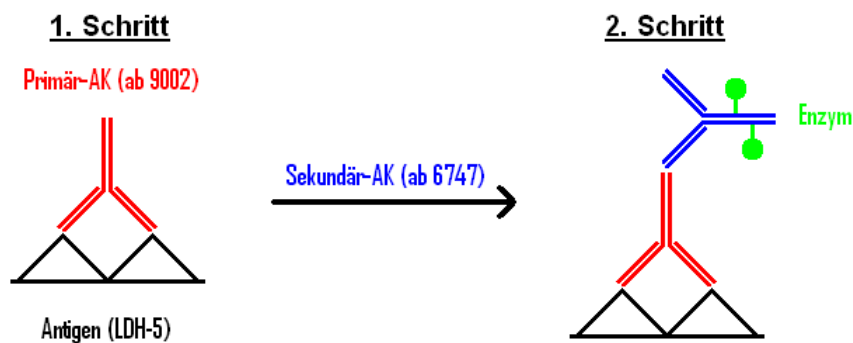


Abbildung 2.2: Indirekte Immunhistochemie (Zwei-Schritt-Methode)

### 2.4.3.3 Beschreibung der Antikörper ab 9002 und ab 6747

Der Antikörper ab 9002 (Abcam, Cambridge, Großbritannien) ist ein polyklonaler Primärantikörper der IgG-Fraktion, der gegen die menschliche Laktatdehydrogenase 5 im Zytoplasma gerichtet ist. Er liegt in einer Konzentration von 8 mg/ml flüssig vor. Gewonnen wurde er vom Schaf und als Immunogen diente die LDH-5, die aus einer menschlichen Placenta aufbereitet wurde. Eine Kreuzreaktivität gegenüber der Laktatdehydrogenase 2,3 und 4 kann die Firma Abcam nicht sicher ausschließen, da sich diese Enzyme sehr ähnlich sind und diesbezüglich keine Versuche durchgeführt wurden. Der Antikörper ab 6747 (Abcam, Cambridge, Großbritannien) ist ein polyklonaler Sekundärantikörper der IgG-Fraktion. Er wurde vom Hasen gewonnen und ist gegen IgG-Antikörper vom Schaf gerichtet. Er liegt in einer Konzentration von 2 mg/ml flüssig vor.



#### **2.4.3.4 Konzentrationsversuche**

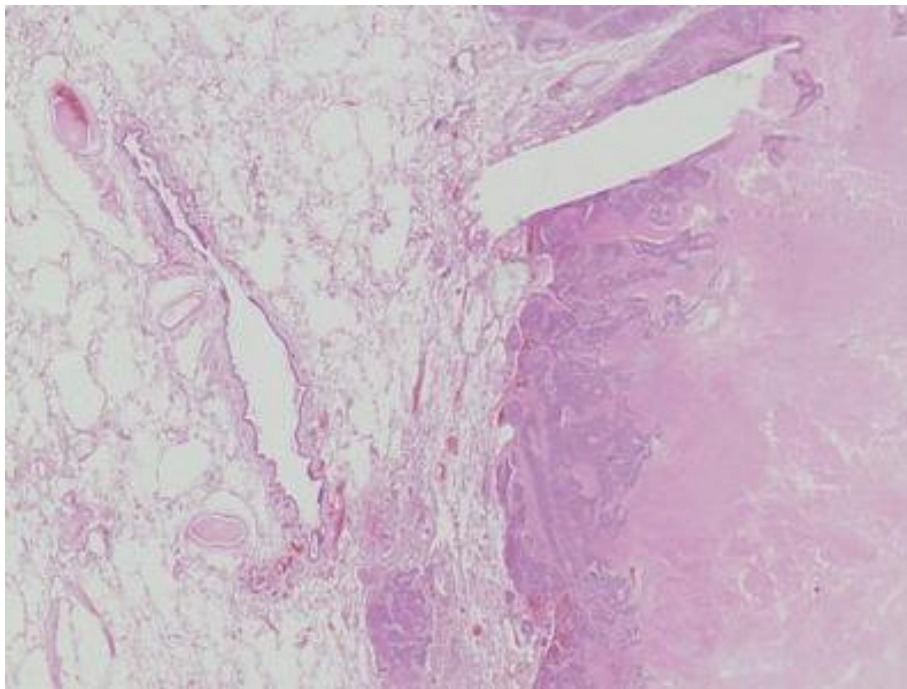
Um eine optimale Farbgebung durch die immunhistochemische Färbung zu bekommen, musste die Konzentration des Primärantikörpers und die Verdünnung des Sekundärantikörpers durch Versuchsreihen erst ermittelt werden. Hierzu wurden zufällig ausgewählte Probeschnitte in aufsteigenden Konzentrations- und Verünnungsreihen mit dem Primär- und Sekundärantikörper inkubiert, bis sich eine optimale Farbgebung darstellte. In diesem Fall war das für den Primärantikörper ab 9002 eine Konzentration von  $16 \mu\text{g}/\text{ml}$  und für den Sekundärantikörper ab 6747 eine Verdünnung von  $1/250$ .

#### **2.4.3.5 Färbung nach LDH-5**

Die vorbereiteten Präparate wurden mit dem Primärantikörper ab 9002 (Abcam, Cambridge, Großbritannien) in einer Konzentration von  $16 \mu\text{g}/\text{ml}$  in einer feuchten Kammer über Nacht im Kühlschrank inkubiert. Hiernach mussten die Präparate in  $0,05 \text{ M}$  Tris-Puffer pH 7,6 fünfmal für jeweils 2 Minuten gewaschen werden. Als nächsten Schritt wurden die Präparate mit dem Sekundärantikörper ab 6747 (Abcam, Cambridge, Großbritannien) in einer Verdünnung von 1:250 für 30 Minuten bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer inkubiert und anschließend in  $0,05 \text{ M}$  Tris-Puffer pH 7,6 fünfmal für jeweils 2 Minuten gewaschen. Die Visualisierung der Signals erfolgte mit dem Chromogen DAB K3468 (Dako, Hamburg, Deutschland) unter lichtmikroskopischer Kontrolle und wurde durch Eintauchen bzw. einer Verweildauer von 5 Minuten in bi. dest. gestoppt. Im Anschluss erfolgte die Kernfärbung durch zweiminütiges Einwirken von Hämalaun und folgendem fünfminütigem Differenzieren unter fließendem Wasser. Abschließend erfolgte die Dehydrierung der Präparate, indem diese sukzessive für jeweils 3 Minuten zweimal in 96%igem Alkohol, zweimal in 100%igem Alkohol und dreimal in Xylol verweilten und folgend mit Entellan (Merck, Darmstadt, Deutschland) eingedeckt wurden.

#### **2.4.4 Lichtmikroskopische Auswertung**

Zuerst wurden sowohl die LDH-5-, als auch die Hämatoxylin-Eosin-gefärbten Präparate auf einen Computer digital eingescannt, so dass die Tumorschnitte orientierend als Ganzes vergrößert betrachtet werden konnten. Die lichtmikroskopische Auswertung erfolgte für die LDH-5-Gesamtimpression, die LDH-5-Expression und die LDH-5-Intensität. Hierbei wurden die nach LDH-5-gefärbten Tumorschnitte immer im Vergleich zu den Hämatoxylin-Eosin-gefärbten Tumorschnitten betrachtet, um vitale Tumorzellverbände sicher von Nekrosen, Bindegewebe, Lymphknoten und entzündlichen Infiltraten unterscheiden zu können ([Abbildung 2.3](#)).



(a) Hämatoxylin-Eosin-Färbung



(b) LDH-5-Färbung

Abbildung 2.3: Beispiel einer Hämatoxylin-Eosin- und LDH-5-Färbung:  
Links: Lungenparenchym, Mitte: Tumor, Rechts: Nekrose

#### 2.4.4.1 LDH-5-Gesamtimpression

Die Gesamtimpression ist ein Parameter, der den ersten Eindruck des vitalen Tumorgewebes in einer schwachen Vergrößerung ( $\times 25$ ) beschreibt. Dabei steht die „Stufe 1“ für die minimale Ausprägung der Gesamtimpression mit wenig vitalem, verstreutem Tumorgewebe und schwacher LDH-5-Exprimierung und die „Stufe 5“ für die maximale Ausprägung der Gesamtimpression mit viel solidem Tumorgewebe und starker LDH-5-Exprimierung. Dazwischen muss individuell entschieden werden, welcher Wert der jeweiligen Gesamtimpression entspricht. Es wurde 1 Feld/Präparat in 25facher Vergrößerung ausgewertet, so dass insgesamt 61 Auswertungen erfolgten.

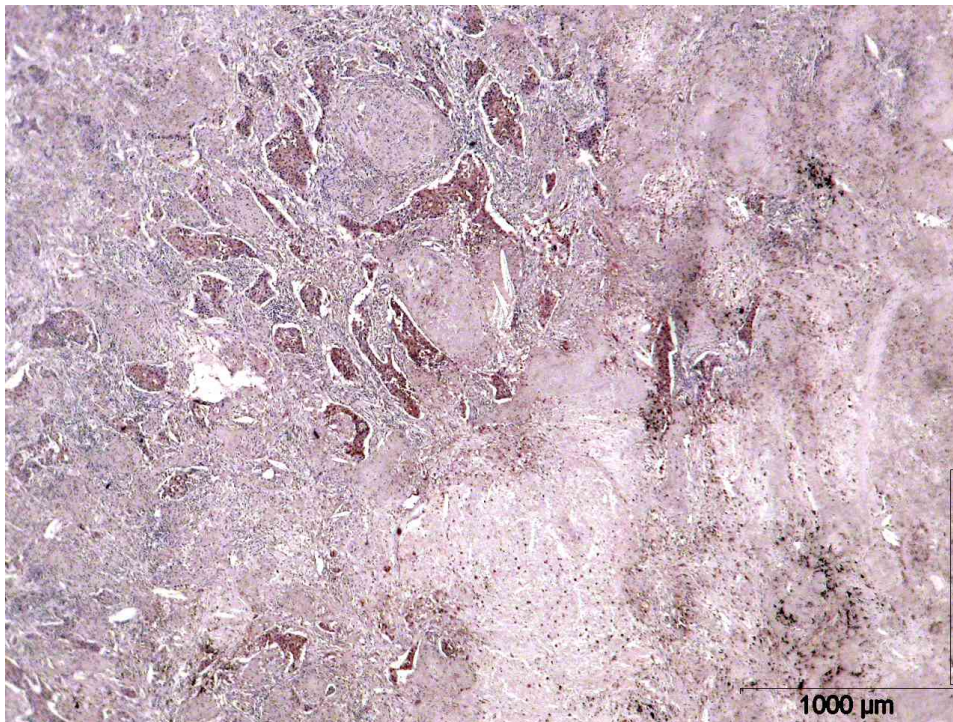


Abbildung 2.4: LDH-5-Gesamtimpression der „Stufe 1“ in 25facher Vergrößerung

Ein Beispiel für die minimale sowie maximale Ausprägung der Gesamtimpression ist [Abbildung 2.4](#) sowie [2.5](#) zu entnehmen und ein Schema des Auswertungsbogens ist in [Abbildung 2.8](#) dargestellt.



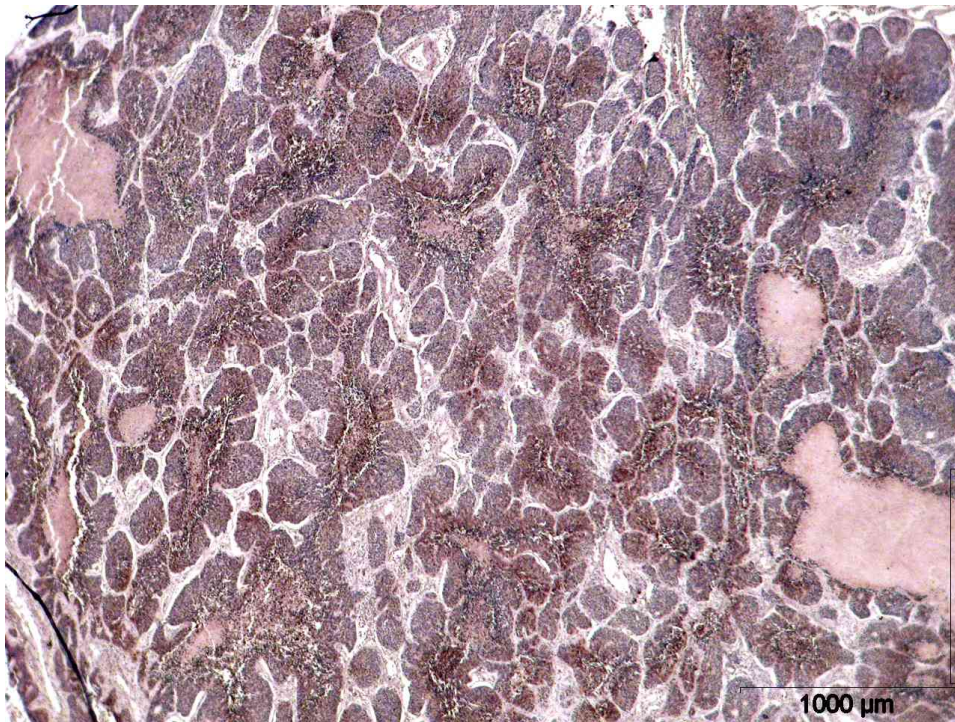


Abbildung 2.5: LDH-5-Gesamtimpression der „Stufe 5“ in 25facher Vergrößerung

#### 2.4.4.2 LDH-5-Expression

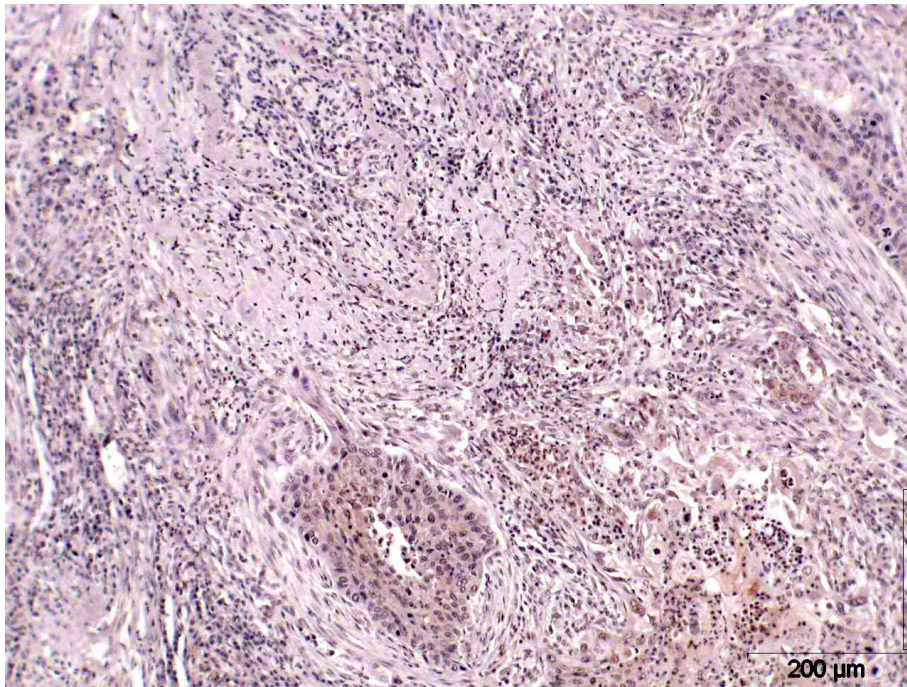
Die Expression ist ein Parameter, der den quantitativen Anteil von vitalem, nach LDH-5-gefärbten Tumorgewebe im Präparat widerspiegelt. Dabei

Wert	Verteilung der LDH-5-Expression im untersuchten Feld
1	<10%
2	10 - 25%
3	25 - 50%
4	50 - 75%
5	>75%

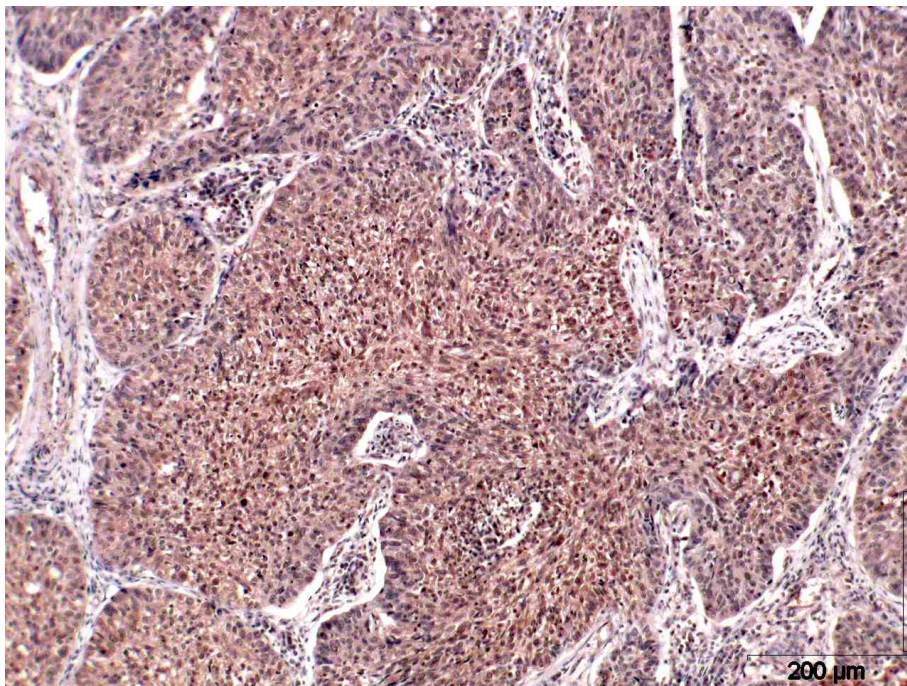
Tabelle 2.3: Semiquantitative Skala für die LDH-5-Expression

bedeutet die „Stufe 1“, dass weniger als 10% und damit eher disseminierte, und die „Stufe 5“, dass mehr als 75% und damit eher solide Verbände, an





(a) „Stufe 1“



(b) „Stufe 5“

Abbildung 2.6: Beispiel der LDH-5-Expression in 100facher Vergrößerung

vitalen Tumorgewebe im untersuchten Feld in 100facher Vergrößerung vorhanden sind. Die Abstufungen dazwischen sind der [Tabelle 2.3](#) zu entnehmen. Insgesamt konnten 572 Felder mit im Schnitt 9,4 Felder/Präparat ausgewertet werden ([Abbildung 2.8](#)). Ein Beispiel für die minimale sowie maximale Ausprägung der LDH-5-Expression ist [Abbildung 2.6](#) zu entnehmen.

#### 2.4.4.3 LDH-5-Intensität

Die Intensität ist ein Parameter, der den Grad der Anfärbung des nach LDH-5-gefärbten, vitalen Tumorgewebes im Präparat beschreibt. Dabei bedeutet die „Stufe 1“, dass der Grad der Anfärbung sehr schwach, und die „Stufe 5“, dass der Grad der Anfärbung des vitalen Tumorgewebes im untersuchten Feld nach LDH-5 sehr stark ausgeprägt ist. Die Abstufungen dazwischen sind der [Tabelle 2.4](#) zu entnehmen.

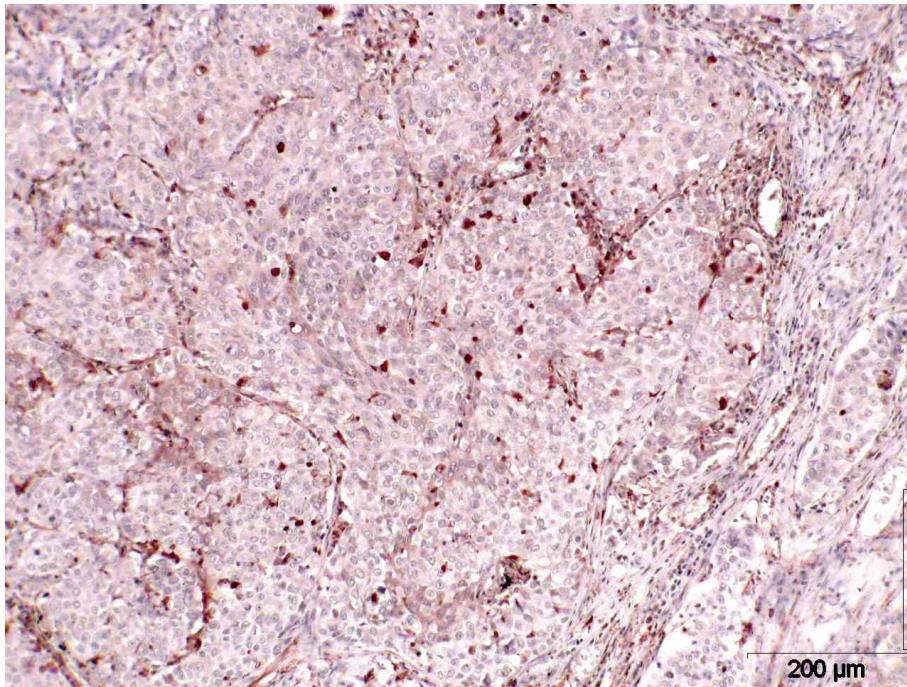
Wert	Grad der LDH-5 Anfärbung im untersuchten Feld
1	sehr schwach
2	schwach
3	mittelstark
4	stark
5	sehr stark

Tabelle 2.4: Semiquantitative Skala für die LDH-5-Intensität

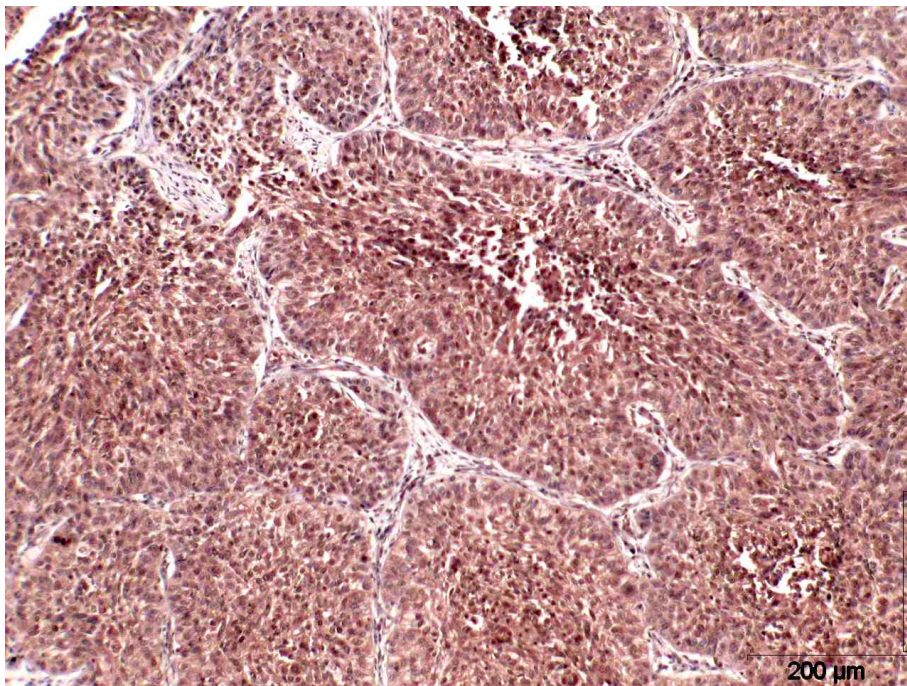
Insgesamt konnten 574 Felder mit im Schnitt 9,41 Felder/Präparat in 100facher Vergrößerung ausgewertet werden. Diese Beurteilungswerte wurden 2-3 Mal pro Präparat in einer 400fachen Vergrößerung stichprobenartig kontrolliert ([Abbildung 2.8](#)). Ein Beispiel für die Bewertung der Intensität mit der „Stufe 1“ (sehr schwach) zeigt [Abbildung 2.7a](#) und mit der „Stufe 5“ (sehr stark) zeigt [Abbildung 2.7b](#).

Dieser Vorgang der Auswertung, also die lichtmikroskopische Betrachtung des Tumorgewebes in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung und der LDH-5-Färbung für die Bestimmung der LDH-5-Gesamtimpression, der LDH-5-Expression und der LDH-5-Intensität, wurde von zwei Untersuchern unabhängig voneinander durchgeführt.





(a) „Stufe 1“ (sehr schwach)



(b) „Stufe 5“ (sehr stark)

Abbildung 2.7: Beispiel der LDH-5-Intensität in 100facher Vergrößerung

Auswertung pro Objekt:

Patient: (Name, Vorname, Gebdat.; Pathologie-Präparatenummer, Buchstaben)

---

Gesamtimpression (x 25):

Detailauswertung (x 100):

x 100	Expression	Intensität	Intensität x 400
Feld 1			
Feld 2			
Feld 3			
Feld 4			
Feld 5			
Feld 6			
Feld 7			
Feld 8			
Feld 9			
Feld 10			
Summe:			
Durchschnitt:			

Stand: 26.7.2007  
B. Danner/ Fr. Beushausen

Abbildung 2.8: Auswertungsbogen



### 2.4.5 Cut-off-Werte der Tumor-LDH

Bei der immunhistochemischen Untersuchung wurde geprüft, ob sich ein Unterschied in der Überlebenszeit je nach schwacher oder starker Expressierung der LDH-5 in den Tumorzellen zeigte. Dabei wurde im Kollektiv A jeweils für die LDH-5-Gesamtimpression, die LDH-5-Expression und die LDH-5-Intensität eine eigene Trennlinie definiert. Kollektiv B, welches ein Teilkollektiv von Kollektiv A war, übernahm diese Trennlinie. Um diese Trennlinien möglichst objektiv festzusetzen, orientierte sich die Festlegung an der Patientenzahl. Der Wert der Trennlinie wurde so gesetzt, dass ein möglichst ausgeglichenes Verhältnis an Patienten mit einem Wert unterhalb und oberhalb der Trennlinie bestand. Diese Gruppenzuordnung erfolgte bei der LDH-5-Expression und der LDH-5-Intensität, da hier mehrere Werte pro Präparat erfasst wurden, anhand der Mediane der lichtmikroskopisch bestimmten Werte der Patienten. Die Festlegung der Trennlinien wurde sowohl bei der Hauptuntersuchung, als auch bei der Kontrolluntersuchung individuell vollzogen, so dass bei einer möglichen systematisch stärkeren bzw. schwächeren Bewertung der Untersucher die Zuordnung der Patienten zur richtigen Gruppe (starke bzw. schwache Expressierung) nicht verfälscht wurde.

## 2.5 Statistische Verfahren

Die statistische Auswertung der erhobenen Patientendaten erfolgte unter Verwendung des Programms Statistica (Version 8.0) für Windows von Stat-Soft.

Für die epidemiologischen Daten der Patienten sowie für die Verteilung der untersuchten Variablen (Serum-LDH, Tumor-LDH) wurde der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet und mittels Histogramm dargestellt. Bei der präoperativen Serum-LDH wurde zusätzlich der Median berechnet.

Um den Verlauf der Serum-LDH zu kategorisieren, wurde der postoperative Serum-LDH-Wert vom präoperativen Wert subtrahiert. Das Resultat ist ein Wert, der je nach Höhe und Vorzeichen die Stärke eines Anstiegs bzw. Abfalls der Serum-LDH nach Tumorresektion beschreibt.

Um signifikante Unterschiede in der Überlebenszeit zwischen zwei oder mehreren Gruppen festzustellen, wurde der Log-Rank-Test verwendet. Dabei wurde bei einem Signifikanzniveau von 5% ( $p < 0,05$ ) die angenommene Nullhypothese (Gleichheit zwischen Gruppen) verworfen, d.h., dass sich die Gruppen bei einem  $p$ -Wert  $< 0,05$  in der Überlebenszeit statistisch signifikant unterscheiden. Die Survivalfunktionen wurden für die jeweiligen Tests mittels der Kaplan-Meier-Methode geschätzt.

Zudem wurde der Zusammenhang zwischen der präoperativen Serum-LDH und der Tumor-LDH überprüft. Die Berechnung erfolgte mittels des Kendall'schen Rangkorrelationskoeffizienten  $\tau$ . Nimmt  $\tau$  seinen maximalen Wert von 1 an, so haben die der Größe nach geordneten Werte der beiden zu vergleichenden Messreihen die gleiche Reihenfolge. Ist  $\tau = -1$  (kleinstmöglicher Wert), so verlaufen die geordneten Werte gegensinnig. Bei einem Wert von 0 ist kein Zusammenhang zwischen den beiden Messreihen gegeben. Dieses Modell wurde auch benutzt, um die Messreihen der Haupt- und Kontrolluntersuchung zu vergleichen.

# Kapitel 3

## Ergebnisse

### 3.1 Epidemiologische Daten

#### 3.1.1 Demographische Übersicht

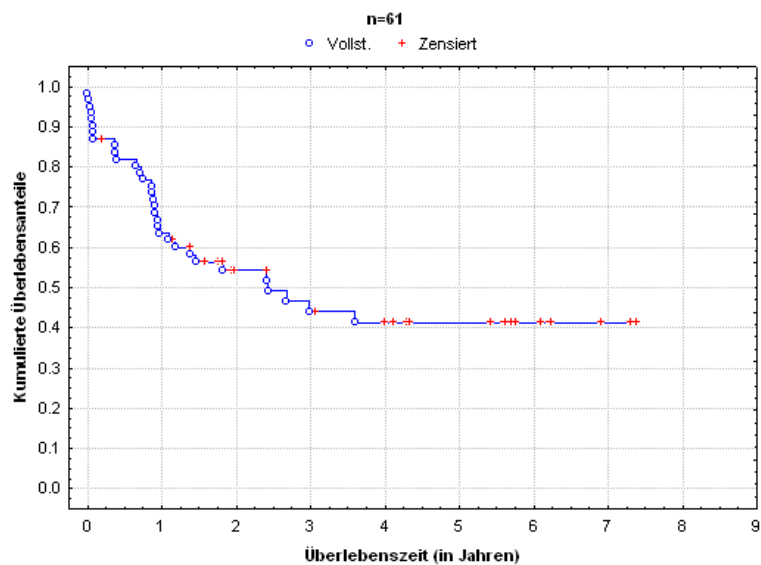


Abbildung 3.1: Überlebenszeit des Gesamtkollektivs

In unsere Studie wurden 61 Patienten eingeschlossen. Davon waren 59 Patienten Männer und 2 Patienten Frauen mit einem durchschnittlichen Lebensalter von 68,37 Jahren (SD 8,80) bei den Männern und 58,32 Jahren (SD 0,75) bei den Frauen. In der Nachbeobachtungsphase konnten 100% der Patienten erfasst werden. Ungefähr die Hälfte der Patienten waren im Stadium I (Ia = 10, Ib = 18), wobei sich die andere Hälfte der Patienten auf

die Stadien II und III verteilte, mit den Schwerpunkten in Stadium IIb und IIIa. Eine neoadjuvante Behandlung in Form einer Strahlen- oder Chemotherapie wurde bei 7 Patienten, eine adjuvante Behandlung bei 15 Patienten durchgeführt.

<b>Gesamtkollektiv</b>	<b>n = 61</b>
Kollektiv A	n = 53 (s. Tab. 2.1)
Kollektiv B	n = 45 (s. Tab. 2.1)
Geschlecht	♂ = 59 (97%) ♀ = 2 (3%)
durchschnittl. Lebensalter	♂ = 68,37 Jahre (SD 8,80) ♀ = 58,32 Jahre (SD 0,75)
mittlere Beobachtungsdauer	Gesamtkollektiv: 2,30 Jahre (SD 2,16) am Primärtumor Verstorbene (n=18): 1,41 Jahre (SD 0,99) Lebende (n=29): 3,74 Jahre (SD 2,21)
erfasste Nachsorge	100%
Stadium mit 5-Jahresüberlebensrate	Ia n = 10 (16%), 5-JÜR: 80% Ib n = 18 (30%), 5-JÜR: 43% IIa n = 3 (5%), 5-JÜR: 33% IIb n = 11 (18%), 5-JÜR: 36% IIIa n = 13 (21%), 5-JÜR: 19% IIIb n = 4 (7%), 5-JÜR: 38% Tx n = 2 (3%), 5-JÜR: 0%
Todesursache	Tod perioperativ n = 8 Primärtumor n = 18 nicht tumorbedingt n = 5 unbekannt = 1
lebend	n = 29 (48%), davon: Disease free survival: n = 28 (97%)
neoadjuvante Behandlung	7 Patienten (11%)(alle ♂)
adjuvante Behandlung	15 Patienten (25%)(♀1, ♂14)
R1-Resektion	6 Patienten (10%)(alle ♂)

Tabelle 3.1: Epidemiologische Daten der Patienten

Knapp ein Drittel der Patienten ist am Primärtumor verstorben, fünf Patien-

ten starben aufgrund anderer Ursache (kardiales sowie hepatisches Versagen, Suizid) und bei einem Patienten ist die Todesursache nicht geklärt, sodass in etwa die Hälfte der Patienten ( $n = 29$ ) zum Endpunkt der Studie noch am leben waren. Davon hat lediglich 1 Patient in der Nachbeobachtungsphase ein Rezidiv und Spätmetastasen entwickelt ( Tabelle 3.1 ). Bei sechs Patienten des Gesamtkollektivs wurde nur eine R1-Resektion erreicht. Diese Patienten hatten lediglich eine mittlere Überlebenszeit von 0,39 Jahren (SD 0,42). Die mittlere Beobachtungsdauer über alle Patienten betrug 2,30 Jahre (SD 2,16) und die 5-JÜR 41% ( Abbildung 3.1 ). Die Nachbeobachtung der zum Endpunkt der Studie noch lebenden Patienten ( $n=29$ ) betrug durchschnittlich 3,74 Jahre (SD 2,21), wobei die Patienten, die an der Folge des Primärtumors verstorben sind, durchschnittlich 1,41 Jahre (SD 0,99) überlebt haben. Im Gegensatz zu den verstorbenen Patienten, bei denen Stadium IIB und IIIa dominierte, waren die noch lebenden Patienten zum Endpunkt der Studie tendentiell mehr im Stadium I ( Tabelle 3.2 ).

	Stadium							Adjuvant	
	Ia	Ib	IIa	IIB	IIIa	IIIb	Tx	ja	nein
<b>Lebende</b>	8	10	1	4	3	2	1	8	19
<b>Verstorbene</b>	2	8	2	7	10	2	1	8	24

Tabelle 3.2: Verteilung der Stadien und der adjuvanten Therapie bei lebenden und verstorbenen Patienten

### 3.1.2 Stadienadaptierte Überlebenszeiten

Insgesamt konnte bei 52 Patienten die stadienbezogene Überlebenszeit betrachtet werden, da zwei Patienten aufgrund eines im Resektat nicht mehr nachweisbaren Primärtumors (Tx) auszuschließen waren. Zudem wurde die Darstellung der 5-Jahresüberlebensrate für die Patienten in den Stadien IIA und IIIB aufgrund der geringen Anzahl an Patienten (St. IIA:  $n=3$ , St. IIIB:  $n=4$ ) nicht durchgeführt. Auch auf die Einbeziehung dieser Patienten bei der Untersuchung auf einen statistischen Unterschied in der Überlebenszeit zwischen den Stadien wurde aus gleichem Grund verzichtet. ( Abbildung 3.2 ). Der Unterschied in der Überlebenszeit zwischen den Stadien IA, IB, IIB und IIIa war mit einem p-Wert von 0,101 statistisch nicht signifikant. Werden allerdings die 5-JÜR betrachtet, so ist ersichtlich, dass das Stadium Ia mit einer 5-JÜR von 80% ein deutlich besseres Überleben zeigte, als Stadium Ib mit einer 5-JÜR von 43%, Stadium IIB mit einer 5-JÜR von 36% und Stadium IIIa mit einer 5-JÜR von nur noch 19%.

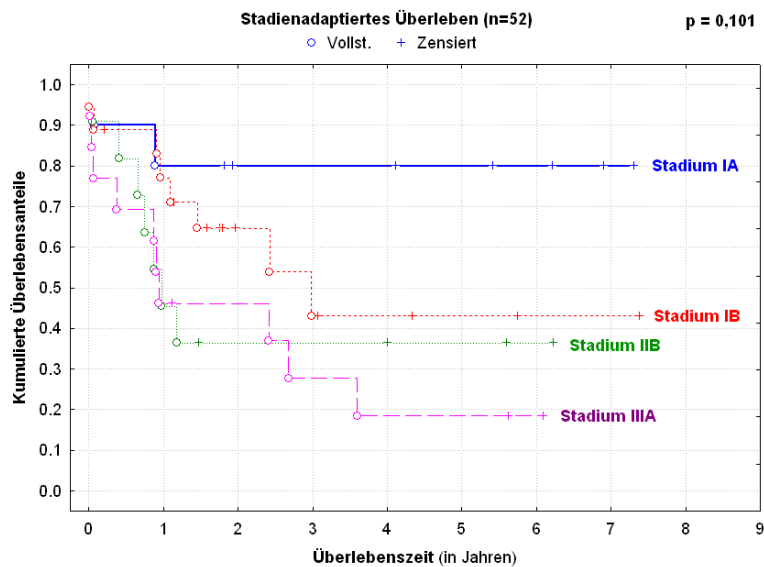


Abbildung 3.2: Stadienadaptierte Überlebenszeit

Einem Teil der Patienten des betrachteten Kollektivs ( $n=4$ ) wurde eine neoadjuvante Behandlung zuteil. Nach Ausschluss dieser Patienten war der Unterschied in der Überlebenszeit der Patienten zwischen den Stadien mit einem p-Wert von 0,068 annähernd signifikant. Die 5-Jahresüberlebensrate stieg vor allem in Stadium IA von 80% auf 89% an. Ohne die neoadjuvant behandelten Patienten sind folglich nur noch die Patienten betrachtet worden, deren Stadien auch die tatsächlichen biologischen Eigenschaften des Tumors widerspiegeln. Das Stadium eines neoadjuvant behandelten Patienten ist durch Bestimmung des intraoperativ gewonnenen Resektats in der Regel besser, als es vor dem Downstaging war.

Zudem wurde der Einfluss einer adjuvanten Therapie auf die Überlebenszeiten der Patienten in den verschiedenen Stadien in [Tabelle 3.3](#) dargestellt. Eine adjuvante Behandlung wurde vermehrt bei Patienten mit Stadium IIB und IIIA durchgeführt, so dass hier ein Vergleich zwischen der Überlebenszeit der Patienten mit bzw. ohne adjuvante Behandlung sinnvoll erschien. Die Patienten mit adjuvanter Behandlung hatten im Stadium IIB eine schlechtere 1-JÜR und im Stadium IIIA eine bessere 2-JÜR als die Patienten, die nicht adjuvant behandelt wurden. Allerdings war der Unterschied in der Überlebenszeit in beiden Stadien zwischen adjuvant behandelten und nicht adjuvant behandelten Patienten im Log-Rank-Test statistisch nicht signifikant.

Adjuvante Therapie	St. Ia		St. Ib		St.IIb		St. IIIa	
	n	ÜR	n	ÜR	n	ÜR	n	ÜR
Ja	0		2		4	1-JÜR 25%	5	2-JÜR 60%
Nein	9	2-JÜR 89%	15	2-JÜR 60%	7	1-JÜR 57%	8	2-JÜR 43%

Tabelle 3.3: Stadienadaptierter Vergleich der Überlebensraten zwischen Patienten mit und ohne adjuvante Therapie

## 3.2 Serum-LDH

### 3.2.1 Verteilung der Serum-LDH

Die präoperative Serum-LDH der Patienten des Gesamtkollektivs betrug im Mittel 197,31 U/L (SD 42,7) mit einem Median von 190 U/L ( Abbildung 3.3a ). Somit war sowohl der Mittelwert, als auch der Median niedriger als bei der postoperativen Serum-LDH. Immerhin konnte bei 53 Patienten der postoperative Serum-LDH-Wert mit einem Mittelwert von 228,19 U/L (SD 79,65) und einem Median von 215 U/L ermittelt werden ( Abbildung 3.3b ).

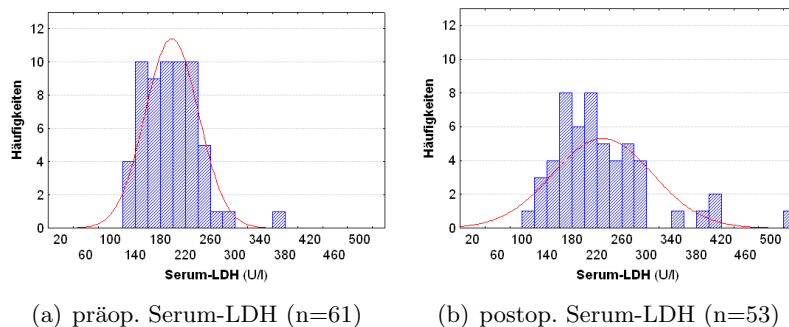


Abbildung 3.3: Verteilung der Serum-LDH

Das Kollektiv A hatte eine durchschnittliche präoperative Serum-LDH von 194,32 U/L (SD 41,47) und eine postoperative Serum-LDH (n=49) von 211,91 U/L (SD 66,09). Das Kollektiv B hatte eine durchschnittliche präoperative Serum-LDH von 192,36 U/L (SD 40,71) und eine postoperative Serum-LDH (n=40) von 214,78 U/L (SD 70,13) ( Tabelle 3.4 ).

Serum-LDH in Koll.	präoperativ (U/L)			postoperativ (U/L)		
	MW <sup>1</sup>	Min. <sup>2</sup>	Max. <sup>3</sup>	MW <sup>1</sup>	Min. <sup>2</sup>	Max. <sup>3</sup>
<b>Gesamt</b>	197,31	133	364	228,19	120	533
<b>Koll. A</b>	194,32	136	364	211,91	120	533
<b>Koll. B</b>	192,36	136	364	214,78	120	533

<sup>1</sup> Mittelwert

<sup>2</sup> minimaler Wert

<sup>3</sup> maximaler Wert

Tabelle 3.4: Vergleich der prä- und postoperativen Serum-LDH-Mittelwerte zwischen den drei Kollektiven

## 3.2.2 Präoperative Serum-LDH

### 3.2.2.1 Kollektiv A

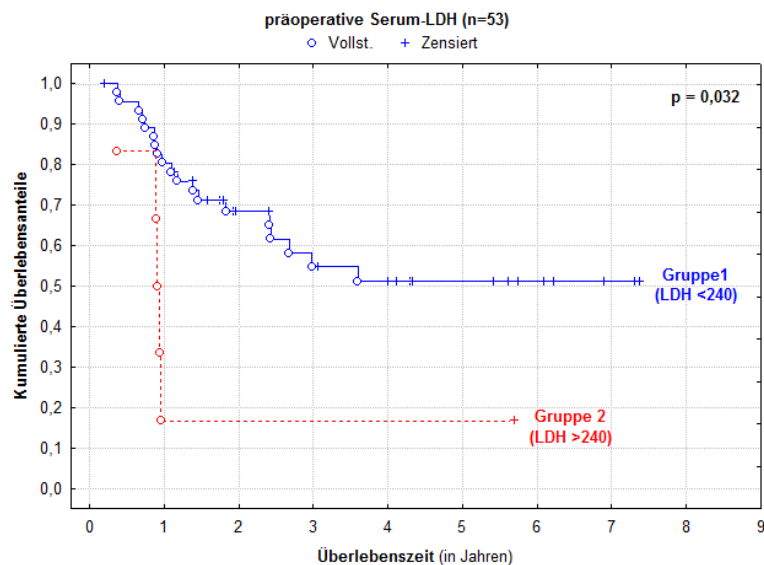


Abbildung 3.4: Korrelation zw. der präoperativen Serum-LDH und der Überlebenszeit

Die Patienten in Kollektiv A wurden in zwei Gruppen eingeteilt: **Gruppe 1** mit einer Serum-LDH  $\leq 240$  U/L (n=47) und **Gruppe 2** mit einer Serum-LDH  $> 240$  U/L (n=6). Gruppe 1 zeigte eine 5-JÜR von 51%, wobei Gruppe 2 lediglich eine 5-JÜR von 17% aufwies. Dieser Unterschied in der Überlebenszeit war mit einem p-Wert von 0,032 statistisch signifikant (Abbildung 3.4).



In einer zweiten Untersuchung wurden die neoadjuvant behandelten Patienten aus dem Kollektiv A ausgeschlossen. Nach Ausschluss waren noch 47 Patienten im Kollektiv A und der Unterschied in der Überlebenszeit der Patienten zwischen Gruppe 1 (n=43) und Gruppe 2 (n=4) war mit einem p-Wert von 0,011 hoch signifikant. Die 1-JÜR betrug in Gruppe 1 81% und die 5-JÜR 49%, wobei in Gruppe 2 alle Patienten nach einem Jahr verstorben sind (Tabelle 3.5).

### 3.2.2.2 Kollektiv B

Im Kollektiv B bestand **Gruppe 1** aus 42 Patienten und **Gruppe 2** aus drei Patienten. Der Unterschied in der Überlebenswahrscheinlichkeit war mit einem p-Wert von 0,209 statistisch nicht signifikant. Die 5-JÜR betrug in Gruppe 1 57% und in Gruppe 2 34%.

Unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten umfasste das Kollektiv B noch 40 Patienten: 38 Patienten aus Gruppe 1 und zwei Patienten aus Gruppe 2. Der Unterschied in der Überlebenswahrscheinlichkeit war zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 mit einem p-Wert von 0,031 statistisch signifikant. Die 5-JÜR von Gruppe 1 betrug 56%, wobei in Gruppe 2 nach 1 Jahr beide Patienten verstorben sind (Tabelle 3.5).

Kollektive	$\leq 240$ U/L		$> 240$ U/L		p-Wert
	n	5-JÜR	n	5-JÜR	
<b>Kollektiv A</b>	47	51%	6	17%	<b>0,032</b>
<b>Kollektiv A (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	43	59%	4	0%	<b>0,011</b>
<b>Kollektiv B</b>	42	57%	3	34%	0,210
<b>Kollektiv B (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	38	56%	2	0%	<b>0,031</b>

Tabelle 3.5: Korrelation zw. der präoperativen Serum-LDH und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B

### 3.2.3 Verlauf der Serum-LDH

#### 3.2.3.1 Kollektiv A

Das Kollektiv A umfasste ausnahmsweise 47 Patienten, da 6 Patienten aufgrund einer unbekanntenen postoperativen Serum-LDH zusätzlich auszuschließen waren. **Gruppe 1**, mit einem Anstieg der Serum-LDH nach Tumorsektion, bestand aus 27 Patienten. Der Mittelwert des Anstiegs betrug 54,74

U/L (SD 72,84). **Gruppe 2**, mit einem Abfall der Serum-LDH bestand aus 20 Patienten mit einem Mittelwert von 32,7 U/L (SD 33,38). Im Log-Rank-Test ergab sich zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 mit einem p-Wert von 0,857 kein statistisch signifikanten Unterschied in der Überlebenszeit. Die 5-JÜR von Gruppe 1 betrug 54% und von Gruppe 2 52% (Abbildung 3.5).

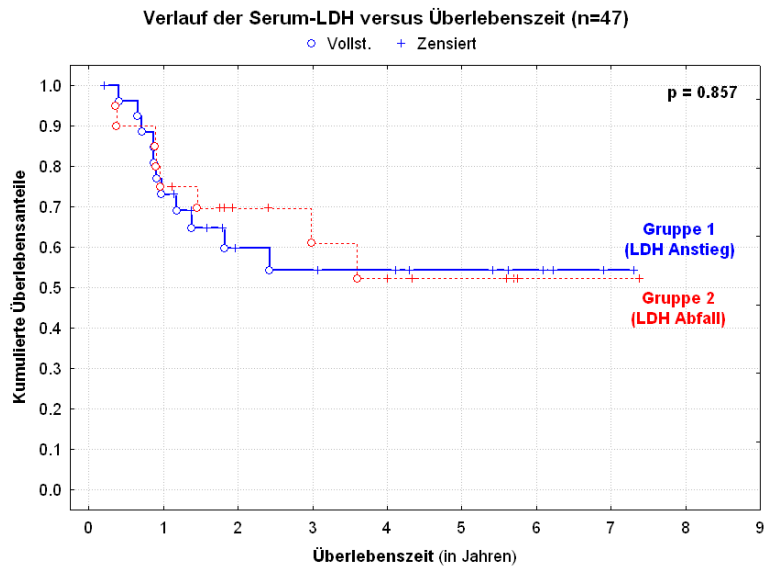


Abbildung 3.5: Korrelation zw. dem Verlauf der Serum-LDH und der Überlebenszeit

Kollektive	Anstieg		Abfall		p-Wert
	n	5-JÜR	n	5-JÜR	
<b>Kollektiv A</b>	27	54%	20	52%	0,857
<b>Kollektiv A (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	25	50%	17	50%	0,670
<b>Kollektiv B</b>	23	65%	17	62%	0,911
<b>Kollektiv B (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	21	60%	14	61%	0,659

Tabelle 3.6: Korrelation zw. dem Verlauf der Serum-LDH und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B

Unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten verblieben 42 Patienten im Kollektiv A mit 25 Patienten in Gruppe 1 und 17 Patienten in Gruppe 2. Der Log-Rank-Test zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 ergab mit einem p-Wert von 0,670 keinen statistisch signifikanten Unterschied. Die 5-JÜR betrug sowohl für Gruppe 1 als auch für Gruppe 2 50% (Tabelle 3.6).

### 3.2.3.2 Kollektiv B

Die Untersuchungen in Kollektiv B zeigten ähnliche Ergebnisse wie in Kollektiv A (Tabelle 3.6).

## 3.3 Tumor-LDH

### 3.3.1 LDH-5-Gesamtimpression

#### 3.3.1.1 Verteilung der LDH-5-Gesamtimpression

Die Verteilung der semiquantitativen Bewertung der LDH-5-Gesamtimpression im Tumor ist der Abbildung 3.6 sowie der Tabelle 3.7 zu entnehmen. Der Mittelwert für die LDH-5-Gesamtimpression betrug 3,02 (SD 0,94).

	LDH-5-Gesamtimpression					
	Gesamt	Stufe 1	Stufe 2	Stufe 3	Stufe 4	Stufe 5
<b>Häufigkeit der Felder</b>	61	3	14	26	15	3

Tabelle 3.7: Stufenadaptierte Häufigkeit der ausgewerteten Felder der LDH-5-Gesamtimpression

**Gruppe 1** umfasste Patienten mit der Stufe „1-3“ der LDH-5-Gesamtimpression, und **Gruppe 2** Patienten mit der Stufe „4-5“. Auffällig bei der stadienadaptierten Verteilung der beiden Gruppen war, dass das Verhältnis zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 im Kollektiv A im Stadium II 11:1 betrug (Tabelle 3.8), und im Kollektiv B kein Patient aus Gruppe 2 im Stadium II war.

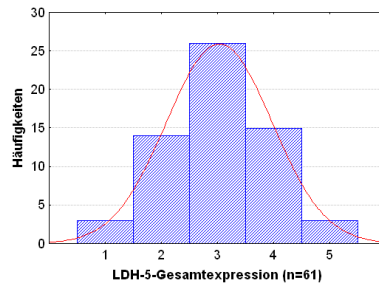


Abbildung 3.6: Stufenadaptierte Verteilung der LDH-5-Gesamtimpression

LDH-5-Gesamtimpression	Gesamt	Stadium						
		Ia	Ib	IIa	IIb	IIIa	IIIb	Tx
Stufe „1-3“	36	7	8	2	9	5	3	2
Stufe „4-5“	17	2	8	0	1	5	1	0

Tabelle 3.8: Stadienadaptierte Verteilung der LDH-5-Gesamtimpression im Kollektiv A

### 3.3.1.2 Kollektiv A

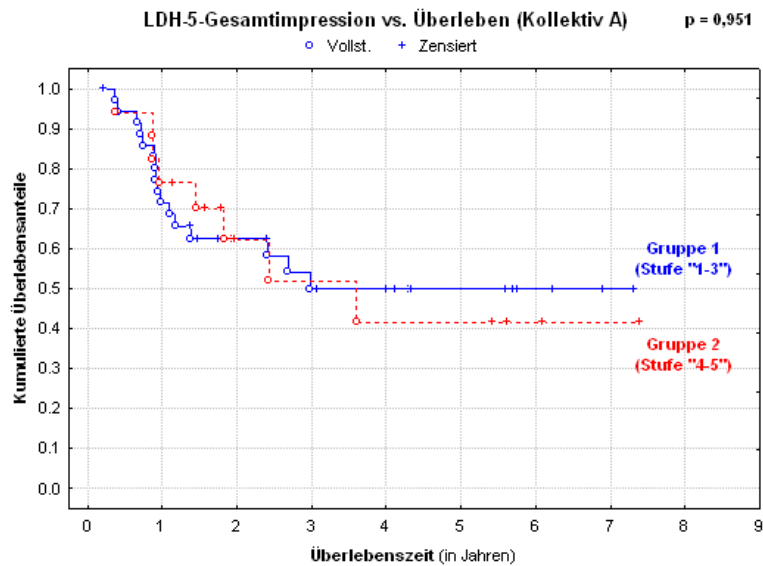


Abbildung 3.7: Korrelation zw. LDH-5-Gesamtimpression und Überlebenszeit im Kollektiv A

Zwischen Gruppe 1 mit 36 Patienten und Gruppe 2 mit 17 Patienten bestand kein statistisch signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit mit einem p-Wert von 0,951 (Abbildung 3.7). Auch die 5-JÜR von Gruppe 1 mit 50% und Gruppe 2 mit 42% unterschieden sich nur unwesentlich.

Unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten verblieben 31 Patienten in Gruppe 1 und 16 Patienten in Gruppe 2. Der p-Wert im Log-Rank-Test ergab 0,604 und die 5-Jahresüberlebensrate sowohl für Gruppe 1, als auch für Gruppe 2 betrug 45% (Tabelle 3.9).

### 3.3.1.3 Kollektiv B

Im Kollektiv B bestand **Gruppe 1** aus 30 Patienten und **Gruppe 2** aus 15 Patienten. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 mit einem p-Wert von 0,651. Die 5-JÜR von Gruppe 1 betrug 60% und von Gruppe 2 47% (Abbildung 3.8).

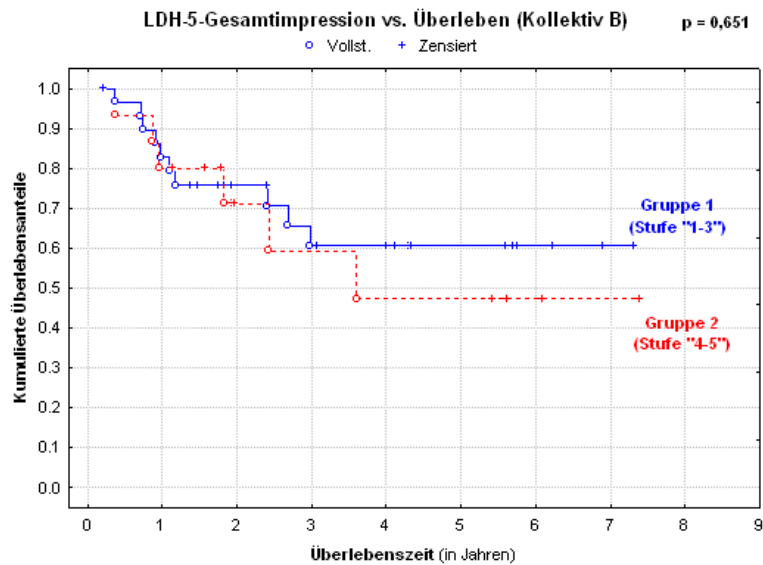


Abbildung 3.8: Korrelation zw. LDH-5-Gesamtimpression und Überlebenszeit im Kollektiv B

Unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten verblieben 26 Patienten in Gruppe 1 und 14 Patienten in Gruppe 2. Der p-Wert im Log-Rank-Test ergab 0,807 und die 5-Jahresüberlebensrate betrug für Gruppe 1 54% und für Gruppe 2 51% (Tabelle 3.9).

Kollektive	Stufe „1-3“		Stufe „4-5“		p-Wert
	n	5-JÜR	n	5-JÜR	
Kollektiv A	36	50%	17	42%	0,951
Kollektiv A (ohne neoadjuvante Pat.)	31	45%	16	45%	0,604
Kollektiv B	30	60%	15	47%	0,651
Kollektiv B (ohne neoadjuvante Pat.)	26	54%	14	51%	0,659

Tabelle 3.9: Korrelation zw. der LDH-5-Gesamtimpression und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Hauptuntersuchung

### 3.3.1.4 Vergleich zur Kontrolle

Der Mittelwert der Beobachtungswerte der LDH-5-Gesamtimpression der Kontrolle betrug 3,23 (SD 0,92) und war damit ein wenig höher als der der Hauptuntersuchung mit 3,02 (SD 0,94). Der Unterschied der Beobachtungswerte zur Kontrolle war mit einem p-Wert von 0,006 statistisch signifikant, wobei die lineare Korrelation mit der Kontrolle mit einem  $\tau$  von 0,68 nach Kendall deutlich war (Abbildung 3.9).

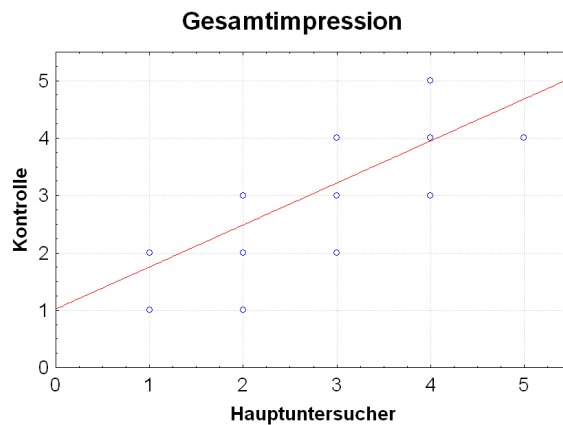


Abbildung 3.9: Korrelation der LDH-5-Gesamtimpression zur Kontrolle

Zudem wurde die Korrelation der LDH-5-Gesamtimpression im Tumor zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung für die einzelnen Kollektive getrennt betrachtet. Für das Gesamtkollektiv wurde zusätzlich die stadienadaptierte Korrelation zur Kontrolle dargestellt. Dabei war die Korrelation

zur Kontrolle in den Kollektiven A und B in etwa gleich dem Gesamtkollektiv. Allerdings war die Korrelation zur Kontrolle im Stadium Ia und IIb höher und in Stadium Ib und IIIa geringer im Vergleich zum Gesamtkollektiv (Tabelle 3.10).

	Gesamtkollektiv Stadium					Kollektiv A	Kollektiv B
	Alle	Ia	Ib	IIb	IIIa		
<b>Kendall's <math>\tau</math></b>	0,68	0,72	0,50	0,80	0,66	0,70	0,67

Tabelle 3.10: Korrelation der LDH-5-Gesamtimpression zur Kontrolle

Des Weiteren wurden die gruppenadaptierten Überlebenszeiten in den verschiedenen Kollektiven der Kontrolle dargestellt. Wie bei der Voruntersuchung zeigte die Kontrolle keine signifikanten Unterschiede in der Überlebenszeit der Patienten zwischen den beiden Gruppen in keinem Kollektiv. Die 5-Jahresüberlebensraten war in allen Kollektiven in Gruppe 1 besser als in Gruppe 2. Vor allem in Kollektiv B war die 5-JÜR in Gruppe 1 über 20% höher als in Gruppe 2 (Tabelle 3.11).

Kollektive	Stufe „1-3“		Stufe „4-5“		p-Wert
	n	5-JÜR	n	5-JÜR	
<b>Kollektiv A</b>	28	54%	25	39%	0,637
<b>Kollektiv A (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	25	52%	22	36%	0,707
<b>Kollektiv B</b>	23	66%	22	45%	0,385
<b>Kollektiv B (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	21	62%	19	44%	0,564

Tabelle 3.11: Korrelation zw. der LDH-5-Gesamtimpression und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Kontrolluntersuchung

Die durchschnittliche Überlebenszeit in Gruppe 1 sowie in Gruppe 2 war zwischen der Haupt- und der Kontrolluntersuchung in keinem Kollektiv signifikant unterschiedlich (Tabelle 3.12).

Gruppe	Kollektiv A Log-Rank-Test	Kollektiv B Log-Rank-Test
Gruppe 1	0,711	0,781
Gruppe 2	0,678	0,900

Tabelle 3.12: Korrelation der Überlebenszeit in Gruppe 1 und 2 zw. der Haupt- und Kontrolluntersuchung (Gesamtimpression)

### 3.3.2 LDH-5-Expression

#### 3.3.2.1 Verteilung der LDH-5-Expression

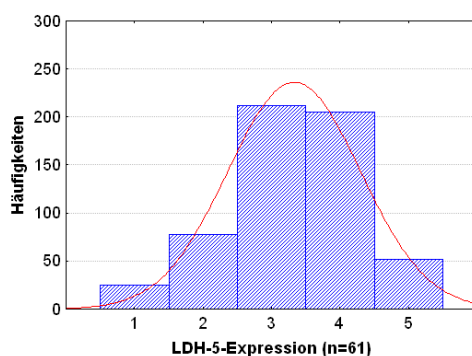


Abbildung 3.10: Stufenadaptierte Verteilung der LDH-5-Expression

	Expression der LDH-5									
	Gesamt	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5
<b>Häufigkeit der Felder</b>	572	25		78		212		205		52
<b>Häufigkeit der Mediane</b>	61		1	9	1	21	3	22	2	2

Tabelle 3.13: Stufenadaptierte Häufigkeit der ausgewerteten Felder sowie der berechneten Mediane der LDH-5-Expression

Die Verteilung der semiquantitativen Bewertung der LDH-5-Expression im Tumor ist [Abbildung 3.10](#) sowie der [Tabelle 3.13](#) zu entnehmen. Der Mit-



telwert betrug 3,32 (SD 0,97).

**Gruppe 1** umfasste Patienten mit einem Median der ausgewerteten Felder der LDH-5-Expression von „1-3“ und **Gruppe 2** Patienten mit einem Median von „3,5-5“. Auffällig bei der stadienadaptierten Verteilung der beiden Gruppen war, dass das Verhältnis zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 im Kollektiv A im Stadium II 5:1 betrug (Tabelle 3.14), und im Kollektiv B sogar 8:1.

LDH-5-Expression	Gesamt	Stadium						
		Ia	Ib	IIa	IIb	IIIa	IIIb	Tx
Stufe „1-3“	27	5	6	1	9	2	3	1
Stufe „3,5-5“	26	4	10	1	1	8	1	1

Tabelle 3.14: Stadienadaptierte Verteilung der LDH-5-Expression im Kollektiv A

### 3.3.2.2 Kollektiv A

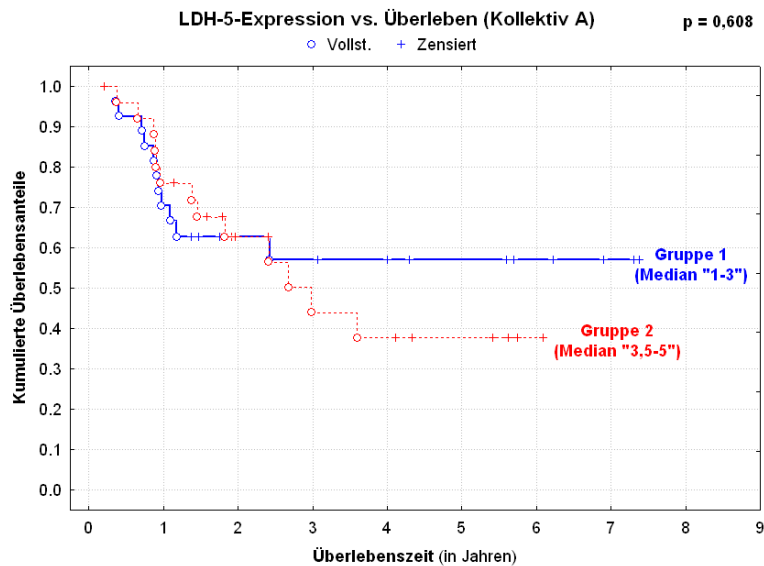


Abbildung 3.11: Korrelation zw. LDH-5-Expression und Überlebenszeit im Kollektiv A

Zwischen Gruppe 1 mit 27 Patienten und Gruppe 2 mit 26 Patienten bestand kein statistisch signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit mit einem p-Wert von 0,608 (Abbildung 3.11). Die 5-JÜR von Gruppe 1 mit 57% und Gruppe 2 mit 38% unterschieden sich dafür nicht unerheblich.

Unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten verblieben 23 Patienten in Gruppe 1 und 24 Patienten in Gruppe 2. Der p-Wert im Log-Rank-Test ergab 0,917. Die 5-Jahresüberlebensrate betrug für Gruppe 1 53% und für Gruppe 2 38% (Tabelle 3.15).

### 3.3.2.3 Kollektiv B

Im Kollektiv B bestand **Gruppe 1** aus 24 Patienten und **Gruppe 2** aus 21 Patienten. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 mit einem p-Wert von 0,786. Die 5-JÜR von Gruppe 1 betrug 65% und von Gruppe 2 47% (Abbildung 3.12).

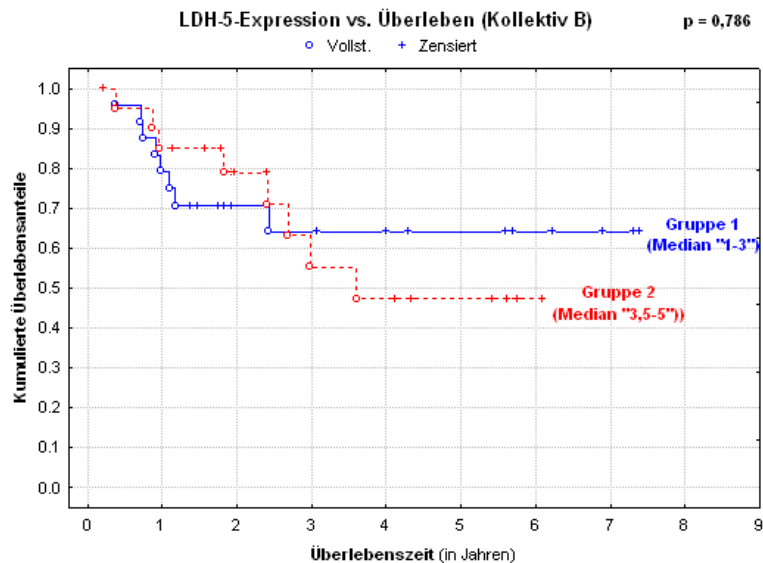


Abbildung 3.12: Korrelation zw. LDH-5-Expression und Überlebenszeit im Kollektiv B

Unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten verblieben 21 Patienten in Gruppe 1 und 19 Patienten in Gruppe 2. Der p-Wert im Log-Rank-Test ergab 0,733 und die 5-Jahresüberlebensrate betrug für Gruppe 1 58% und für Gruppe 2 49% (Tabelle 3.15).

Kollektive	Stufe „1-3“		Stufe „3,5-5“		p-Wert
	n	5-JÜR	n	5-JÜR	
<b>Kollektiv A</b>	27	57%	26	38%	0,608
<b>Kollektiv A (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	23	53%	24	38%	0,917
<b>Kollektiv B</b>	24	65%	21	47%	0,786
<b>Kollektiv B (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	21	58%	19	49%	0,733

Tabelle 3.15: Korrelation zw. der LDH-5-Expression und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Hauptuntersuchung

### 3.3.2.4 Vergleich zur Kontrolle

Der Mittelwert der Beobachtungswerte der LDH-5-Expression der Kontrolle betrug 3,44 (SD 1,13) und war damit fast entsprechend dem Mittelwert der Hauptuntersuchung mit 3,32 (SD 0,97). Der Unterschied der Beobachtungswerte zur Kontrolle war mit einem p-Wert von 0,100 statistisch nicht signifikant. Eine lineare Korrelation mit der Kontrolle war mit einem  $\tau$  von 0,43 nach Kendall erkennbar (Abbildung 3.13).

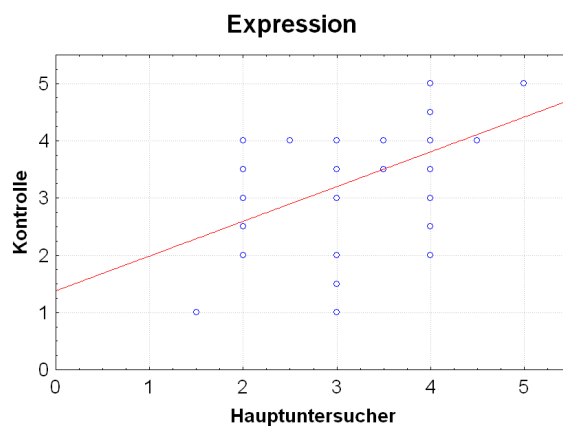


Abbildung 3.13: Korrelation der LDH-5-Expression zur Kontrolle

Zudem wurde die Korrelation der Bewertung der LDH-5-Expression im Tumor zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung für die einzelnen Kollektive getrennt betrachtet. Für das Gesamtkollektiv wurde zusätzlich die

stadienadaptierte Korrelation zur Kontrolle dargestellt. Dabei war die Korrelation zur Kontrolle in den Kollektiven A und B in etwa gleich dem Gesamtkollektiv. Im Vergleich zum Gesamtkollektiv war die Korrelation zur Kontrolle im Stadium Ia niedriger und in Stadium IB, IIb und IIIa höher (Tabelle 3.16).

	Gesamtkollektiv Stadium					Kollektiv A	Kollektiv B
	Alle	Ia	Ib	IIb	IIIa		
<b>Kendall's <math>\tau</math></b>	0,43	0,24	0,47	0,59	0,50	0,43	0,44

Tabelle 3.16: Korrelation der LDH-5-Expression zur Kontrolle

Des Weiteren wurden die gruppenadaptierten Überlebenszeiten in den verschiedenen Kollektiven der Kontrolle dargestellt. Wie bei der Voruntersuchung zeigte die Kontrolle keine signifikanten Unterschiede in der Überlebenszeit der Patienten zwischen den beiden Gruppen in keinem Kollektiv. Die 5-Jahresüberlebensraten waren entgegen der Hauptuntersuchung in Gruppe 1 in allen Kollektiven schlechter. In Kollektiv B war die 5-JÜR von Gruppe 1 sogar um 14% niedriger als in Gruppe 2 (Tabelle 3.17).

Kollektive	Stufe „1-3,5“		Stufe „4-5“		p-Wert
	n	5-JÜR	n	5-JÜR	
<b>Kollektiv A</b>	25	40%	28	53%	0,504
<b>Kollektiv A (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	24	42%	23	47%	0,819
<b>Kollektiv B</b>	21	48%	24	62%	0,510
<b>Kollektiv B (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	21	48%	19	57%	0,630

Tabelle 3.17: Korrelation zw. der LDH-5-Expression und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Kontrolluntersuchung

Die durchschnittliche Überlebenszeit in Gruppe 1 sowie in Gruppe 2 war zwischen der Haupt- und der Kontrolluntersuchung in keinem Kollektiv signifikant unterschiedlich (Tabelle 3.18).

Gruppe	Kollektiv A Log-Rank-Test	Kollektiv B Log-Rank-Test
Gruppe 1	0,596	0,698
Gruppe 2	0,527	0,601

Tabelle 3.18: Korrelation der Überlebenszeit in Gruppe 1 und 2 zw. der Haupt- und Kontrolluntersuchung (Expression)

### 3.3.3 LDH-5-Intensität

#### 3.3.3.1 Verteilung der LDH-5-Intensität

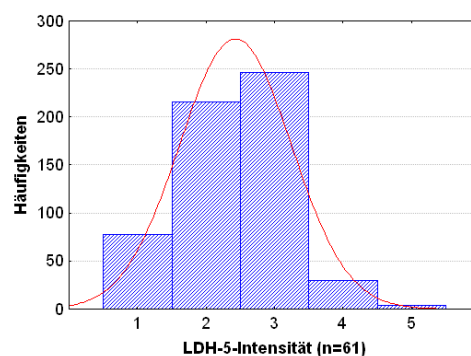


Abbildung 3.14: Stufenadaptierte Verteilung der LDH-5-Intensität

	Intensität der LDH-5									
	Gesamt	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5
<b>Häufigkeit der Felder</b>	574	78		216		246		30		4
<b>Häufigkeit der Mediane</b>	61	6	1	20	5	29				

Tabelle 3.19: Stufenadaptierte Häufigkeit der ausgewerteten Felder sowie der berechneten Mediane der LDH-5-Intensität

Die Verteilung der semiquantitativen Bewertung der LDH-5-Intensität im Tumor ist [Abbildung 3.14](#) und [Tabelle 3.19](#) zu entnehmen. Der Mittel-

wert betrug 2,41 (SD 0,81).

**Gruppe 1** umfasste Patienten mit einem Median der ausgewerteten Felder der LDH-5-Intensität von „1-2,5“ und **Gruppe 2** Patienten mit einem Median von „3-5“. Bei der stadienadaptierten Verteilung der beiden Gruppen war kein auffälliger Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 zu erkennen (Tabelle 3.20).

LDH-5-Intensität	Gesamt	Stadium						
		Ia	Ib	IIa	IIb	IIIa	IIIb	Tx
Stufe „1-2,5“	27	5	8	1	6	4	2	1
Stufe „3-5“	26	4	8	1	4	6	2	1

Tabelle 3.20: Stadienadaptierte Verteilung der LDH-5-Intensität im Kollektiv A

### 3.3.3.2 Kollektiv A

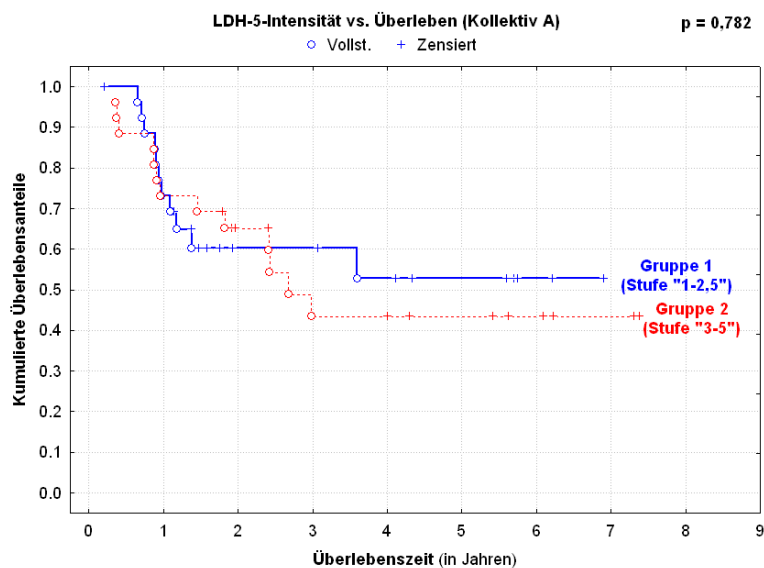


Abbildung 3.15: Korrelation zw. LDH-5-Intensität und Überlebenszeit im Kollektiv A

Zwischen Gruppe 1 mit 27 Patienten und Gruppe 2 mit 26 Patienten bestand kein statistisch signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit mit einem p-

Wert von 0,782 (Abbildung 3.15). Die 5-JÜR von Gruppe 1 betrug 53% und Gruppe 2 44%.

Unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten verblieben 24 Patienten in Gruppe 1 und 23 Patienten in Gruppe 2. Der p-Wert im Log-Rank-Test ergab 0,879. Die 5-JÜR unterschieden sich mit 51% für Gruppe 1 und 42% für Gruppe 2 nicht wesentlich (Tabelle 3.21).

### 3.3.3.3 Kollektiv B

Im Kollektiv B bestand **Gruppe 1** aus 22 Patienten und **Gruppe 2** aus 23 Patienten. Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 mit einem p-Wert von 0,419. Die 5-JÜR von Gruppe 1 mit 66% und Gruppe 2 mit 49% unterschieden sich jedoch nicht unwesentlich. (Abbildung 3.16).

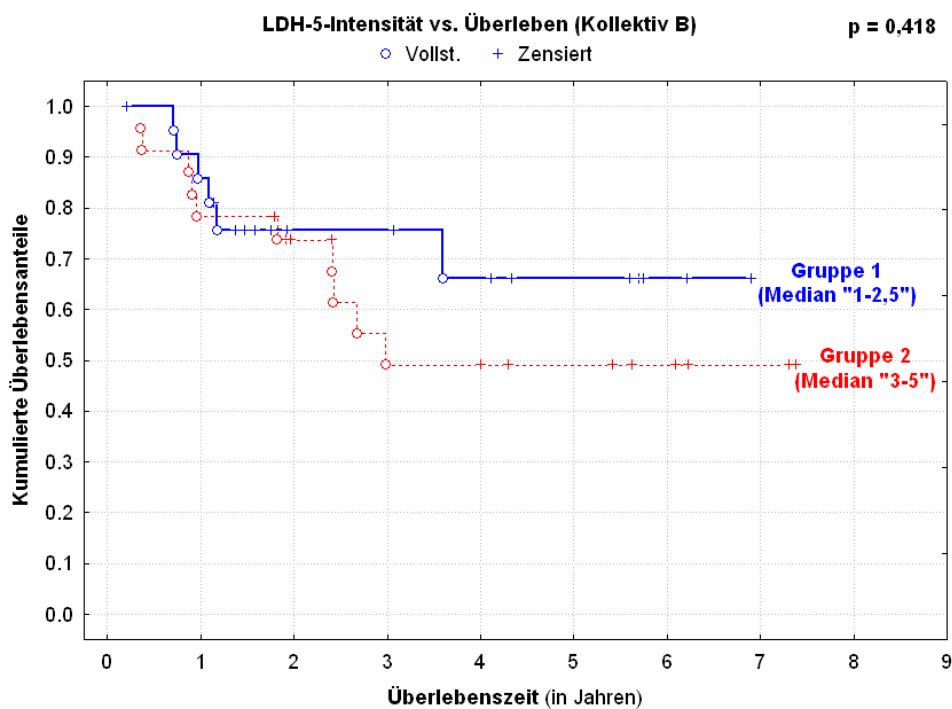


Abbildung 3.16: Korrelation zw. LDH-5-Intensität und Überlebenszeit im Kollektiv B

Unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten verblieben sowohl 20 Patienten in Gruppe 1 als auch 20 Patienten in Gruppe 2. Der p-Wert

im Log-Rank-Test ergab 0,622 und die 5-Jahresüberlebensrate betrug für Gruppe 1 63% und für Gruppe 2 47% (Tabelle 3.21).

Kollektive	Stufe „1-2,5“		Stufe „3-5“		p-Wert
	n	5-JÜR	n	5-JÜR	
<b>Kollektiv A</b>	27	53%	26	44%	0,782
<b>Kollektiv A (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	24	51%	23	42%	0,879
<b>Kollektiv B</b>	22	66%	23	49%	0,419
<b>Kollektiv B (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	20	63%	20	47%	0,622

Tabelle 3.21: Korrelation zw. der LDH-5-Intensität und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Hauptuntersuchung

### 3.3.3.4 Vergleich zur Kontrolle

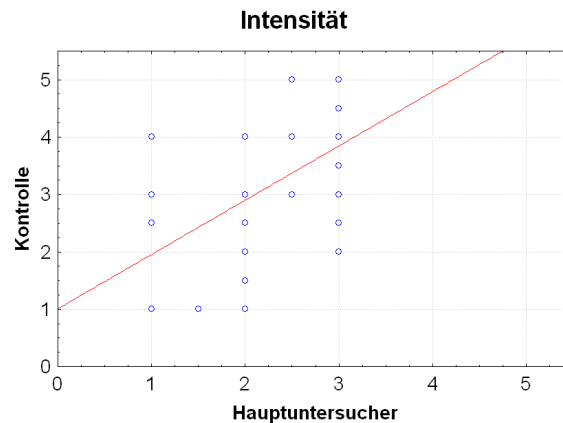


Abbildung 3.17: Korrelation der LDH-5-Intensität zur Kontrolle

Der Mittelwert der LDH-5-Intensität der Kontrolle betrug 3,31 (SD 1,14); war also deutlich höher als der Mittelwert des Hauptuntersuchers mit 2,41 (SD 0,81). Der Unterschied der Beobachtungswerte zur Kontrolle war mit einem p-Wert von <0,001 statistisch signifikant, wobei eine lineare Korrelation zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung mit einem  $\tau$  von 0,49



nach Kendall vorhanden war (Abbildung 3.17).

Zudem wurde die Korrelation der Bewertung der LDH-5-Intensität im Tumor zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung für die einzelnen Kollektive getrennt betrachtet. Für das Gesamtkollektiv wurde zusätzlich die stadienadaptierte Korrelation zur Kontrolle betrachtet. Dabei war die Korrelation zur Kontrolle im Kollektiv A dem Gesamtkollektiv in etwa gleich, in Kollektiv B ein wenig schwächer. Im Vergleich zum Gesamtkollektiv war die Korrelation zur Kontrolle in den Stadien Ia, Ib, IIb und IIIa annähernd gleich (Tabelle 3.22).

	Gesamtkollektiv Stadium					Kollektiv A	Kollektiv B
	Alle	Ia	Ib	IIb	IIIa		
<b>Kendall's <math>\tau</math></b>	0,49	0,48	0,44	0,55	0,45	0,49	0,38

Tabelle 3.22: Korrelation der LDH-5-Intensität zur Kontrolle

Bei den gruppenadaptierten Überlebenszeiten in den verschiedenen Kollektiven der Kontrolle zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Überlebenszeit der Patienten zwischen den beiden Gruppen in keinem Kollektiv.

Kollektive	Stufe „1-3“		Stufe „3,5-5“		p-Wert
	n	5-JÜR	n	5-JÜR	
<b>Kollektiv A</b>	27	53%	26	40%	0,820
<b>Kollektiv A (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	23	49%	24	37%	0,961
<b>Kollektiv B</b>	22	66%	23	46%	0,501
<b>Kollektiv B (ohne neoadjuvante Pat.)</b>	19	60%	21	44%	0,807

Tabelle 3.23: Korrelation zw. der LDH-5-Intensität und der Überlebenszeit in Kollektiv A und B der Kontrolluntersuchung

Die 5-Jahresüberlebensraten waren entgegen der Hauptuntersuchung in Gruppe 1 in allen Kollektiven schlechter. In Kollektiv B war die 5-JÜR sogar um

14% niedriger als in Gruppe 2 (Tabelle 3.23).

Die durchschnittliche Überlebenszeit in Gruppe 1 sowie in Gruppe 2 war zwischen der Haupt- und der Kontrolluntersuchung in keinem Kollektiv signifikant unterschiedlich (Tabelle 3.24).

Gruppe	Kollektiv A	Kollektiv B
	Log-Rank-Test	Log-Rank-Test
Gruppe 1	0,908	0,839
Gruppe 2	0,954	0,971

Tabelle 3.24: Korrelation der Überlebenszeit in Gruppe 1 und 2 zw. der Haupt- und Kontrolluntersuchung (Intensität)

### 3.4 Tumor- vs. Serum-LDH

#### 3.4.1 Überblick

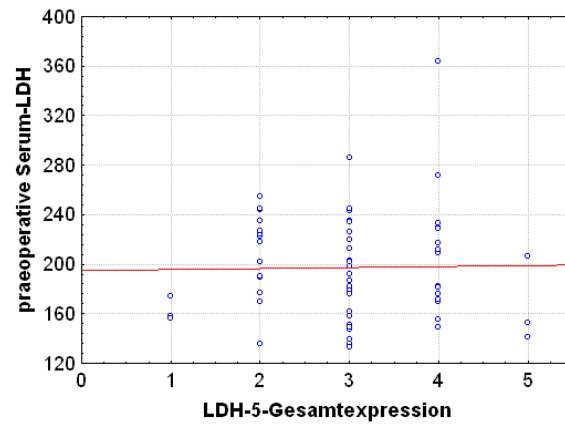
Die Korrelation zwischen den immunhistochemischen Beobachtungswerten der LDH-5 im Tumor und den präoperativen Serum-LDH-Werten wurde für das Gesamtkollektiv mittels des Kendall'schen Rangkorrelationskoeffizienten  $\tau$  bestimmt und ist der Tabelle 3.25 und der Abbildung 3.18 zu entnehmen.

	Tumor-LDH		
	Gesamtimpression	Expression	Intensität
Serum-LDH	$\tau = -0,04$	$\tau = 0,11$	$\tau = -0,10$

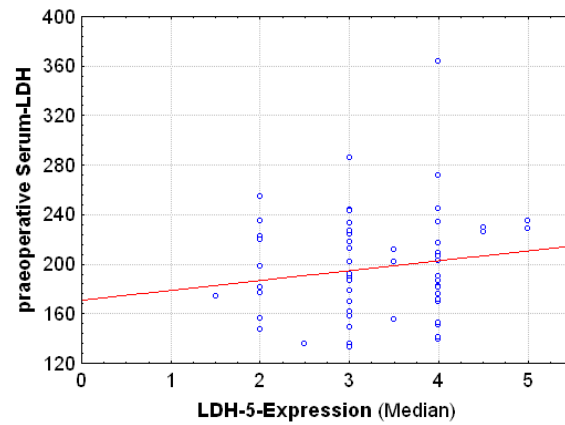
Tabelle 3.25: Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und Tumor-LDH

Eine Korrelation zwischen der Gesamtimpression, Expression und Intensität der LDH-5 im Tumor gegenüber der präoperativen Serum-LDH war für das Gesamtkollektiv kaum erkennbar, da  $\tau$  im höchsten Fall 0,11 annahm.

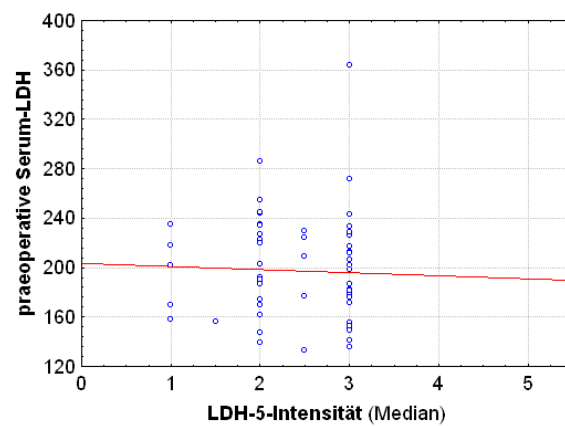
Bei Auftrennung des Gesamtkollektivs in die Tumorstadien zeigte sich bei der Korrelation zwischen der Gesamtimpression, der Expression und der



(a) Serum-LDH vs. LDH-5-Gesamtimpression



(b) Serum-LDH vs. LDH-5-Expression



(c) Serum-LDH vs. LDH-5-Intensität

Abbildung 3.18: Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und Tumor-LDH

Intensität der LDH-5 im Tumor gegenüber der präoperativen Serum-LDH teilweise eine Zunahme von  $\tau$  (Tabelle 3.26).

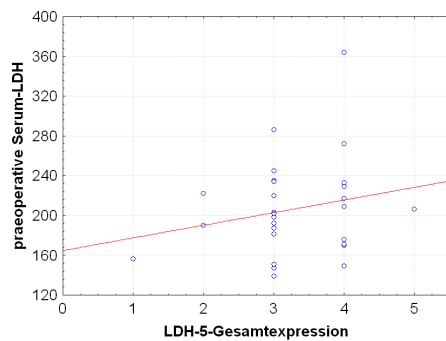
Serum-LDH in	n	Tumor-LDH		
		Gesamtimpression	Expression	Intensität
Stadium Ia	10	$\tau = 0,24$	$\tau = 0,43$	$\tau = -0,03$
Stadium Ib	18	$\tau = 0,06$	$\tau = -0,11$	$\tau = 0,04$
Stadium IIb	11	$\tau = -0,17$	$\tau = 0,04$	$\tau = -0,17$
Stadium IIIa	13	$\tau = -0,66$	$\tau = -0,01$	$\tau = -0,47$

Tabelle 3.26: Stadienadaptierte Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und Tumor-LDH

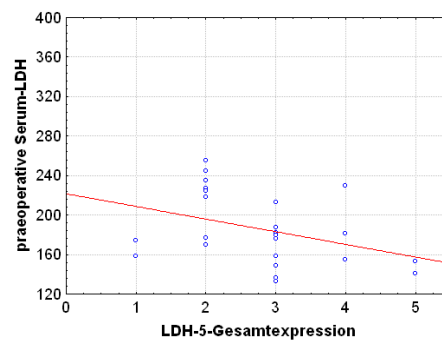
### 3.4.2 LDH-5-Gesamtimpression vs. Serum-LDH

#### 3.4.2.1 Stadienbezogene Korrelation

Auffällig war, dass  $\tau$  bei der Gesamtimpression in Stadium Ia ( $\tau: 0,24$ ) und Stadium Ib ( $\tau: 0,06$ ) positiv war (Abbildung 3.19a), aber in Stadium IIb ( $\tau: -0,17$ ) und Stadium IIIa ( $\tau: -0,66$ ) negativ korrelierte (Abbildung 3.19b).



(a) Stadium Ia und Ib



(b) Stadium IIb und IIIa

Abbildung 3.19: Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und LDH-5-Gesamtimpression

### 3.4.2.2 Vergleich zur Kontrolle

Bei der Betrachtung der Korrelation zwischen den präoperativen Serum-LDH-Werten und der LDH-5-Gesamtimpression in der Haupt- und Kontrolluntersuchung fiel auf, dass die Korrelation in Stadium Ia und Ib in beiden Untersuchungen positiv war, aber in Stadium IIb und IIIa negativ. Im Stadium IIIa war die Korrelation am höchsten (Tabelle 3.27).

	Gesamt- kollektiv	Stadium			
		Ia	Ib	IIb	IIIa
<b>Anzahl</b>	n=61	n=10	n=18	n=11	n=13
<b>Hauptunt.</b>	$\tau = -0,03$	$\tau = 0,24$	$\tau = 0,06$	$\tau = -0,17$	$\tau = -0,66$
<b>Kontrolle</b>	$\tau = 0,02$	$\tau = 0,21$	$\tau = 0,25$	$\tau = -0,29$	$\tau = -0,47$

Tabelle 3.27: Stadienadaptierte Korrelation zwischen der präoperativen Serum-LDH und der LDH-5-Gesamtimpression für die Haupt- und Kontrolluntersuchung

### 3.4.3 LDH-5-Expression vs. Serum-LDH

#### 3.4.3.1 Stadienbezogene Korrelation

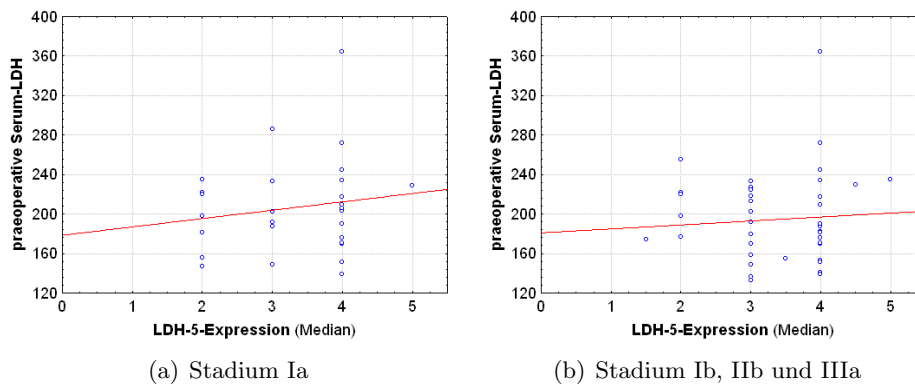


Abbildung 3.20: Korrelation zw. präoperativer Serum-LDH und LDH-5-Expression

Bei der Korrelation zwischen der präoperativen Serum-LDH und der Expression der LDH-5 im Tumor nahm  $\tau$  nur im Stadium Ia mit  $\tau=0,43$  einen

positiv höheren Wert an (Abbildung 3.20a), wobei Stadium Ib mit  $\tau = -0,11$  dezent negativ war, bzw. im Stadium IIb und IIIa nicht korrelierte (Abbildung 3.20b).

### 3.4.3.2 Vergleich zur Kontrolle

Eine Korrelation zwischen den präoperativen Serum-LDH-Werten und der LDH-5-Expression war in der Hauptuntersuchung nur im Stadium Ia erkennbar, bei der Kontrolle tendentiell in Stadium Ia und IIIa. Dabei war die Korrelation im Stadium Ia bei der Hauptuntersuchung positiv und bei der Kontrolle negativ. (Tabelle 3.28).

	Gesamt- kollektiv	Stadium			
		Ia	Ib	IIb	IIIa
<b>Anzahl</b>	n=61	n=10	n=18	n=11	n=13
<b>Hauptunt.</b>	$\tau = 0,11$	$\tau = 0,43$	$\tau = -0,11$	$\tau = 0,04$	$\tau = -0,01$
<b>Kontrolle</b>	$\tau = -0,02$	$\tau = -0,21$	$\tau = -0,02$	$\tau = 0,04$	$\tau = -0,26$

Tabelle 3.28: Stadienadaptierte Korrelation zwischen der präoperativen Serum-LDH und der LDH-5-Expression für die Haupt- und Kontrolluntersuchung

## 3.4.4 LDH-5-Intensität vs. Serum-LDH

### 3.4.4.1 Stadienbezogene Korrelation

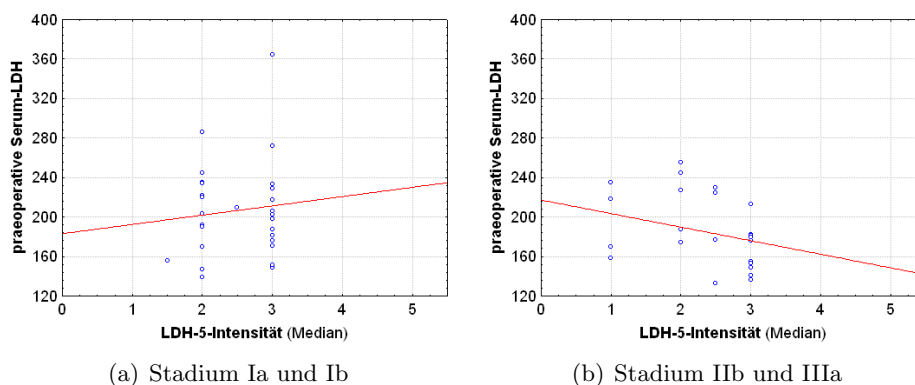


Abbildung 3.21: Korrelation zw. präop. Serum-LDH und LDH-5-Intensität

Die LDH-5-Intensität korrelierte im Stadium Ia ( $\tau=-0,03$ ) und Stadium Ib ( $\tau=0,04$ ) zwar nicht mit der Serum-LDH (Abbildung 3.21a), wobei die Korrelation im Stadium IIb mit einem  $\tau$  von  $-0,17$  und Stadium IIIa mit einem  $\tau$  von  $-0,47$  deutlich negativ war (Abbildung 3.21b).

### 3.4.4.2 Vergleich zur Kontrolle

Bei der Betrachtung der Korrelation zwischen den präoperativen Serum-LDH-Werten und der LDH-5-Intensität für die Haupt- und Kontrolluntersuchung fiel auf, dass eine Korrelation in der Hauptuntersuchung in Stadium IIb fraglich und nur im Stadium IIIa vorhanden war. Bei der Kontrolle war eine fragliche Korrelation in Stadium Ia, und eine sichere Korrelation in Stadium IIb und IIIa vorhanden. Dabei war die Korrelation in Stadium IIb und IIIa in beiden Untersuchungen negativ (Tabelle 3.29).

	Gesamt- kollektiv	Stadium			
		Ia	Ib	IIb	IIIa
<b>Anzahl</b>	n=61	n=10	n=18	n=11	n=13
<b>Hauptunt.</b>	$\tau = -0,10$	$\tau = -0,03$	$\tau = 0,04$	$\tau = -0,17$	$\tau = -0,47$
<b>Kontrolle</b>	$\tau = -0,09$	$\tau = 0,19$	$\tau = 0,04$	$\tau = -0,45$	$\tau = -0,37$

Tabelle 3.29: Stadienadaptierte Korrelation zwischen der präoperativen Serum-LDH und der LDH-5-Intensität für die Haupt- und Kontrolluntersuchung

# Kapitel 4

## Diskussion

### 4.1 Demographie

Das Gesamtkollektiv der Studie bestand aus 61 Patienten. Die Verteilung der Geschlechter verhielt sich ähnlich wie bei Perng et al. (1996). In seiner Studie waren 10910 operierte, sowie nicht operierte Patienten mit NSCLC eingeschlossen. 4048 Patienten hatten davon ein Plattenepithelkarzinom der Lunge. 92% der Patienten mit Plattenepithelkarzinom waren Männer und 8% waren Frauen. Der größte Teil der Männer befand sich im Alter zwischen 60-69 Jahren, wobei der größte Teil der Frauen 50-69 Jahre alt waren. In der vorliegenden Studie, in der sich ausnahmslos operierte Patienten befanden, waren 97% Männer und 3% Frauen, also ein nur geringfügig größerer Unterschied in der Geschlechterverteilung. Demhingegen entsprach das durchschnittliche Lebensalter der Männer mit 68,37 Jahren und das der Frauen mit 58,32 Jahren dem von Perng et al. (1996).

Um die stadienabhängigen Überlebenszeiten der vorliegenden Studie zu vergleichen, wurde die Studie von Naruke et al. (2001) herangezogen. Seine Studie verwendete ebenfalls nur die Daten von operierten Patienten. Von den 3043 Patienten hatten 992 Patienten ein Plattenepithelkarzinom. Der direkte Vergleich zwischen den Patienten mit Plattenepithelkarzinom bei der Studie von Naruke et al. (2001) und den Patienten aus der vorliegenden Studie ist in **Tabelle 4.1** dargestellt. Auffällig waren die 5-Jahresüberlebensraten in den Patienten-starken Stadien der vorliegenden Studie, also Stadium Ia, Ib, IIb und IIIa, die sich nur um etwa 10 - 15% zur Studie von Naruke et al. (2001) unterschieden, obwohl die jeweiligen Stadien in der Studie von Naruke et al. (2001) etwa zehn- bis zwanzigmal so viele Patienten vereinten. Dabei war die 5-JÜR im Stadium Ia in der vorliegenden Studie um etwa 10% besser, aber in den anderen Stadien um 10 - 15% schlechter. Diese leichten Variationen beruhten vermutlich auf mehreren Tatsachen. Zum einen wurden in der vorliegenden Studie nur Patienten eingeschlossen, bei



	Naruke et al. (2001) <sup>1</sup>			Vorliegende Studie <sup>1</sup>		
	Patienten		5-JÜR	Größe		5-JÜR
	n	Prozent		n	Prozent	
<b>Tx</b>	3	0%		2	3%	<sup>2</sup>
<b>Stadium Ia</b>	132	13%	72,4%	10	16%	80%
<b>Stadium Ib</b>	183	18%	58,7%	18	30%	43%
<b>Stadium IIa</b>	29	3%	54,2%	3	5%	<sup>2</sup>
<b>Stadium IIb</b>	208	21%	49,8%	11	18%	36%
<b>Stadium IIIa</b>	267	27%	31,1%	13	21%	19%
<b>Stadium IIIb</b>	136	14%	15,7%	4	7%	<sup>2</sup>
<b>Stadium IV</b>	34	3%	0%	0 <sup>3</sup>	<sup>3</sup>	<sup>3</sup>
<b>Gesamt</b>	992	100%	43,3%	61	100%	41%

<sup>1</sup> mit perioperativ verstorbenen Patienten

<sup>2</sup> zu wenig Patienten für repräsentative 5-Jahresüberlebensrate

<sup>3</sup> kein Patient im Stadium IV wurde in kurativer Absicht operiert

Tabelle 4.1: Vergleich der stadienabhängigen Patientenverteilung sowie der 5-JÜR zwischen der vorliegenden Studie und Naruke et al. (2001)

denen ein präoperativer Serum-LDH-Wert bekannt war. Dieser Serum-LDH-Wert wurde aber nicht aufgrund eines Standards abgenommen, sondern nach dem Ermessen des behandelnden Arztes. Somit wurde nur der Teil der Patienten betrachtet, der aufgrund eines Plattenepithelkarzinoms der Lunge operiert wurde. Zum anderen schienen sich die Kriterien der Indikation zur Operation gerade in höheren Stadien für die Patienten der vorliegenden Studie und für die Patienten der Studie von Naruke et al. (2001) zu unterscheiden. Dies wurde anhand der R1- bzw. R2-Resektionsraten deutlich, die zwischen der vorliegenden Studie mit 10% und der Studie von Naruke et al. (2001) mit 38% sichtbar divergierten. Dies ließ vermuten, dass Patienten, die aufgrund eines ausgedehnten Tumorbefalls primär chemo- oder strahlentherapeutisch behandelt wurden und somit nicht in die vorliegende Studie fielen, bei der Studie von Naruke et al. (2001) eingeschlossen wurden, da vermutlich trotz extensivem Tumorbefall primär operiert wurde, und erst bei R1- bzw. R2-Resektion chemo- bzw. strahlentherapeutisch weiterbehandelt wurde. Somit war die Auswahl der Patienten in den höheren Stadien zwischen den beiden Studien wahrscheinlich nicht völlig identisch.

Unter Annahme dieser Theorie und bei Betrachtung der 5-Jahresüberlebensraten der Stadien Ib, IIb und IIIa, die bei Naruke et al. (2001) etwa 10 - 15% besser waren, wäre zu überprüfen, ob eine Operation bei ausgedehntem Tumorbefund mit dem Ziel der Tumorreduktion mit folgender Chemo- bzw.

Strahlentherapie einer alleinigen Chemo- bzw. Strahlentherapie überlegen wäre.

Wird das Gesamtkollektiv betrachtet, so ist die 5-Jahresüberlebensrate zwischen der vorliegenden Studie und der von Naruke et al. (2001) trotz der in den Stadien Ib, IIb und IIIa besseren 5-Jahresüberlebensraten bei Naruke et al. (2001) annähernd gleich. Als ausgleichender Faktor standen hier vermutlich die Patienten aus Stadium IV mit äußerst schlechter Prognose, die in der vorliegenden Studie nicht eingeschlossen wurden.

In einer weiteren Untersuchung sollte der stadienadaptierte Effekt einer neoadjuvanten sowie adjuvanten Therapie auf die 5-Jahresüberlebensraten analysiert werden. Diese Untersuchung konnte für eine neoadjuvante Behandlung nicht durchgeführt werden, da nur sehr wenig Patienten neoadjuvant behandelt wurden. Eine adjuvante Behandlung hingegen wurde vor allem den Patienten in den Stadien IIb und IIIa der vorliegenden Studie zuteil. Bei diesen Patienten ließ sich ein Unterschied in der Überlebenszeit zwar nicht statistisch signifikant, aber trotzdem deutlich erkennen. Bei Patienten mit adjuvanter Therapie im Stadium IIb gab es eine Verschlechterung der 1-Jahresüberlebensrate von 57% auf 25%, und bei Patienten mit adjuvanter Therapie im Stadium IIIa stieg die 2-Jahresüberlebensrate im Vergleich zum Auslass einer adjuvanten Therapie von 43% auf 60%. Eine signifikante Verschlechterung der Überlebenszeit im Stadium IIb bei adjuvanter Therapie konnte die PORT Meta-Analysis Trialists Group (1998) ebenfalls beobachten, und eine Verbesserung der Überlebenszeit im Stadium IIIa bei adjuvanter Therapie stellte Arriagada et al. (2004) fest.

## 4.2 Kollektivdefinierung

In der vorliegenden Studie wurden für die Untersuchung der Hauptziele zwei Kollektive gewählt: das Kollektiv A und das Kollektiv B. Im Kollektiv A wurden lediglich die perioperativ verstorbenen Patienten ausgeschlossen, also die, die innerhalb der ersten 30 Tage nach der Operation verstorben sind. Als Grund des Todes wurde bei diesen Patienten nicht der Tumor, sondern die Operation bzw. eine Komplikation der Operation angenommen. Somit würden die Überlebenszeiten dieser Patienten bei den Untersuchungen auf einen Einfluss des Tumors, widergespiegelt durch die Tumor-LDH bzw. Serum-LDH, auf die Überlebenszeit der Patienten das Ergebnis negativ beeinflussen.

Kollektiv B sollte den Fokus speziell auf den kurativ operierten Primärtumor richten, also nur die Patienten einschließen, die an den Folgen des Primärtumors, an einem Rezidiv oder an Spätmetastasen verstorben sind. Aus diesem Grund wurden die perioperativ verstorbenen Patienten, die Patienten, die

an einer nicht tumorbedingten Ursache wie z.B. an einem kardialen bzw. hepatischen Versagen oder an einem Suizid verstorben sind, und die Patienten, deren Todesursache nicht geklärt werden konnte, ausgeschlossen. Zudem wurden alle R1- bzw. R2-resezierten Patienten ausgeschlossen, da diese Patienten nicht als kurativ operiert gelten. Dieses radikale Ausschlussverfahren war notwendig, um möglichst viele Störfaktoren, die einen Einfluss auf die Überlebenszeit des Patienten haben, auszuschließen und den tatsächlichen Einfluss des pathophysiologischen Verhaltens des Tumors auf die Überlebenszeit des Patienten besser beurteilen zu können. Außerdem sollte im Vergleich zwischen Kollektiv A und Kollektiv B im Hinblick auf die Überlebenszeit der Patienten transparent gemacht werden, ob die Störfaktoren überhaupt einen nennenswerten Einfluss auf die Überlebenszeit der Patienten hatten.

Für Kollektiv A und Kollektiv B wurde eine zusätzliche Untersuchung unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten durchgeführt. Auch wenn keine Untersuchung auf eine stadienadaptierte Beeinflussung der Überlebenszeit durch eine neoadjuvante Therapie aufgrund mangelnder Patienten in den einzelnen Stadien durchgeführt wurde, so sind im Kollektiv A sowie Kollektiv B etwa 10% der Patienten neoadjuvant behandelt worden. Grund für eine weitere Untersuchung unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten war die Annahme, dass durch eine neoadjuvante Therapie die Tumormasse sowie die Anzahl und Größe der befallenen Lymphknoten erheblich reduziert oder sogar völlig eradiziert werden kann (Albain et al. 1995). In diesem Fall würden sich die Patienten in einer Form von Remission befinden bzw. kann es sogar zum Downstaging kommen, d.h., dass das Stadium zum Zeitpunkt der Resektion eine wesentlich günstigere Prognose verspricht, als vor einer neoadjuvanten Therapie. Dabei ist es wichtig zu berücksichtigen, dass die Stadien, die durch eine neoadjuvante Therapie erzielt werden, im Verlauf eine wesentlich schlechtere Prognose zeigen, als die äquivalenten nativen Stadien. Aus diesem Grund wurde ein Vergleich zwischen der Überlebenszeit der Patienten ohne eine Manipulierung der Pathophysiologie des Tumors und mit den neoadjuvant behandelten Patienten gemacht.

## **4.3 Immunhistochemische Methodik**

### **4.3.1 Problematik**

In der vorliegenden Studie wurde das Verhalten zwischen der Serum-LDH und der LDH-5-Exprimierung im Tumor sowie deren Zusammenhang auf die Prognose eines Patienten untersucht. Von den fünf verschiedenen Isoformen wurde die LDH-5 im Tumor immunhistochemisch bestimmt, da aufgrund der pathophysiologischen Wachstumseigenschaften eines Tumors und der hohen

Affinität gegenüber Pyruvat die LDH-5 im Rahmen der anaeroben Glykolyse die höchste Aktivität im vitalen Tumorgewebe aufweist (näheres siehe (Kapitel 1.8)). Die LDH-5-Exprimierung im Tumor wurde bei der Auswertung nach den Kriterien der Gesamteindruck, Expression und Intensität bewertet, deren Beschreibung in Kapitel 2.4 zu finden ist. Allerdings war es schwierig die Methodik sowie die Ergebnisse mit anderen Studien zu vergleichen, da bisher lediglich die Arbeitsgruppe Koukourakis et al. (2003,2005) den Einfluss der LDH-5-Exprimierung im Tumor auf die Prognose eines Patienten für das NSCLC, aber auch für andere Tumoren, wie beispielsweise das kolorektale Karzinom oder das Endometriumkarzinom, untersucht hat (Koukourakis et al. 2003a; Koukourakis et al. 2003b, Koukourakis et al. 2005, Giatromanolaki et al. 2006). Diese Arbeitsgruppe hat in keiner der Studien die Bewertung der LDH-5-Exprimierung nach dem quantitativen Anteil der LDH-5-exprimierenden Tumorzellen und dem Grad der Anfärbung nach LDH-5 getrennt vorgenommen, wie es in der vorliegenden Studie gemacht wurde, sondern entweder nur einen Aspekt beleuchtet, oder beide Aspekte in einem Score zusammengefügt, sodass die Bewertung der einzelnen Aspekte sicherlich ungenauer war. Es wurden auch nicht ausschließlich die vitalen Tumorzellen betrachtet, sondern in einer der ersten Studien der Arbeitsgruppe gezeigt, dass hauptsächlich LDH-5 in Tumorzellen exprimiert wird (Koukourakis et al. 2003a), und unter dieser Annahme der prozentuale Anteil aller Zellen im Tumor bewertet, die eine LDH-5-Anfärbung zeigen. Die vorliegende Studie hat vor der mikroskopischen Bewertung der LDH-5 im Präparat im Vergleich zu einem HE-angefärbten Präparat die vitalen Tumorzellverbände von den Nekrosearealen, Gefäßen und anderen Geweben isoliert, und folgend nur die nach LDH-5-angefärbten vitalen Tumorzellen bewertet. Zudem fließt in die Scores der Studien von der Arbeitsgruppe Koukourakis et al. (2003,2005) immer die Bewertung der Kernfärbung durch die LDH-5 mit ein. Nach der Beschreibung des Primärantikörpers ab 9002 (Abcam, Cambridge, Großbritannien) ist aber das Antigen dieses Antikörpers, sprich die LDH-5, nur im Zytoplasma lokalisiert. Möglicherweise wurde die angefärbte LDH-5 unter Sicht im Mikroskop als im Zellkern befindlich fehlgedeutet, obwohl sie sich eigentlich räumlich vor dem Zellkern im Zytoplasma befand. Aus diesem Grund wurde eine Beurteilung der Anfärbung des Zellkerns, was nach Angaben des Herstellers eben nicht möglich sei, nicht durchgeführt.

### 4.3.2 Cut-off-Werte

Da das immunhistochemische Verfahren in gewisser Weise subjektiv ist und für die immunhistochemischen Untersuchungen in der vorliegenden Studie noch keine validen Grenzwerte bestanden, sollte die Festlegung der Trennlinie zwischen Patienten mit hoher Bewertung und schwacher Bewertung so

objektiv wie möglich erfolgen. Weil die Überlebenszeit zwischen den beiden Gruppen im Log-Rank-Test verglichen wurde, eignete sich bei der Festlegung der Höhe des Grenzwertes am besten die Orientierung an der Patientenzahl der Gruppen, da der Log-Rank-Test für den Vergleich zwischen zwei etwa gleich großen Gruppen optimal ist. Koukourakis et al. (2003b) verglich in seiner Studie in drei Gruppen zwischen der LDH-5-Exprimierung und der Prognose der Patienten. Den Grenzwert zwischen der Gruppe mit hoher LDH-5-Exprimierung und mäßiger LDH-5-Exprimierung wählte er in gleicher Weise, wie in der vorliegenden Studie. Die Beschreibung der Orientierung für die Festlegung des Grenzwertes zwischen der Gruppe mit mäßiger LDH-5-Exprimierung und niedriger LDH-5-Exprimierung wurde jedoch nicht gegeben.

### **4.3.3 Bewertung der Parameter**

#### **4.3.3.1 LDH-5-Gesamtimpression**

Die Kriterien der LDH-5-Gesamtimpression der vorliegenden Studie entsprechen in etwa den Kriterien der Bewertung einiger Studien der Arbeitsgruppe Koukourakis et al. (2003,2005), wobei bei Koukourakis' Studien der Anteil an Tumorgewebe sowie der Grad der Anfärbung der Tumorzellen nach LDH-5 anhand bestimmter Schwellenwerte genau eingeteilt wurde. Dabei wurde der Anteil an Tumorgewebe in eine Kategorie mit mehr oder weniger als 50% Tumorgewebe eingeteilt und der Grad der Anfärbung der Tumorzellen nach LDH-5 in stark oder schwach unterschieden. Durch Kombination dieser beiden Werte wurde dann entweder eine Skala mit zwei Stufen, also „high“ oder „low“ (Koukourakis et al. 2005, Giatromanolaki et al. 2006), oder vier Stufen gewählt (Koukourakis et al. 2003a). Da sowohl der Grad der Anfärbung der Tumorzellen nach LDH-5 für eine starke oder schwache Exprimierung, als auch die Struktur oder Menge der Tumorzellverbände für eine gute oder schlechte Organisation nicht bekannt ist, wäre es sinnvoll gewesen, eine Einteilung in mehreren Stufen zu wählen, und erst folgend, wie in der vorliegenden Studie an der Patientenzahl orientiert, die einzelnen Abstufungen in eine Gruppe mit starker Ausprägung der betrachteten Merkmale und eine Gruppe mit schwacher Ausprägung der betrachteten Merkmale zusammenzufassen.

#### **4.3.3.2 LDH-5-Expression**

Durch die Bestimmung der LDH-5-Expression sollte zwischen Tumoren mit großen, soliden und kleinen, disseminierten Zellverbänden und den damit verbundenen möglichen Einfluss auf die Überlebenszeit der Patienten unterschieden werden können. In der Studie von Koukourakis et al. (2003b) wurde ein ähnliches Schema, wie das der LDH-5-Expression in der vorliegenden Studie gewählt, nur dass in der vorliegenden Studie, im Gegensatz

zu der von Koukourakis et al. (2003b) ausschließlich die vitalen, nach LDH-5-gefärbten Tumorzellverbände betrachtet wurden. Folglich ist in der Studie von Koukourakis et al. (2003b) die Gefahr hoch, eine quantitative Überbewertung des tatsächlich vitalen, im Interesse der Untersuchung stehenden Tumorgewebes zu erhalten.

#### 4.3.3.3 LDH-5-Intensität

Im Unterschied zu allen Studien, die sich in der Literatur mit der immunhistochemischen Untersuchung der LDH-5-Exprimierung in Tumoren beschäftigten, wurde in der vorliegenden Studie die Intensität, also der Grad der LDH-5-Anfärbung der vitalen Tumorzellen, separat betrachtet. Die LDH-5-Intensität spiegelt den Prozess der LDH-5-Exprimierung wieder. Die Kenntnis über diesen Prozess war enorm wichtig, da nach Goldman et al. (1964) und Warburg (1956), näheres in **Kapitel 1.8.3**, die Aktivität der LDH, speziell der LDH-5, im Tumor im Vergleich zu normalem Gewebe stark gesteigert ist. Folglich können die Tumoren bzw. die Tumorzellverbände, die einen besonders hohen Energiebedarf haben, also vermutlich sehr aktiv sind, identifiziert werden und es kann geprüft werden, ob diese Aktivität einen Einfluss auf die Prognose der betroffenen Patienten hat. Wird im Umkehrschluss nur die Expression im Tumor betrachtet, wie es bei Koukourakis et al. (2003b) der Fall ist, so werden Tumorzellverbände mit einer niedrigen Intensität und Tumorzellverbände mit einer hohen Intensität völlig gleich bewertet, obwohl sie wahrscheinlich deutlich unterschiedlich aktiv sind. Es erschien sinnvoll, den Grad der Anfärbung vorerst in fünf verschiedenen Stufen zwischen „schwach“ und „stark“ zu definieren, und die Stufen erst folgend, orientiert an der Patientenzahl, in zwei Gruppen zusammenzufassen, da auch hier kein Grenzwert bekannt war.

#### 4.3.4 Validierung durch Kontrolle

Die Bewertung der LDH-5-Gesamtimpression, LDH-5-Expression und LDH-5-Intensität wurde in fünf verschiedene Abstufungen zuerst in der Hauptuntersuchung und danach von einem unabhängigen Untersucher separat in einer Kontrolluntersuchung getroffen. Bei der linearen Korrelation nach Kendall zeigte  $\tau$  für die LDH-5-Gesamtimpression eine sehr gute Korrelation mit  $\tau = 0,68$  und bei der LDH-5-Expression und LDH-5-Intensität ein zufriedenstellendes Ergebnis mit einem  $\tau$  von  $0,43$  und  $\tau = 0,49$ . Wird die Korrelation zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung für die einzelnen Stadien getrennt betrachtet, so fanden sich eine lineare Korrelation bis zu einem  $\tau$  von  $0,8$  (s. Tab. 3.10, 3.16, 3.22). Entgegen der linearen Korrelation zeigte die Untersuchung zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung mittels eines nicht-linearen Modells einen signifikanten Unterschied bei der LDH-5-Gesamtimpression und der LDH-5-Intensität. Bei der LDH-5-Expression be-

stand kein signifikanter Unterschied. Dieser Unterschied in der nicht-linearen Untersuchung bei der LDH-5-Gesamtimpression und LDH-5-Intensität fand eine Erklärung bei der Betrachtung der Mittelwerte der untersuchten Felder. In der Kontrolluntersuchung wurde bei der LDH-5-Gesamtimpression durchschnittlich um eine viertel Stufe und bei der LDH-5-Intensität durchschnittlich um knapp eine Stufe höher bewertet als in der Hauptuntersuchung.

Somit wurde die Methodik der mikroskopischen Bewertung gut umgesetzt, lediglich hatten die Untersucher einen anderen Ausgangswert benutzt. Dieser Fehler war aber bei einer nicht vermeidbaren Subjektivität der semiquantitativen Untersuchungen nicht umgänglich. Korrigiert wurde der Fehler durch eine individuelle Festlegung der Grenzwerte zwischen den Gruppen. Diese Festlegung orientierte sich nicht an einem vorher bestimmten Wert, sondern an einer möglichst ausgeglichenen Patientenzahl zwischen den Gruppen. Bestätigt wurde dies durch den Vergleich der Überlebenszeiten der Patienten zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung in der Gruppe unterhalb und oberhalb des festgelegten Grenzwertes. Diese Überlebenszeiten waren zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung im Log-Rank-Test nicht unterschiedlich.

## 4.4 Serum-LDH

### 4.4.1 Präoperative Serum-LDH

Die Serum-Laktatdehydrogenase ist ein Enzym, dessen Serumspiegel nicht nur den Verdacht auf die Ätiologie gewisser Krankheiten, z.B. der genauen Ursache einer Anämie, lenken kann, sondern auch seit etlichen Jahren als Prognoseparameter (Eberhardt et al. 1998), Aggressivitätsparameter (Cheng et al. 1998) und Resistenzparameter für adjuvante Therapien (Lutterbach et al. 1999; Kondo et al. 2001) bei vielen verschiedenen Tumorerkrankungen, wie z.B. den Lymphomen, dem Glioblastoma multiforme oder dem nasopharyngealen Karzinom, seinen Einzug gefunden hat. Zudem ist die Bestimmung der Serum-Laktatdehydrogenase im Vergleich zu neueren moderneren Tumormarkern sowohl wesentlich kostengünstiger als auch verfügbarer und die Aussagekraft gerade bei der Prognoseabschätzung beim NSCLC in vielen Studien besser belegt. Allerdings gibt es nicht nur Studien, die die Serum-Laktatdehydrogenase als prognostisch unabhängig signifikante Variable bestätigen, sondern auch Studien, die diese Eigenschaft nicht erwidern konnten (Watine 2000).

Die Einschränkung bei diesen Studien war, dass der Großteil der Studien bei den Untersuchungen entweder keine Trennung zwischen SCLC und NSCLC machte (Pujol et al. 1996; Wieskopf et al. 1995), oder, wenn nur Patienten mit NSCLC in einer Studie untersucht wurden, diese zumeist nicht operiert wurden und sich schon im Stadium III oder IV befanden (Eberhardt et al.

1998; O'Connell et al. 1986). Ein weiteres Problem war die Festlegung des Schwellenwertes zwischen normalem und pathologischem Wert der Laktatdehydrogenase im Serum, der von Studie zu Studie variierte. Diese Studie beinhaltet somit im Gegensatz zu vielen anderen Studien nur Patienten mit NSCLC, und im engeren Sinne, nur Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Lunge, in den Stadien Ia bis IIIb in einer relativ ausgewogenen Verteilung, die alle mit kurativem Ansatz operiert wurden.

Der Schwellenwert für die Serum-Laktatdehydrogenase, der sich durch Addition einer Standardabweichung zum Mittelwert der präoperativen Serum-LDH errechnete, betrug in der vorliegenden Studie 240 U/L und entsprach damit dem der Studie von Eberhardt et al. (1998), der 94 Patienten in seine Studie eingeschlossen hat. Diese Patienten befanden sich zwar im Gegensatz zu der vorliegenden Studie im Stadium IIIa und IIIb und wurden alle neoadjuvant behandelt, dafür hatten aber alle Patienten ein NSCLC und sogar 54% davon ein Plattenepithelkarzinom der Lunge, 66% der Patienten wurden immerhin nach neoadjuvanter Behandlung noch operiert und der Median der präoperativen Laktatdehydrogenase betrug 189 U/L, welcher in der vorliegenden Studie 190 U/L maß. Zudem war die R1/R2-Rate zwischen den beiden Studien mit 10% gleich und in der vorliegenden Studie waren mit 13% nur geringfügig mehr Patienten perioperativ verstorben als bei Eberhardt et al. (1998) mit 7%. Diese Übereinstimmungen waren bei einer Studiengröße von 94 bzw. 61 Patienten äußerst hoch, da der Anteil an Ausreißern von der Norm bei einer so geringen Patientenzahl einen relativ hohen Einfluss auf die Mittelwerte hat. Eberhardt et al. (1998) konnte bei einem Schwellenwert der Serum-Laktatdehydrogenase von 240 U/L einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Gruppe  $\leq 240$  U/L und  $> 240$  U/L mit einem p-Wert von 0,003 nachweisen. Dabei hatte die Gruppe mit einer Laktatdehydrogenase  $\leq 240$  U/L eine mediane Überlebenszeit von 20 Monaten mit einer 4-Jahresüberlebensrate von 37% und die Gruppe  $> 240$  U/L eine mediane Überlebenszeit von 11,5 Monaten mit einer 4-Jahresüberlebensrate von 0%.

Die vorliegende Studie konnte mit einem p-Wert von 0,03 ebenfalls einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen, nicht nur unter Einbeziehung der Stadien IIIa und IIIb, sondern auch der Stadien Ia-IIb feststellen. In der Gruppe  $\leq 240$  U/L wurde hier, wie zu erwarten, eine sichtbar bessere mediane Überlebenszeit mit 23 Monaten und eine 4-Jahresüberlebensrate von 51% beobachtet, wobei die Gruppe  $> 240$  U/L mit einer medianen Überlebenszeit von 11 Monaten und einer 4-Jahresüberlebensrate von 17% nur einen minimalen Überlebensvorteil zeigte, wobei immerhin ein Drittel der Patienten mit einer LDH von  $> 240$  U/L im Stadium Ia und Ib waren. Auch unter Ausschluss der neoadjuvant behandelten Patienten, war der p-Wert mit 0,01 deutlich signifikant. Bei der Betrachtung des Kollektiv B konnte ebenfalls unter Ausschluss aller Störfaktoren, die auf die Überlebenszeit einwirkten, also auch der neoadjuvant behandelten Patienten, ein



statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen mit 0,03 beobachtet werden (s. Tab. 3.5). Folglich könnte es möglich sein, dass ab einem präoperativen Serum-LDH-Wert von >240 U/L nicht mehr das Stadium, sondern der pathologisch hohe Serum-LDH-Wert prognoseweisend ist. Die Studien von O’Connell et al. (1986), Pujol et al. (1996) und Wieskopf et al. (1995) konnten ebenfalls einen signifikanten Unterschied zwischen der Prognose und der präoperativ gemessenen Serum-LDH feststellen und haben gewisse Gemeinsamkeiten in dem Studienkonzept mit der vorliegenden Studie, waren aber für einen direkten Vergleich nicht geeignet, da entweder zu wenig Patienten ein Plattenepithelkarzinom der Lunge hatten, die benötigten Daten nicht dargestellt wurden oder neben den Patienten mit NSCLC noch Patienten mit SCLC in die Untersuchungen integriert wurden. Entgegen den zuvor genannten Studien konnten die Studien von Borges et al. (1996) und Gail et al. (1984) keinen signifikanten Unterschied in der Prognose feststellen. Näheres zu den Studien und den Grenzwerten der Serum-LDH ist in Tabelle 4.2 dargestellt.

Studie	n	NSCLC		SCLC	Serum-LDH	
		(SCC	in %)		Schwelle	p-Wert
<b>Eberhardt et al. 1998</b>	94	+	(66%)		240 U/L	0,003
<b>O’Connell et al. 1986</b>	378	+	(24%)		230 U/L	0,001
<b>Pujol et al. 1996</b>	405	+	(63%)	+	600 U/L	0,0001
<b>Wieskopf et al. 1995</b>	161	+	(72%)	+	?	signifikant
<b>Wolf 1998</b>	1095			+	240 U/L	0,0001
<b>Borges et al. 1996</b>	541	+	(ca. 55%)		200 U/L	nicht signifikant
<b>Gail et al. 1984</b>	392	+			149 U/L	nicht signifikant

Tabelle 4.2: Studien, die die Serum-LDH als unabhängige Variable geprüft haben

Fraglich waren hier die Grenzwerte von Pujol et al. (1996) und Gail et al. (1984), die mit 149 U/L bzw. 600 U/L sehr stark von den übrigen Grenz-

werten divergierten. Diese Studien konnten für den Vergleich nur eingeschränkt betrachtet werden, da immer nur ein Teil der Patienten in den Untersuchungen ein Plattenepithelkarzinom der Lunge hatte, die verschiedenen Entitäten des NSCLC aber vermutlich eine unterschiedliche Exprimierung und Freisetzung der Laktatdehydrogenase ins Blutserum zeigen. Goldman et al. konnte (1964) nachweisen, dass die freigesetzte LDH zwischen normalem Gewebe und Tumorgewebe eine unterschiedliche Zusammensetzung von M- gegenüber H-Untereinheiten aufwies. Dieser Unterschied in der Zusammensetzung bestand auch zwischen den verschiedenen Tumoren, wobei das Verhältnis von M-Untereinheiten gegenüber H-Untereinheiten bei allen Tumorgeweben überwog. Diese Tatsache stützt somit auch die Vermutung, dass das Freisetzungsverhalten der LDH zwischen den Entitäten des NSCLC unterschiedlich ist. Des Weiteren beobachtete Goldman et al. (1964), dass nicht nur die Zusammensetzung der LDH zugunsten der M-Untereinheiten ausfiel, sondern auch, dass die Aktivität der LDH im Tumor allgemein ausgeprägter war, als die LDH-Aktivität im gesunden Gewebe. Wie schon zuvor beschrieben, wird auch bei Goldman et al. (1964) als Grund dafür die Umstellung von H- auf M-Untereinheiten aufgrund der besseren Affinität zu Pyruvat und der allgemeinen Hochregulation der anaeroben Glykolyse bei Tumoren, wie es Warburg (1956) beschrieb, aufgrund des gesteigerten Energiebedarfs bei ungenügender Gefäßneubildung genannt. Die gesteigerte LDH-Aktivität führt folglich zu einer vermehrten Milchsäureproduktion. Durch die Ansäuerung des Extrazellulärraums wird zum einen möglicherweise die Aktivität der Gelatinase und des Kathepsin D gesteigert, beides die Extrazellulärmatrix und die Basalmembran spaltende Enzyme, zum anderen aktiviert Laktat die Makrophagen-vermittelte Angiogenese, sodass die Fähigkeit der Tumorzellen invasiv zu streuen, vermutlich erhöht ist (Koukourakis et al. 2003b). Des Weiteren beobachtete Fantin et al. (2006), dass die Proliferationsrate der Tumorzellen nach Knock-out der LDH sank. Brand und Hermfisse (1997) stellten fest, dass bei Downregulation der mitochondrialen ATP-Produktion bei ausreichender Energiegewinnung durch Umwandlung von Pyruvat zu Laktat weniger reaktive Sauerstoffverbindungen entstanden und somit der oxidative Stress auf die Zelle gesenkt wurde. Diese Theorien erklären, warum ein gesteigerter Serum-LDH-Wert eines Patienten mit einer schlechteren Prognose in Zusammenhang gebracht werden kann und verdeutlicht, warum das Exprimierungsverhalten der LDH-5 im Tumor, welche ausschließlich aus M-Untereinheiten besteht, in einer weiteren Untersuchung immunhistochemisch bestimmt wurde.

#### 4.4.2 Verlauf der Serum-LDH

Bei der Untersuchung des Verlaufs der Serum-LDH sollte überprüft werden, ob sich die Resektion des Tumors und somit die Reduzierung des LDH-5-

bildenden Gewebes in einem Abfall des postoperativen Serum-LDH-Wertes widerspiegeln würde und einen Zusammenhang mit der Überlebenszeit der Patienten erkennen lasse. Hier konnte gezeigt werden, dass der präoperative Serum-LDH-Mittelwert bei Patienten, die einen pathologisch erhöhten präoperativen Serum-LDH-Wert hatten und nicht perioperativ verstorben sind, mit 268,2 U/L deutlicher höher lag, als der postoperative Mittelwert der Serum-LDH mit 218,4 U/L. Allerdings war dieser Unterschied nicht signifikant unterschiedlich. Auch die Überlebenszeiten der Patienten aus Kollektiv A bzw. Kollektiv B zeigten keinen signifikanten Unterschied je nach Anstieg oder Abfall der Serum-LDH im Log-Rank-Test. Im Gegensatz zur Hypothese kam es sogar in der vorliegenden Studie mit einem Median der präoperativen Serum-LDH von 190 U/L und einem Mittelwert von 197,31 U/L, und einem postoperativen Median von 215 U/L und einem Mittelwert von 228,19 U/L zu einem Anstieg der Serum-LDH nach Resektion bezogen auf alle Patienten. Hingegen würde eine Studie von Koukourakis et al. (2003b) die These des Serum-LDH-Abfalls nach Resektion bestätigen, da in dessen Studie die Serum-Laktatdehydrogenase nach Operation des Tumors im Blut signifikant geringer war, als der präoperativ gemessene Wert, insbesondere bei den hohen präoperativen Werten. Einschränkend muss erwähnt werden, dass die Studie lediglich 33 Patienten umfasste und alle Entitäten des NSCLC mit einschloss. Außerdem wurden bei Koukourakis et al. (2003b) der Serum-LDH-Wert prospektiv am Tag der OP und acht Tage danach erhoben, in der vorliegenden Studie wurden allerdings die Serum-LDH-Werte retrospektiv bis drei Monate vor und drei Monate nach Op erfasst. Somit kann zwar keine Aussage über die Überlebenszeit eines Patienten durch die Bestimmung des Verlaufs der Serum-LDH gemacht werden, aber die Theorie wurde bestärkt, dass die pathologisch hohen Werte der Serum-LDH bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Lunge möglicherweise durch die Bildung der LDH-5 im Tumor verursacht sind.

## **4.5 Tumor-LDH**

### **4.5.1 LDH-5-Gesamtimpression**

#### **4.5.1.1 Überlebenszeit**

In einer Studie von Giatromanolaki et al. (2006) konnte für das Endometriumkarzinom gezeigt werden, dass zwischen einer starken und einer schwachen LDH-5-Exprimierung in Bezug auf die Überlebenszeit ein statistisch signifikanter Unterschied mit einem p-Wert von 0,01 bestand. Die Kriterien der Bewertung kamen denen in der vorliegenden Studie für die LDH-5-Gesamtimpression sehr nahe. In der vorliegenden Studie konnte allerdings für das Plattenepithelkarzinom der Lunge kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der LDH-5-Gesamtimpression und der Überle-

benszeit in keinem der untersuchten Kollektive weder in der Hauptuntersuchung, noch in der Kontrolluntersuchung festgestellt werden. Obwohl kein signifikanter Unterschied zu sehen war, wurde ein Trend deutlich. Sowohl bei der Hauptuntersuchung, als auch bei der Kontrolluntersuchung waren die 5-Jahresüberlebensraten für die Gruppe 1 mit der schwachen LDH-5-Exprimierung zum Teil wesentlich höher, als für Gruppe 2 mit der starken LDH-5-Exprimierung. Besonders deutlich war dieser Unterschied im Kollektiv B. Zum einen war die 5-Jahresüberlebensrate für Gruppe 1 in Kollektiv B etwa 10% höher als im Kollektiv A, zum anderen betrug der Unterschied der 5-Jahresüberlebensrate zwischen Gruppe 1 und Gruppe 2 in Kollektiv B bis zu 21% (s. Tab. 3.9). Diese Beobachtungen der LDH-5-Gesamtimpression, also der negative Einfluss von großen, solide strukturierten Tumorzellverbänden mit hoher LDH-5-Exprimierung auf die Überlebenszeit eines Patienten, würden die Hypothese bestärken, die aus den Erkenntnissen von Goldman et al. (1964), Koukourakis et al. (2003b), Fantin et al. (2006) und Brand und Hermfisse (1997) schon bei der Diskussion des Einflusses der präoperativen Serum-LDH auf die Prognose eines Patienten entwickelt wurde.

#### 4.5.1.2 Korrelation zur Serum-LDH

Im Gesamtkollektiv gab es zwischen der LDH-5-Gesamtimpression und der präoperativen Serum-LDH keine lineare Korrelation nach Kendall, obwohl die präoperative Serum-LDH signifikant mit der Überlebenszeit der Patienten korrelierte und die Beobachtungen der LDH-5-Gesamtimpression zumindest Tendenzen auf einen Einfluss auf die Überlebenszeit der Patienten zeigten. Hingegen war bei der separaten Betrachtung der einzelnen Stadien des Gesamtkollektivs auffällig, dass, auch wenn die Korrelation bis auf in Stadium IIIa mit einem  $\tau$  von -0,66 eher schwach war, in den früheren Stadien, also Ia und Ib, eher eine linear positive Korrelation zwischen der präoperativen Serum-LDH und der LDH-5-Gesamtimpression und in den höheren Stadien, sprich IIb und IIIa, wider Erwarten, eine linear negative Korrelation zu sehen war (s. Tab. 3.27). Zum einen könnte die negative Korrelation durch den negativen Einfluss einer neoadjuvanten Therapie auf den Tumor bedingt sein. Diese wurde in den höheren Stadien häufiger durchgeführt, um die Größe und das Wachstumsverhalten der Tumoren zu reduzieren (Albain et al. 1995). Zum anderen könnte diese divergente stadienabhängige Korrelation, da sie in Stadium Ia, Ib und IIb nur schwach war, zufällig aufgetreten sein.

## 4.5.2 LDH-5-Expression

### 4.5.2.1 Überlebenszeit

Bei der quantitativen Bewertung der vitalen, nach LDH-5 gefärbeten Tumorzellverbände konnte kein signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit zwischen der Gruppe mit niedriger LDH-5-Expression und hoher LDH-5-Expression sowohl in der Hauptuntersuchung, als auch in der Kontrolluntersuchung festgestellt werden. Selbst die Bestimmung der 5-Jahresüberlebensraten zeigte keinen möglichen Trend in der Veränderung der Überlebenszeit je nach Höhe der LDH-5-Expression. Zwar waren die 5-Jahresüberlebensraten in der Hauptuntersuchung teilweise in Gruppe 1 um bis zu 20% höher als in Gruppe 2 (s. Tab. 31.5), allerdings zeigten die 5-Jahresüberlebensraten in der Kontrolluntersuchung ein genau gegenläufiges Bild (s. Tab. 3.17). Um eine dafür verantwortliche divergente Bewertung zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung durch die Untersucher auszuschließen, wurde die Korrelation der Bewertung der LDH-5-Expression zwischen den Untersuchern bestimmt, die in einem linearen Modell miteinander mäßig korrelierte und in einem nicht-linearen Modell keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Untersuchern feststellen konnte. Somit muss die Beobachtung in der Studie von Koukourakis et al. (2003b), die bei einem Schema mit drei verschiedenen Stufen der LDH-5-Expression einen statistisch signifikanten Unterschied in der Überlebenszeit zwischen der Gruppe mit hoher und niedriger LDH-5-Expression feststellen konnte, in Frage gestellt werden. Außerdem konnte in der Studie von Koukourakis et al. (2003b) zwischen der Gruppe mit hoher und mäßiger LDH-5-Expression und zwischen der Gruppe mit mäßiger und niedriger LDH-5-Expression kein Unterschied in der Überlebenszeit festgestellt werden. Dabei orientierte sich der Grenzwert zwischen der hohen und mäßigen LDH-5-Expression am Median, wobei der Grenzwert zwischen der mäßigen und niedrigen LDH-5-Expression frei gewählt wurde.

### 4.5.2.2 Korrelation zur Serum-LDH

Es konnte sowohl im Gesamtkollektiv, als auch bei stadienbezogener Betrachtung keine Korrelation zwischen der präoperativ gemessenen Serum-LDH und der LDH-5-Expression nachgewiesen werden. Zwar gab es im Stadium Ia in der Hauptuntersuchung eine mäßige Korrelation, die sich aber in der Kontrolluntersuchung invers abspiegelte. Auch in der Studie von Koukourakis et al. (2003b) konnte kein überzeugender Zusammenhang zwischen der präoperativ bestimmten Serum-LDH und der immunhistochemisch bestimmten LDH-5-Expression festgestellt werden. Somit ist ein Einfluss der Menge der vitalen Tumormasse auf die Höhe des Serum-LDH-Spiegels aufgrund dieser Beobachtungen vermutlich nicht vorhanden. Unterstützt wird diese Vermutung durch die Studie von Lukacova et al. (2008), der in einer Untersuchung an Plattenepithelkarzinomen bei Mäusen ebenfalls keinen

Einfluss der Tumormasse auf den Serum-LDH-Spiegel feststellen konnte.

### 4.5.3 LDH-5-Intensität

#### 4.5.3.1 Überlebenszeit

Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit zwischen der Gruppe mit schwacher und starker LDH-5-Intensität ermittelt werden. Die 5-Jahresüberlebensraten der Gruppe 1, also mit einer schwachen LDH-5-Intensität, waren allerdings wesentlich besser als in Gruppe 2 (s. Abb. 3.15). Gerade im Kollektiv B waren die 5-Jahresüberlebensraten mit etwa 60% um ungefähr 10% besser als in Kollektiv A, und die 5-Jahresüberlebensraten in Gruppe 1 um bis zu 20% besser als in Gruppe 2 (s. Abb. 3.16). Als Ursache des Überlebensvorteils von Gruppe 1 gegenüber Gruppe 2 könnte ein langsames Tumorwachstum angenommen werden. Diese Theorie stützt sich auf den Beobachtungen mehrerer Studien. Lukacova et al. (2008) konnte eine erhöhte LDH im Tumor bei steigendem Tumorwachstum feststellen. Auch Goldman et al. (1964) konnte nachweisen, dass die Aktivität der LDH im Tumor gesteigert war, und führte dies auf den steigenden Energiebedarf des Tumors beim Wachstum zurück. Des Weiteren beobachtete Fantin et al. (2006), dass die Proliferationsrate der Tumorzellen nach Knock-out der LDH sank, was im Umkehrschluss bedeuten würde, dass eine erhöhte LDH im Tumor möglicherweise für eine hohe Proliferationsrate der Tumorzellen erforderlich sei. Eine erhöhte Tumor-LDH wäre wiederum in einem intensiveren Grad der Anfärbung bei der immunhistochemischen Untersuchung zu sehen, was eben durch die LDH-5-Intensität repräsentiert wurde und damit auch die bessere 5-Jahresüberlebensrate der durch die LDH-5-Intensität bestimmten Gruppe 1 gegenüber Gruppe 2 erklären würde.

Der Überlebensvorteil von 10% im Kollektiv B gegenüber Kollektiv A könnte durch den Ausschluss der Patienten bedingt sein, die nicht am Tumor, sondern zuvor aufgrund anderer Ursachen gestorben sind.

#### 4.5.3.2 Korrelation zur Serum-LDH

Beim Vergleich der präoperativen Serum-LDH mit der LDH-5-Intensität im Tumor ist keine lineare Korrelation im Gesamtkollektiv zu erkennen. Bei der stadienbezogenen Betrachtung der Korrelation zeigte sich in Stadium IIb und IIIa eine mäßig negative Korrelation (s. Tab. 3.29). Das bedeutet, dass in den höheren Stadien eine niedrige LDH-5-Intensität mit einer hohen Serum-LDH einhergeht. Wie schon bei der LDH-5-Gesamtimpression beschrieben, könnte die negative Korrelation in den höheren Stadien durch den negativen Einfluss einer neoadjuvanten Therapie auf den Tumor bedingt sein. Ein anderer Grund könnte in dem Missverhältnis zwischen dem Zeitpunkt der Bestimmung der LDH-Aktivität im Tumor und dem zuvor erho-

benen präoperativen Serum-LDH-Wert liegen. Sollte sich im Tumor in dieser Zeitspanne das Sauerstoffangebot verschlechtert haben, ist die Aktivität der LDH im Tumor, und damit auch die LDH-5-Intensität, aufgrund der gesteigerten anaeroben Glykolyse zum Zeitpunkt der Resektion höher, als sie es zum Zeitpunkt der Serum-LDH-Erhebung gewesen wäre. Die Folge wäre eine im Vergleich zur Serum-LDH überbewertete LDH-5-Intensität. Eine weitere mögliche Ursache könnte das Stadium selbst gewesen sein, da die Gefäßversorgung im Tumor in einem höheren Stadium vermutlich schlecht ist und die LDH weniger leicht ins Serum gelangen könnte, als in einem niedrigeren Stadium, in dem die Angiogenese im Tumor wahrscheinlich deutlich besser ist (Giatromanolaki and Harris 2001; Vaupel et al. 2001). Dies würde auch die Hypothese von Lukacova et al. (2008) erklären, dass nicht der Grad der Hypoxie die Höhe des Serum-LDH-Spiegels bestimme. Die Hypoxie würde die Bildung von Laktat zwar anregen, allerdings wäre der zu bewältigende Weg zum Gefäß weiter. Zuletzt könnte die negative Korrelation in Stadium IIb und IIIa zufällig eingetreten sein, da in Stadium Ia und Ib kein linearer Zusammenhang zwischen der präoperativen Serum-LDH und der LDH-5-Intensität nachzuweisen war.

# Kapitel 5

## Zusammenfassung

### 5.1 Erkenntnisse zur einleitenden Zielsetzung

Um die Fragen der einleitenden Zielsetzung möglichst objektiv zu untersuchen, war vor allem bei der immunhistochemischen Untersuchung der LDH-5 im Tumor eine strukturierte Methodik notwendig, da es bis dahin keinen Standard für diese Methodik gab. Um die Bewertung der LDH-5 im Tumor möglichst groß zu fächern, wurde zuerst durch eine lichtmikroskopische Bestimmung die Expression der LDH-5 im Tumor in fünf verschiedenen Stufen unterschieden. Erst danach wurde der Grenzwert für jeden Parameter separat anhand eines objektiven Verfahrens, sprich, orientiert an einer ausgeglichenen Patientenzahl oberhalb und unterhalb des Grenzwertes, bestimmt. Um die Wiederholbarkeit der angewandten Methode zu überprüfen, wurden alle Untersuchungen in einer Kontrolluntersuchung von einem unabhängigen zweiten Untersucher erneut durchgeführt. Hierbei ergab sich für die Bestimmung der LDH-5-Expression kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung. Für die LDH-5-Gesamtimpression und LDH-5-Intensität war zwar in einem nicht-linearen Modell ein Unterschied zu erkennen, allerdings stellte sich aufgrund der linearen Korrelation zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung heraus, dass dieser Unterschied durch eine systematisch höhere Bewertung der Kontrolluntersuchung zustande kam. Da sich aber die Grenzwertbestimmung separat für die einzelnen Parameter und Untersucher anhand der Patientenzahl orientierte, gelangten sowohl bei der Hauptuntersuchung, als auch bei der Kontrolluntersuchung überwiegend die gleichen Patienten in die jeweiligen Gruppen. Diese Vermutung wurde durch den Vergleich der durchschnittlichen Überlebenszeit der jeweiligen Gruppe zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung untermauert, der in allen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich war. Somit konnten den immunhistochemisch bestimmten Parametern der vorliegenden Studie aufgrund der strukturierten Methode ein hoher Grad an Objektivität nachgewiesen werden.



Bei der LDH-5-Gesamtimpression, der LDH-5-Expression sowie der LDH-5-Intensität konnte kein signifikanter Unterschied der Überlebenszeit zwischen den Patienten mit schwacher und starker LDH-5-Exprimierung nachgewiesen werden. Allerdings zeichnete sich bei der LDH-5-Gesamtimpression und der LDH-5-Intensität ein Trend ab. Die Patienten mit schwacher LDH-5-Exprimierung dieser Parameter zeigten bis zu 20% bessere 5-Jahresüberlebensraten, als die Patienten mit hoher LDH-5-Exprimierung. Da die LDH-5-Gesamtimpression zum Teil, vor allem aber die LDH-5-Intensität die Aktivität der LDH-5 in den Tumorzellen vermutlich widerspiegelte, war die bessere Überlebenszeit der Patienten mit einer schwachen LDH-5-Aktivität vermutlich durch die langsamere Proliferationsrate der Tumoren bedingt. Den Zusammenhang zwischen der LDH-5-Aktivität und der Proliferationsrate hatten auch schon Studien von Goldman et al. (1964), Fantin et al. (2006) und Brand und Hermfisse (1997) beobachtet. Die LDH-5-Expression, also die alleinige Bestimmung des Anteils von vitalen, soliden Tumorzellverbänden im Tumor, ließ keinen Zusammenhang auf die Proliferationsrate des Tumors erkennen. Auch ein Zusammenhang zur Überlebenszeit der Patienten konnte bei der LDH-5-Expression in keiner Weise nachgewiesen werden, so dass die Beobachtung von Koukourakis et al. (2003b) für die LDH-5-Expression als prognostischer Marker nicht bestätigt, ja sogar widerlegt werden konnte.

Im Gegensatz zu den immunhistochemisch bestimmten Parametern zeigten die Patienten mit einer präoperativ pathologisch erhöhten Serum-LDH von über 240 U/L eine signifikant schlechtere Überlebenszeit als die anderen Patienten. Da die erhöhte Serum-LDH vermutlich durch die erhöhte Aktivität der LDH im Tumor bedingt war (Goldman et al. 1964), und, wie zuvor beschrieben, eine erhöhte LDH-5-Aktivität im Tumor mit einer erhöhten Proliferationsrate des Tumors einhergeht, ist es ersichtlich, dass eine präoperativ pathologisch erhöhte Serum-LDH möglicherweise eine schlechte Prognose des Patienten vorhersagen kann. Die Untersuchung des Verlaufs der Serum-LDH konnte keinen Hinweis auf eine unterschiedliche Überlebenszeit der Patienten je nach Anstieg oder Abfall der Serum-LDH nach der Operation geben. Es konnte lediglich beobachtet werden, dass die Patienten mit einer präoperativ pathologisch erhöhten Serum-LDH einen deutlichen Abfall der Serum-LDH nach Resektion hatten, wie es auch Koukourakis et al. (2003b) beschrieb.

Interessant ist nun die Frage, ob die Exprimierung der LDH-5 im Tumor mit der Höhe der Serum-LDH korreliert. Eine lineare Korrelation zwischen diesen beiden Parameter konnte definitiv nicht nachgewiesen werden. Auffällig war aber, dass die LDH-5-Aktivität, ausgedrückt durch die LDH-5-Intensität, mit der Serum-LDH in den höheren Stadien negativ korrelierte. Grund dafür

könnte der bei häufig unzureichender Angiogenese in größeren Tumoren größere Abstand zwischen dem Gefäß und dem Ort der Laktatbildung sein (Giatromanolaki and Harris 2001; Vaupel et al. 2001), obwohl die LDH-Aktivität bei konsekutiver Hypoxie in diesen Tumoren gesteigert sein müsste. Die LDH-5-Expression korrelierte weder negativ noch positiv mit der Serum-LDH. Auch Lukacova et al. (2008) und Koukourakis et al. (2003b) konnten keinen überzeugenden Zusammenhang zwischen der Tumorlast und der Serum-LDH feststellen. Daher muss weiterhin untersucht werden, inwiefern die Tumor-LDH die Serum-LDH beeinflusst. Am geeignetsten scheint hier die Bestimmung der LDH-5-Intensität zu sein, da sie vermutlich ein Parameter für die Aktivität der LDH-5 im Tumor ist. Die Serum-LDH müsste prospektiv zu verschiedenen Zeiten präoperativ und in verschiedenen Stadien des Tumors bestimmt werden, um damit eventuell Rückschlüsse auf die Beeinflussung der Serum-LDH durch den Tumor zu ziehen. Möglicherweise haben aber auch die anderen Isotopen der LDH im Tumor einen nicht zu unterschätzenden Einfluss auf die Serum-LDH, auch wenn am Beispiel der LDH-1, diese wesentlich schwächer im Tumorgewebe exprimiert werden (Koukourakis et al. 2003a).

## 5.2 Pathophysiologische Erkenntnisse

Die LDH-5-Intensität definiert sich durch den Grad der Anfärbung der Tumorzellen nach LDH-5 und ist somit vermutlich ein Marker für die Aktivität der anaeroben Glykolyse, da hier aufgrund der Hypoxie vermehrt Pyruvat zu Laktat umgewandelt wird. Die höchste Affinität zu Pyruvat haben die M-Untereinheiten der LDH, so dass hauptsächlich die LDH-5 mit ausschließlich M-Untereinheiten gebildet wird. Aufgrund des durch die erhöhte LDH-Aktivität sauren Milieus des Extrazellulärtraumes wird angenommen, dass die Fähigkeit der Tumorzellen zu metastasieren erhöht und die Proliferationsrate der Tumorzellen gesteigert ist (Koukourakis et al. 2003b, Fantin et al. 2006, Brand und Hermfisse 1997). Des Weiteren geht eine gesteigerte Proliferationsrate zumeist mit einer strukturell und funktionell gestörten Angiogenese und damit erhöhten Hypoxie einher (Giatromanolaki and Harris 2001; Vaupel et al. 2001), so dass auch deswegen die LDH-Aktivität gesteigert ist. In der vorliegenden Studie ging eine schwache LDH-5-Aktivität, repräsentiert durch eine schwache LDH-5-Intensität, mit besseren 5-Jahresüberlebensraten der Patienten einher, so dass diese Erkenntnis die Begründung des negativen Einflusses einer hohen LDH-Aktivität im Tumor auf die schlechtere Überlebenszeit der Patienten bestärkt.

Die Tumorzellen der Lunge exprimieren vermehrt LDH-5, wobei das normale Lungengewebe in der Nähe des Tumors sowie die Fibroblasten, Endothelzellen und infiltrierende Lymphozyten im Stroma des Tumors auch in

gewissen Maße LDH-5 exprimieren (Koukourakis et al. 2003a). In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass zudem Nekroseareale eine vermehrte LDH-5-Anfärbung zeigten. Dieses Phänomen beruhte vermutlich darauf, dass diese Zellen schon längere Zeit in einem hypoxischen Milieu verweilten und somit eine große Menge an LDH-5 exprimiert haben, um auch unter Sauerstoffarmut möglichst viel ATP durch Umwandlung von Pyruvat zu Laktat zu gewinnen. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde die Bewertung der immunhistochemischen Parameter auch nur im Vergleich mit dem äquivalenten nach HE-gefärbten Präparat durchgeführt, um zuerst ausschließlich die vitalen Tumorzellen zu identifizieren und daraufhin zu bewerten.

### 5.3 Klinische Implikationen

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Aussagekraft gewisser Parameter auf die Prognose eines Patienten zu überprüfen, um dieses Wissen für eine optimierte Planung bei der Behandlung eines Plattenepithelkarzinoms der Lunge zu benutzen. Dabei hat sich herausgestellt, dass die präoperative Bestimmung der Serum-LDH eine signifikante Aussage über die Prognose eines Patienten machen kann. Auch mehrere andere Studien konnten die Aussagekraft der Serum-LDH bezüglich der Prognoseabschätzung bestätigen, wobei die Patienten in diesen Studien nicht nur, wie in der vorliegenden Studie, ein reseziertes Plattenepithelkarzinom der Lunge aus den Stadien I - III, sondern entweder zum Teil ein NSCLC bzw. SCLC hatten, oder sich schon in chemotherapeutisch behandelten, fortgeschrittenen Stadien befanden (siehe Tab. 4.2). Der Vorteil der Serum-Laktatdehydrogenase ist, dass sie ein sehr billig zu bestimmender Parameter ist und in jedem Labor bestimmt werden kann. Diesen Vorteil hat Watine (2000) in einem Review gegenüber vielen anderen, schwieriger und kostenintensiver zu bestimmenden Parametern, wie z.B. CA 125, Cyfra 21-1 oder p53-Antikörper, herausgearbeitet. Mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie wäre es sinnvoll, die Serum-LDH präoperativ bei Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom zu bestimmen, bei denen eine kurative Resektion angestrebt wird. Somit könnten den Patienten, die prognostisch eine schlechtere Überlebenszeit zu erwarten haben, eine intensivere adjuvante Therapie zuteil werden.

Die prognostische Aussagekraft der immunhistochemisch bestimmten Parameter ist fraglich, da die einzelnen Parameter bei keiner Bestimmung einen signifikanten Unterschied in der Prognose eines Patienten je nach Höhe der quantitativen bzw. qualitativen LDH-5-Expression im Tumor feststellen konnten. Die LDH-5-Expression korrelierte in keiner Weise mit der Überlebenszeit der Patienten. Im Gegensatz dazu zeigte aber sowohl die LDH-5-Gesamtimpression, als auch die LDH-5-Intensität bei schwacher Expression eine bessere 5-Jahresüberlebensrate als bei starker Expression.

Besonders deutlich wurde dieser Unterschied für die LDH-5-Intensität bei Ausschluss aller Patienten, die aufgrund anderer Störfaktoren nicht an den Folgen des Primärtumors verstorben waren oder nicht kurativ operiert werden konnten. Nach Ausschluss eben dieser Störfaktoren zeigten die Patienten mit schwacher LDH-5-Intensität eine bis zu 20% bessere 5-Jahresüberlebensrate als die Patienten mit starker LDH-5-Intensität. Möglicherweise beschreibt die LDH-5-Intensität die Aktivität der Tumorzellverbände, was auch die Korrelation einer starken LDH-5-Intensität mit einer schlechteren Prognose der Patienten erklären würde. Dieser Unterschied reicht sicherlich nicht aus, um diesen Parameter in den klinischen Alltag als Diagnostikum einzusetzen, allerdings sollten die Erkenntnisse Anlass dazu geben, die Aussagekraft dieses Parameters in größeren, prospektiv angelegten Studien zu überprüfen.

## **5.4 Reevaluierung des Studienkonzepts**

### **5.4.1 Datenerhebung**

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte in einem festen Zeitraum nach ganz klaren Einschlusskriterien: der Entität, dem Plattenepithelkarzinom der Lunge, und dem Vorhandensein eines präoperativen Serum-LDH-Wertes innerhalb drei Monate präoperativ, so dass in diesem Zeitraum jeder Patient mit diesen Kriterien in die Untersuchungen integriert wurde. Ein Jahr nach Rekrutierungsende konnte bei 100% der Patienten eine Statusreevaluation erfolgen. Im Vergleich dazu, konnten bei Koukourakis et al. (2003b), dessen Studie in etwa die gleiche Problematik wie diese Studie behandelte, 93% der Patienten reevaluiert werden, so dass in dessen Studie die Untersuchungen auf die Überlebenszeit der Patienten nicht vollständig repräsentativ waren. Um ein völlig repräsentatives Kollektiv zu haben, hätte die präoperative Serum-LDH prospektiv von jedem Patienten erhoben werden müssen. Die Erhebung der Serum-LDH-Werte in der vorliegenden Studie erfolgte retrospektiv, so dass auf die LDH-Bestimmung kein Einfluss genommen werden konnte. Um aber in der vorliegenden Studie ein völlig repräsentatives Kollektiv für das Plattenepithelkarzinom der Lunge haben zu wollen, hätte die präoperative Serum-LDH prospektiv erhoben werden müssen, um tatsächlich alle Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Lunge in die Untersuchungen integrieren zu können.

### **5.4.2 Serum-LDH**

Für eine absolut vergleichbare Korrelation zwischen der Serum-LDH und der Überlebenszeit hätte der präoperative sowie postoperative Serum-LDH-Wert prospektiv abgenommen werden müssen, da die Serum-LDH vermutlich durch den Tumor in einer bisher noch nicht bekannten Weise beeinflusst

wird. Diese LDH-Bestimmung müsste an einem festen prä- sowie postoperativen Tag erfolgen, um die Vergleichbarkeit zwischen den Patienten zu gewährleisten. Um die Korrelation zwischen der Serum-LDH und der Tumor-LDH zu überprüfen, müsste die Serum-LDH am Tag der OP kurz vor Resektion bestimmt werden, so dass das Zeitintervall zwischen der Bestimmung des Serum-LDH-Wertes und der Tumorsektion möglichst gering ist. Dies würde einen annähernd gleichzeitigen Blick auf den Serum-LDH-Spiegel und dem pathophysiologischen Pendant der LDH-5-Exprimierung im Tumor ermöglichen.

### **5.4.3 Immunhistochemische Methodik**

Um das repräsentativste Präparat eines Tumors für die Untersuchungen zu wählen, wurde die Auswahl anhand der pathologischen Befunde sowie unter direkter lichtmikroskopischer Selektion eines erfahrenen Pathologen getroffen. Die Herstellung der Tumorschnitte, die nach LDH-5 gefärbt werden sollten, wurden anhand eines bewährten Standards angefertigt. Die optimalste Einwirkdauer und Konzentration der darauffolgenden Inkubation der Tumorschnitte mit der LDH-5 wurde mit Hilfe einer erfahrenen Laborantin in zahlreichen Versuchen ausgetestet, so dass eine fehlerhafte Herstellung und Vorbereitung der Tumorschnitte so gut wie ausgeschlossen ist.

### **5.4.4 Cutt-off-Werte**

Da die Höhe des Grenzwertes zwischen einer normalen und pathologischen hohen Serum-LDH in der Literatur erheblich divergiert, wurde die Höhe des Grenzwertes in der vorliegenden Studie durch Addition einer Standardabweichung zum Mittelwert der präoperativen Serum-LDH berechnet. Der so errechnete Grenzwert glich in etwa den überwiegend beobachteten Grenzwerten, sowie dem bei der klinischen Beurteilung der Serum-LDH üblichen Grenzwert. Die Studie von Eberhardt et al. (1998), die von der epidemiologischen Patientenverteilung der vorliegenden Studie sehr ähnelte, verwendete exakt den gleichen Grenzwert und ermittelte auch statistisch signifikante Ergebnisse. Dies untermauert eine sinnvolle Festlegung des Grenzwertes in der vorliegenden Studie. Allerdings muss dieser Grenzwert in weiteren Studien überprüft werden, da die Gruppe an Patienten mit einem pathologisch hohen Grenzwert in der vorliegenden Studie sehr gering war.

Da sich bei den immunhistochemisch untersuchten Parametern bisher keine Grenzwerte bewährt haben, orientierte sich die Festlegung der Grenzwerte zwischen den fünf bestimmten Abstufungen anhand einer ausgeglichenen Patientenzahl oberhalb und unterhalb der Grenzwerte. Diese Grenzwerte waren flexibel, d.h. dass für jeden Untersucher ein eigener Grenzwert existierte. Der Vorteil war, dass bei einer subjektiven Methode, wie einer semi-

quantitativen Untersuchung, der Grenzwert bei einer systematischen Über- oder Unterbewertung nicht rigide war, sondern der Bewertung folgte, und dementsprechend höher oder tiefer war als zum Voruntersucher. Daher blieben die Patienten im Endeffekt in der gleichen Gruppe. Koukourakis et al. (2003b) hatte beispielsweise drei Gruppen und definierte den oberen Grenzwert in gleicher Weise wie diese Studie, wobei kein Kriterium für die Definierung des unteren Grenzwertes genannt wurde, so dass die Interpretation der Ergebnisse fraglich ist.

#### **5.4.5 Immunhistochemische Bewertung**

Das größte Fehlerpotential war bei der semiquantitativen Bewertung der immunhistochemisch angefärbten Präparate möglich, so dass die Ausarbeitung der Methodik äußerst strukturiert erfolgte. Um möglichst viele Abstufungen der Anfärbung beurteilen zu können, erfolgte die Unterteilung in fünf sinnvoll erscheinende Abstufungen, die jeweils zwei Untersucher unabhängig voneinander an allen Objektträgern ermittelt haben. Vor der eigentlichen Bewertung der immunhistochemischen Färbung hatte jeder Untersucher mehrere Präparate gesehen, um sich einen Eindruck über das Spektrum der Anfärbung zu machen. Obwohl ein systematischer Unterschied bei der Bewertung der LDH-5-Gesamtimpression und LDH-5-Intensität auffiel, korrelierten die Bewertungen der Untersucher zwischen der Haupt- und Kontrolluntersuchung bei allen immunhistochemischen Parametern trotzdem gut miteinander. Dieser Unterschied fiel bei den Untersuchung auf die Überlebenszeit nicht ins Gewicht, aufgrund der zuvor beschriebenen Bestimmung der Grenzwerte. Kolev et al. (2008) versuchte eine hohe Korrelation zwischen den Untersuchern zu erreichen, indem die Untersucher bei einem Unterschied in der Bewertung den Dialog suchten. Bei diesem Verfahren ist die Unabhängigkeit zwischen dem Untersucher jedoch nicht mehr gegeben und die Methodik der Studie in Frage zu stellen. Da bisher keine umfassende Literatur für die immunhistochemische Bewertung der LDH-5 in Tumoren existiert, müsste das Verfahren der Bewertung der vorliegenden Studie in weiteren Studien geprüft werden. Sicher ist aber, dass die Wiederholbarkeit der immunhistochemischen Bewertung in der vorliegenden Studie gegeben war.

#### **5.4.6 Fazit**

Resultierend war die größte Schwierigkeit in der vorliegenden Studie die Bewertung der immunhistochemischen Präparate, da gerade die LDH-5 bisher nur in wenigen Studien untersucht wurde, sodass sich ein optimales System, der in gewisser Weise subjektiven Bewertung, noch in weiteren Studien herausstellen muss, um damit auch die Ergebnisse der einzelnen Parameter, allen voran der LDH-5-Intensität, zu verfestigen.

## Kapitel 6

# Literaturverzeichnis

- [1] Albain KS, Rusch W, Crowley JJ, Rice TW, Turrisi AT, Weick JK, Lonchyna VA, Presant CA, McKenna RJ, Gandara DR (1995): Concurrent cisplatin/etoposide plus radiotherapy followed by surgery for stages IIIA (N2) and IIIB non-small cell lung cancer: mature results of Southwest Oncology Group phase II study 8805. *J Clin Oncol* 13, 1880-1892
- [2] Arriagada R, Bergman B, Dunant A, Le Chevalier T, Pignon JP, Vansteenkiste J (2004): International Adjuvant Lung Cancer Trial Collaborative Group: Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 350, 351-360
- [3] Barbone F, Bovenzi M, Cavallieri F, Stanta G (1997): Cigarette smoking and histologic type of lung cancer in men. *Chest* 112, 1474-1479
- [4] Baysson H, Tirmache M, Tymen G, Gova S, Caillaud D, Artus JC, Vergnenegre A, Ducloy F, Laurier D (2004): Indoor radon and lung cancer in France. *Epidemiology* 15, 709-716
- [5] Bernard A, Deschamps C, Allen MS, Miller DL, Trastek VF, Jenkins GD, Pairolero PC (2001): Pneumonectomy for malignant disease: factors affecting early morbidity and mortality. *J Thorac Cardiovasc Surg* 121, 1076-1082
- [6] Betticher DC, Schmitz SH, Tötsch T, Hansen E, Joss C, Briel von C, Schmid RA, Pless M, Habicht J, Roth AD et al. (2003): Mediastinal lymph node clearance after docetaxel-cisplatin neoadjuvant chemotherapy is prognostic of survival in patients with stage IIIA pN2 non-small cell lung cancer: a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 21, 1752-1759

- [7] Billello KS, Murin S, Matthay RA (2002): Epidemiology, etiology, and prevention of lung cancer. *Clin Chest Med* 23, 1-25
- [8] Bittmann I, Müller-Höcker J: Pathomorphologie der Lungenkarzinome; in: Tumoren der Lunge und des Mediastinums, 7. Auflage; hrsg. v. Tumorzentrum München, Huber R; Zuckschwerdt Verlag, München, Wien, New York 2006, 56-65
- [9] Bittmann I, Gamarra F, Huber RM: Molekularbiologie und Genetik der Lungenkarzinome; in: Tumoren der Lunge und des Mediastinums, 7. Auflage; hrsg. v. Tumorzentrum München, Huber R; Zuckschwerdt Verlag, München, Wien, New York 2006, 51-55
- [10] Bofetta P (2002): Involuntary smoking and lung cancer. *Scand J Work Environ Health* 28, 30-40
- [11] Borges M, Sculier JP, Paesmans M, Richez M, Bureau G, Dabouis G, Lecomte J, Michel J, Van Cutsem O, Schmerber J et al. (1996): Prognostic factors for response to chemotherapy containing platinum derivatives in patients with unresectable non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 16, 21-33
- [12] Brambilla E, Moro D, Gazzeri S, Brambilla C (1999): Alterations of Expression of Rb,p16(INK4A) and cyclin D1 in non-small cell lung carcinoma and their clinical significance. *J Pathol* 188, 351-360
- [13] Brand KA, Hermfisse U (1997): Aerobic glycolysis by proliferating cells: a protective strategy against reactive oxygen species. *FASEB J* 11, 388-395
- [14] Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ (2002). Prognostic factors in non-small cell lung cancer: a decade of progress. *Chest* 122, 1037-1057
- [15] Cagle PT, Mody DR, Schwartz MR (1990): Estrogen and progesterone receptors in bronchogenic carcinoma. *Cancer Res* 50, 6632-6635
- [16] Caporaso NE, Tucker MA, Hoover RN, Hayes RB, Pickle LW, Issaq HJ, Muschik GM, Green-Gallo L, Buivys D, Aisner S et al. (1990): Lung cancer and the debrisoquine metabolic phenotype. *J Natl Cancer Inst* 82, 1264-1272
- [17] Cappuzzo F, Selvaggi G, Gregorc V, Mazzone F, Betti M, Migliorino MR, Novello S, Maestri A, De Marinis F, Darwish S et al. (2003): Gemcitabine and cisplatin as induction chemotherapy for patients with unresectable Stage IIIA-bulky N2 and Stage IIIB nonsmall cell lung carcinoma: an Italian Lung Cancer Project Observational Study. *Cancer* 98, 128-134



- [18] Carter D (1985): Squamous cell carcinoma of the lung: an update. *Semin Diagn Pathol* 2, 226-234
- [19] Charloux A, Rossignol M, Purohit A, Small D, Wolkove N, Pauli G, Quoix E, Kreisman H (1997): International differences in epidemiology of lung adenocarcinoma. *Lung Cancer* 16, 133-143
- [20] Chen KY, Chang CH, Yu CJ, Kuo SH, Yang PC (2005): Distribution according to histologic type and outcome by gender and age group in Taiwanese patients with lung carcinoma. *Cancer* 12, 2566-2574
- [21] Cheng SH, Jian JJ, Tsai SY, Chan KY, Yen LK, Chu NM, Tan TD, Tsou MH, Huang AT (1998): Prognostic features and treatment outcome in locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma following concurrent chemotherapy and radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 41, 755-762
- [22] Choi NC, Carey RW, Daly W, Mathisen D, Wain J, Wright C, Lynch T, Grossbard M, Grillo H (1997): Potential impact on survival of improved tumor downstaging and resection rate by preoperative twice-daily radiation and concurrent chemotherapy in stage IIIA non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 15, 712-722
- [23] Cullen MH, Billingham LJ, Woodroffe CM, Chetiyawardana AD, Gower NH, Joshi R, Ferry DR, Rudd RM, Spiro SG, Cook JE et al. (1999): Mitomycin, ifosfamide, and cisplatin in unresectable non-small-cell lung cancer: effects on survival and quality of life. *J Clin Oncol* 17, 3188-3194
- [24] Curran WJ, Scott C, Langer R, Komaki R, Lee JS, Hauser S, Movsas B, Wasserman T, Sause W, Cox JD (2000): Phase III comparison of sequential vs. concurrent chemoradiation for PTS with unresected stage III non-small cell lung cancer (NSCLC): Initial report of radiation therapy oncology group (RTOG) 9410. *Proc Am Soc Clin Oncol* 19, Abstract 1891
- [25] DeCaro L, Benfield JR (1982): Lung cancer in young persons. *J Thorac Cardiovasc Surg* 83, 372-376
- [26] Depierre A, Milleron B, Moro-Sibilot D, Chevret S, Quoix E, Lebeau B, Braun D, Breton J, Lemarié E, Gouva S et al. (2002): Preoperative chemotherapy followed by surgery compared with primary surgery in resectable stage I (except T1N0), II, and IIIA non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 20, 247-253
- [27] Deslauriers J, Brisson J, Cartier R, Fournier M, Gagnon D, Piroux M, Beaulieu M (1989): Carcinoma of the lung. Evaluation of satelli-

- te nodules as a factor influencing prognosis after resection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 97, 504-512
- [28] Devesa SS, Shaw GL, Blot WJ (1991): Changing patterns of lung cancer incidence by histological type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1, 29-34
- [29] Devesa SS, Bray F, Vizcaino AP, Parkin DM (2005): International lung cancer trends by histologic type: male:female differences diminishing and adenocarcinoma rates rising. *Int J Cancer* 117, 294-299
- [30] Dhom G (2004): Zur Geschichte des Bronchialkarzinoms. *Pneumologie* 58, 680-685
- [31] Djordjevic MV, Hoffmann D, Hoffmann I (1997): Nicotine regulates smoking patterns. *Prev Med* 26, 435-440
- [32] Eberhardt W, Wilke H, Stamatis G, Stuschke M, Harstrick A, Menker H, Krause B, Müeller MR, Stahl M, Flasshove M et al. (1998): Preoperative Chemotherapy Followed by Concurrent Chemoradiation Therapy Based on Hyperfractionated Accelerated Radiotherapy and Definitive Surgery in Locally Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Mature Results of a Phase II Trial. *J Clin Oncol* 16, 622-634
- [33] Elias AD (1997): Small cell lung cancer: state-of-the-art therapy in 1996. *Chest* 112, 251-258
- [34] Fantin VR, St-Pierre J, Leder P (2006): Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell* 9, 425-433
- [35] Ferguson MK, Karrison T (2000): Does pneumonectomy for lung cancer adversely influence long-term survival? *J Thorac Cardiovasc Surg* 119, 440-448
- [36] Fontham ET, Pickle LW, Haenszel W, Correa P, Lin YP, Falk RT (1988): Dietary vitamins A and C and lung cancer risk in Louisiana. *Cancer* 62, 2267-2273
- [37] Funai K, Yokose T, Ishii G, Araki K, Yoshida J, Nishimura M, Nagai K, Nishiwaki Y, Ochiachi A (2003): Clinicopathologic Characteristics of Peripheral Squamous Cell Carcinoma of the Lung. *Am J Surg Pathol* 27, 978-984
- [38] Furuse K, Fukuoka M, Kawahara M, Nishikawa H, Takada Y, Kudoh S, Katagami N, Ariyoshi Y (1999): Phase III study of concurrent versus sequential thoracic radiotherapy in combination with mitomycin, vindesine, and cisplatin in unresectable stage III non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 17, 2692-2699

- [39] Gail MH, Eagan RT, Feld R, Ginsberg R, Goodell B, Hill L, Holmes EC, Lukeman JM, Mountain CF, Oldham RK, et al. (1984): Prognostic factors in patients with resected stage I non-small cell lung cancer. A report from the Lung Cancer Study Group. *Cancer* 54, 1802-1813
- [40] Gesundheitsberichterstattung des Bundes (2006): Gesundheit in Deutschland; [www.gbe-bund.de](http://www.gbe-bund.de); Berlin, 42-43
- [41] Giatromanolaki A, Harris AL (2001): Tumour hypoxia, hypoxia signaling pathways and hypoxia inducible factor expression in human cancer. *Anticancer Res* 21, 4317-4324
- [42] Giatromanolaki A, Sivridis E, Gatter KC, Turley H, Harris AL, Koukourakis MI (2006): Lactate Dehydrogenase 5 (LDH-5) expression in endometrial cancer relates to the activated VEGF/VEGFR2(KDR) pathway and prognosis. *Gynecol Oncol* 103, 912-918
- [43] Ginsberg RJ, Rubenstein LV (1995): Randomized trial of lobectomy versus limited resection of T1N0 non-small lung cancer. *Ann Thorac Surg* 60, 615-623
- [44] Goldman RD, Kaplan NO, Hall TC (1964): Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissues. *Cancer Res* 24, 389-399
- [45] Govindan R, Page N, Morgensztern D, Read W, Tierney R, Vlahiotis A, Spitznagel EL, Piccirillo J (2006): Changing epidemiology of small-cell lung cancer in the United States over the last 30 years: analysis of the surveillance, epidemiologic, and end results database. *J Clin Oncol* 24, 4539-4544
- [46] Greenberg ER, Korson R, Baker J, Barrett J, Baron JA, Yates J (1984): Incidence of lung cancer by cell type: a population-based study in New Hampshire and Vermont. *J Natl Cancer Inst* 72, 599-603
- [47] Greene FL, Page DL, Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, Morrow M: *AJCC Cancer Staging Manual*, Sixth ed.; Springer, New York 2002
- [48] Hammar SP, Brambilla C, Pugatch B, Geisinger K, Fernandez EA, Vogt P, Petrovitchev N, Matsuno Y, Aisner S, Rami-Porta R et al.: Squamous Cell Carcinoma; in: *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*, Vol. 10; hrsg. v. Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC; IARC Press, Lyon 2004, 26-30
- [49] Hammond EC, Selikoff IJ, Seidman H (1979): Asbestos exposure, cigarette smoking and death rates. *Ann N Y Acad Sci* 330, 473-490

- [50] Harkness EF, Brewster DH, Kerr KM, Fergusson RJ, MacFarlane GJ (2002): Changing trends in incidence of lung cancer by histologic type in Scotland. *Int J Cancer* 102, 179-183
- [51] Häußinger KE, Kohlhäuf M: Äthiologie und Epidemiologie des Bronchialkarzinoms; in: Tumoren der Lunge und des Mediastinums, 7. Auflage; hrsg. v. Tumorzentrum München, Huber R; Zuckschwerdt Verlag, München, Wien, New York. 2006, 1-6
- [52] Higgins GA, Shields TW, Keehn RJ (1975): The solitary pulmonary nodule: ten-year follow-up of Veterans Administration-Armed Forces cooperative study. *Arch Surg* 110, 570-575
- [53] Hoffman PC, Mauer AM, Vokes EE (2000): Lung Cancer. *Lancet* 355, 479-485
- [54] Hoffmann D, Djordjevic MV, Hoffmann I (1997): The changing cigarette. *Prev Med* 26, 427-34
- [55] Hecht SS (1999): Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 91, 1194-1210
- [56] Holbrook JJ, Liljas A, Steindel SJ, Rossman MG: Lactate dehydrogenase; in: *The Enzymes XI*, 3rd Edition; hrsg. v. Boyer PD; Academic Press, New York 1975, 191-292
- [57] Huhti E, Saloheimo M, Sutinen S, Reinilä A (1983): Does the location of lung cancer affect its prognosis? *Eur J Respir Dis* 64, 460-465
- [58] Husain AN, Kumar V: The Lung; in: *Pathologic Basis of Disease*, 7th edition; hrsg. v. Kumar V, Abbas AK, Fausto N; Elsevier Saunders, Philadelphia/Pennsylvania 2005, 759-762
- [59] Hüttemann U (2001): Neue Empfehlungen der gewerblichen Berufsgenossenschaften: Früherkennung bösartiger Lungenerkrankungen. *Niedersächs Ärztebl* 9, 16-19
- [60] Jakschik J, Blumenthal C (1999): Maligne Lungenerkrankungen - prädisponierende Faktoren, Diagnostik, Therapie und Verlauf. *Z Herz-Thorax- Gefäßchir* 13, 73-77
- [61] Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ (2006): Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 56, 106-130
- [62] Keller SM, Adak S, Wagner H, Herskovic A, Komaki R, Brooks BJ, Perry MC, Livingston RB, Johnson DH (2000): A randomised trial of postoperative adjuvant therapy in patients with completely resected stage II or IIIa non-small cell lung cancer. *N Engl J Med* 343, 1217-1222

- [63] Khuder SA (2001): Effect of cigarette smoking on major histological types of lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer* 31, 139-148
- [64] Kolev Y, Uetake H, Takagi Y, Sugihara K (2008): Lactate Dehydrogenase-5 (LDH-5) Expression in Human Gastric Cancer: Association with Hypoxia-Inducible Factor (HIF-1alpha) Pathway, Angiogenic Factors Production and Poor Prognosis. *Ann Surg Oncol*. DOI: 10.1245/s10434-008-9955-5
- [65] Kondo E, Ogura M, Kagami Y, Taji H, Miura K, Takeuchi T, Maeda S, Asakura S, Suzuki R, Nakamura S et al. (2001): Assessment of prognostic factors in follicular lymphoma patients. *Int J Hematol* 73, 363-368
- [66] Korst RJ, Ginsberg RJ (2001): Appropriate surgical treatment of resectable non-small-cell lung cancer. *World J Surg* 25, 184-188
- [67] Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E (2003a): Lactate dehydrogenase isoenzymes 1 and 5: differential expression by neoplastic and stromal cells in non-small cell lung cancer and other epithelial malignant tumors. *Tumor Biol* 24, 199-202
- [68] Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, Bougioukas G, Dildis V, Gatter KC, Harris AL, Tumour and Angiogenesis Research Group (2003b): Lactate dehydrogenase-5 (LDH-5) overexpression in non-small-cell lung cancer tissues is linked to tumour hypoxia, angiogenic factor production and poor prognosis. *Br J Cancer* 89, 877-885
- [69] Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Simopoulos C, Polychronidis A, Sivridis E (2005): Lactate dehydrogenase 5 (LDH5) relates to up-regulated hypoxia inducible factor pathway and metastasis in colorectal cancer. *Clin Exp Metastasis* 22, 25-30
- [70] Kwiatkowski DJ, Harpole DH Jr, Godleski J, Herndon JE, Shieh DB, Richards W, Blanco R, Xu HJ, Strauss GM, Sugarbaker DJ (1998): Molecular pathologic substaging in 244 stage I non-small-cell lung cancer patients: clinical implications. *J Clin Oncol* 16, 2468-2477
- [71] Landreneau RJ, Sugarbaker DJ, Mack MJ, Hazelrigg SR, Luketich JD, Fetterman L, Liptay MJ, Bartley S, Boley TM, Keenan RJ et al. (1997): Wedge resection versus lobectomy for stage I (T1 N0 M0) non-small-cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 113, 691-698
- [72] Lubin JH, Blot WJ (1984): Assessment of lung cancer risk factors by histologic category. *J Natl Cancer Inst* 73, 383-389

- [73] Lukacova S, Sørensen BS, Alsner J, Overgaard J, Horsman MR (2008): The impact of hypoxia on the activity of lactate dehydrogenase in two different pre-clinical tumour models. *Acta Oncol* 47, 941-7
- [74] Lutterbach J, Weigel P, Guttenberger R, Hinkelbein W (1999): Accelerated hyperfractionated radiotherapy in 149 patients with glioblastoma multiforme. *Radiother Oncol* 53, 49-52
- [75] Machtay M, Lee JH, Shrager JB, Kaiser LR, Glatstein E (2001): Risk of death from intercurrent disease is not excessively increased by modern postoperative radiotherapy for high-risk resected non-small cell lung carcinoma. *J Clin Oncol* 19, 3912-3917
- [76] Malara NM, Sgambato A, Granone P, Flamini G, Margaritora S, Boninsegna A, Cesario A, Galetta D, Yang Q, Cittadini A (1999): Biological characterization of central and peripheral primary non small cell lung cancers (NSCLC). *Anticancer Res* 19, 2249-2252
- [77] Martini N, Burt ME, Bains MS, McCormack PM, Rusch VW, Ginsberg RJ (1992): Survival after resection of stage II non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 64, 460-466
- [78] Medical Research Council Lung Cancer Working Party (1992): A Medical Research Council (MRC) randomised trial of palliative radiotherapy with two fractions or a single fraction in patients with inoperable non-small-cell lung cancer (NSCLC) and poor performance status. *Br J Cancer* 65, 934-941
- [79] Mitchell JD, Mathisen DJ, Wright CD, Wain JC, Donahue DM, Moncure AC, Grillo HC (1999): Clinical experience with carinal resection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 117, 39-52
- [80] Mizuno S, Akiba S, Hirayama T (1989): Lung cancer risk comparison among male smokers between the „six-prefecture cohort“ in Japan and the British physicians' cohort. *Jpn J Cancer Res* 80, 1165-1170
- [81] Morabia A, Wynder EL (1991): Cigarette smoking and lung cancer cell types. *Cancer* 68, 2074-2078
- [82] Mountain CF (1986): A new international staging system for lung cancer. *Chest* 89, 225-233
- [83] Mountain CF (1997): Revisions in the international system for staging lung cancer. *Chest* 111, 1710-1717
- [84] Mountain CF, Dresler CM (1997): Regional lymph node classification for lung cancer staging. *Chest* 111, 1718-1723

- [85] Nagamoto N, Saito Y, Sato M, Sagawa M, Kanma K, Takahashi S, Usuda K, Endo C, Fujimura S, Nakada T (1993): Clinicopathological analysis of 19 cases of isolated carcinoma in situ of the bronchus. *Am J Surg Pathol* 7, 1234-1243
- [86] Nakagawa T, Okumura N, Kokado Y, Miyoshi K, Matsuoka T, Kamayama K (2007): Retrospective study of patients with pathologic N1-stage II non-small cell lung cancer. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 6, 474-478
- [87] Naruke T, Tsuchiya R, Kondo H, Asamura H (2001): Prognosis and survival after resection for bronchogenic carcinoma based on the 1997 TNM-staging classification: the Japanese experience. *Ann Thorac Surg* 71, 1759-1764
- [88] Noordijk EM, vd Poest Clement E, Hermans J, Wever AM, Leer JW (1988): Radiotherapy as an alternative to surgery in elderly patients with resectable lung cancer. *Radiother Oncol* 13, 83-89
- [89] Numico G, Colantonio I, Gasco M, Bertelli G, Garrone O, Occelli M, Fea E, Di Costanzo G, Granetto C, Heouaine A et al. (2005): Carboplatin and weekly paclitaxel in non-small cell lung cancer patients unfit for or pretreated with chemotherapy. *Anticancer Res* 25, 2555-2559
- [90] O'Connell JP, Kris MG, Gralla RJ, Groshen S, Trust A, Fiore JJ, Kelsen DP, Heelan RT, Golbey RB (1986): Frequency and prognostic importance of pretreatment clinical characteristics in patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with combination chemotherapy. *J Clin Oncol* 4, 1604-1614
- [91] Oda M, Watanabe S, Tsukayama S, Tomita Y, Ohta Y, Murakami S, Watanabe Y (1998): Results of resection of T3N0-2M0 non-small cell lung cancer according to involved organ and nodal status. *Kyobu Geka* 51, 902-906
- [92] Okada M, Sakamoto T, Nishio W, Uchino K, Tsubota N (2003): Characteristics and prognosis of patients after resection of non-small cell lung carcinoma measuring 2 cm or less in greatest dimension. *Cancer* 98, 535-541
- [93] Okada M, Nishio W, Sakamoto T, Uchino K, Yuki T, Nakagawa A, Tsubota N (2005): Effect of tumor size on prognosis in patients with non-small cell lung cancer: the role of segmentectomy as a type of lesser resection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 129, 87-93
- [94] Parkin DM, Pisani P, Ferlay J (1999): Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 49: 33-64

- [95] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P (2005): Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 55, 74-108
- [96] Perng D, Perng R, Kuo BI, Chiang S (1996): The Variation of Cell Type Distribution in Lung Cancer: A Study of 10,910 Cases at a Medical Center in Taiwan between 1970 and 1993. *Jpn J Clin Oncol* 26, 229-233
- [97] Pfeifer GP, Denissenko MF, Oliver M, Tretyakova N, Hecht SS, Hainaut P (2002): Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers. *Oncogene* 21, 7435-7451
- [98] Ponn RB, LoCicero III J, Daly BDT: Surgical treatment of non-small cell lung cancer; in: *General thoracic surgery*, 6th edition; hrsg. v. Shields TW, LoCicero III J, Ponn RB, Rusch VW; Williams and Wilkins, Philadelphia 2005, 1548-1587
- [99] Pope CA, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, Thurston GD (2002): Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA* 287, 1132-1141
- [100] Popp W (1996): New data on syncarcinogenesis in tumors of exogenous origin. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 198, 407-428
- [101] Popp W, Brüning Th, Straif K (2003): Krebserkrankungen durch den Beruf. *Dtsch Ärztebl* 100, A35-40
- [102] PORT Meta-analysis Trialists Group (1998): Postoperative radiotherapy in non-small-cell lung cancer: systematic review and meta-analysis of individual patient data from nine randomised controlled trials. *Lancet* 352, 257-263
- [103] Pujol JL, Grenier J, Parrat E, Lehmann M, Lafontaine T, Quantin X, Michel FB (1996): Cytokeratins as Serum Markers in Lung Cancer: A Comparison of CYFRA 21-1 and TPS. *Am J Respir Crit Care Med* 154, 725-733
- [104] Ramalingam S, Pawlish K, Gadgeel S, Demers R, Kalemkerian GP (1998): Lung cancer in young patients: analysis of a Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *J Clin Oncol* 16, 651-657
- [105] Report to the Medical Research Council by its Lung Cancer Working Party (1991): Inoperable non-small-cell lung cancer (NSCLC): a Medical Research Council randomised trial of palliative radiotherapy with two fractions or ten fractions. *Br J Cancer* 63, 265-270
- [106] RKI, GEKID: Krebs in Deutschland. 5. überarbeitete, aktualisierte Ausgabe. Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. und das RKI. Saarbrücken 2006, 44-47



- [107] Roth JA, Fossella F, Komaki R, Ryan MB, Putnam JB, Lee JS, Dhingra H, De Caro L, Chasen M, McGavran M (1994): A randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable stage IIIA non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 86, 673-680
- [108] Roy MS, Donington JS (2007): Management of locally advanced non small cell lung cancer from a surgical perspective. *Curr Treat Options Oncol* 8, 1-14
- [109] Sandler A, Gray R, Perry MC, Brahmer J, Schiller JH, Dowlati A, Lilenbaum R, Johnson DH (2006): Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 355, 2542-2550
- [110] Scagliotti GV, Fossati R, Torri V, Crino L, Giaccone G, Silvano G, Martelli M, Clerici M, Cognetti F, Tonato M et al. (2003): Randomized study of adjuvant chemotherapy for completely resected stage I, II, or IIIA non-small-cell Lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 95, 1453-1461
- [111] Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, Zhu J, Jonson DH (2002): Comparison of four chemotherapy regimes for advanced non-small lung cancer. *N Engl J Med* 346, 92-98
- [112] Schottenfeld D: Etiology and epidemiology of lung cancer; in: *Lung cancer: Principles and Practise*, 2nd edition; hrsg .v. Pass HI, Mitchel JB, Johnson DH, Turrisi AT, Minna JD; Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2000, 367-388
- [113] Schuchert MJ, Pettiford BL, Keeley S, D'Amato TA, Kilic A, Close J, Pennathur A, Santos R, Fernando HC, Landreneau JR et al. (2007): Anatomic segmentectomy in the treatment of stage I non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 84, 926-932
- [114] Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, Campos D, Maoleekoonpiroj S, Smylie M, Martins R et al. (2005): in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 353, 123-132
- [115] Shimosato Y: Pulmonary neoplasms; in: *Diagnostic Surgical Pathology*, Vol 1, 3rd edition; hrsg. v. Sternberg SS, Antonioli DA, Carter D, Mills SE, Oberman HA; Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1999, 1069-1115
- [116] Shimosato Y, Miller RR: Malignant epithelial tumors; in: *Biopsy interpretation of the lung. Biopsy interpretation series*, 1st edition; hrsg. v. Silverberg SG; Raven Press, New York 1993, 269-326

- [117] Simon C, Moreno N, Penalver R, Gonzalez G, Alvarez-Fernandez E, Gonzalez-Aragoneses F and Bronchogenic Carcinoma Cooperative Group of the Spanish Society of Pneumology and Thoracic Surgery (2007): The side of pneumonectomy influences long-term survival in stage I and II non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 84, 952-958
- [118] Simonato L, Agudo A, Ahrens W, Benhamou E, Benhamou S, Boffetta P, Brennan P, Darby SC, Forastiere F, Fortes C et al. (2001): Lung cancer and cigarette smoking in Europe: an update of risk estimates and an assessment of intercountry heterogeneity. *Int J Cancer* 91, 876-887
- [119] Sobue T, Yamamoto S, Hara M, Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S (2002): Cigarette smoking and subsequent risk of lung cancer by histologic type in middle-aged Japanese men and women: the JPHC study. *Int J Cancer* 99, 245-251
- [120] Spaggiari L, Regnard JF, Magdeleinat P, Jauffret B, Puyo P, Levasseur P (2000): Extended resections for bronchogenic carcinoma invading the superior vena cava system. *Ann Thorac Surg* 69, 233-236
- [121] Stiftung Warentest (2004): Radon-Gefahr: "Vorsorge tut Not". *Stiftung Warentest* 2004/7, 70-71
- [122] Strauss GM, Herndon J, Maddaus MA, Johnstone DW, Johnson EA, Watson DM, Sugarbaker DJ, Schilsky RL, Green MR (2004): Randomised clinical trial of adjuvant chemotherapy with paclitaxel and carboplatin following resection in stage IB non-small lung cancer: report of Cancer and Leukemia Group B protocol 9633. *J Clin Oncol* 22, 621
- [123] Sura S, Yorke E, Jackson A, Rosenzweig KE (2007): High-Dose Radiotherapy for the Treatment of Inoperable Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer J* 13, 238-242
- [124] Takeshima Y, Nishisaka T, Kawano R, Kishizuchi K, Fujii S, Kitaguchi S, Inai K (1996): p16/CDKN2 gene and p53 gene alterations in Japanese non-smoking female lung adenocarcinoma. *Jpn J Cancer Res* 87, 134-140
- [125] Thomas PA, Piantadosi S (1987): Postoperative T1 N0 non-small cell lung cancer. Squamous versus nonsquamous recurrences. Lung Cancer Study Group. *J Thorac Cardiovasc Surg* 94, 349-354
- [126] Thun MJ, Lally CA, Flannery JT, Calle EE, Flanders WD, Heath CW Jr. (1997): Cigarette smoking and changes in the histopathology of lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 89, 1580-1586

- [127] Tomaszefski JF Jr, Connors AF Jr, Rosenthal ES, Hsiue IL (1990): Peripheral vs central squamous cell carcinoma of the lung. A comparison of clinical features, histopathology, and survival. *Arch Pathol Lab Med* 114, 468-474
- [128] Travis WD, Travis LB, Devesa SS (1995): Lung cancer. *Cancer* 75, 191-202
- [129] Travis WD, Lubin J, Ries L, Devesa S (1996): United States lung carcinoma incidence trends: declining for most histologic types among males, increasing among females. *Cancer* 77, 2464-2470
- [130] Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, Harris CC (eds.): Tumours of the lung; in: World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart, First ed.; IARC Press, Lyon 2004, 26-124
- [131] Treasure T, Belcher JR (1981): Prognosis of peripheral lung tumors related to size of the primary. *Thorax* 36, 5-8
- [132] Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC, Zhu CQ, Kamel-Reid S, Squire J, Lorimer I, Zhang T, Liu N, Daneshmand M et al. (2005): Erlotinib in lung cancer – molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med* 353, 133-144
- [133] Tyczynski JE, Bray F, Parkin DM (2002): Lung cancer in Europe. European Network of Cancer Registries, IARC 1, 1-4
- [134] UICC: TNM Classification of Malignant Tumours, Sixth ed.; Wiley and Sons, New York 2002
- [135] Ukena D, Schlimmer P, Sybrecht GW: Pneumologie: Tumoren der Lunge, der Pleura und des Mediastinums; in: THIEMEs Innere Medizin, 1. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1999, 1555-1571
- [136] Vaupel P, Thews O, Hoeckel M (2001): Treatment resistance of solid tumors: role of hypoxia and anemia. *Med Oncol* 18, 243-259
- [137] Warburg O (1956): On the origin of cancer cells. *Science* 123, 309-314
- [138] Watine (2000): Prognostic evaluation of primary non-small cell lung carcinoma patients using biological fluid variables. A systematic review. *Scand J Clin Lab Invest* 60, 259-274
- [139] Wichmann E: Abschätzung positiver gesundheitlicher Auswirkungen durch den Einsatz von Partikelfiltern bei Dieselfahrzeugen in Deutschland; Gutachten im Auftrag des Umweltbundesamtes Berlin, 2003, 32-37

- [140] Wieskopf B, Demangeat C, Purohit A, Stenger R, Gries P, Kreisman H, Quoix E (1995): Cyfra 21-1 as a Biologic Marker of Non-small Cell Lung Cancer: Evaluation of Sensitivity, Specificity, and Prognostic Role. *Chest* 108, 163-169
- [141] Wolf M (1998): Kleinzellige Bronchialkarzinome: Klinische Präsentation, Diagnostik und prognostische Faktoren. *Onkologe* 4, 1005-1018

# Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Dipl.-Phys. F. Schöndube für die Bereitstellung des Themas, die hervorragende Betreuung und Unterstützung.

Gleichermaßen bedanke ich mich bei Herrn Dr. med. B. Danner für die kritischen Anmerkungen und die zahlreichen Anregungen. Ohne seine ständige Diskussionsbereitschaft wäre die Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen.

Den Mitarbeiterinnen des Archivs, der MTA Frau R. Waldmann-Beushausen im Labor, sowie dem EDV-Beauftragten Herrn R. Holland danke ich für die geduldige Hilfestellung und Mitwirkung beim reibungslosen Ablauf der experimentellen Untersuchungen.

Zudem möchte ich mich bei Dr. K. Jung für die Beantwortung der vielen Fragen im Hinblick auf die medizinische Statistik bedanken.

Meinen Eltern Angelika und Benno Wiemeyer danke ich für das sorgfältige Korrekturlesen sowie für die unerschöpfliche Nachsicht.

Danke.

# Curriculum vitae

Ich wurde am 01.04.1983 in Osnabrück geboren. 1989 wurde ich an der Grundschule in Halen eingeschult und wechselte 1993 auf das Kardinal-von-Galen Gymnasium in Mettingen, wo ich 2002 die Allgemeine Hochschulreife erlangte. Im Anschluss daran leistete ich den Zivildienst im Klinikum Osnabrück ab, so dass ich im Frühjahr 2003 das Studium der Medizin an der Georg-August-Universität zu Göttingen beginnen konnte. Im März 2005 legte ich die ärztliche Vorprüfung (Physikum) ab und beendete das Medizinstudium mit dem zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung am 10.06.2009. Seit dem 15.08.2009 arbeite ich in der Abteilung Chirurgie im Christlichen Klinikum Melle.

Stefan Wiemeyer