

Aus der Klinik für Allgemeine Chirurgie, Viszeral-, Thorax- Transplantations- und  
Kinderchirurgie  
(Direktor Prof. Dr. Thomas Becker)  
Im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
An der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Der negative Einfluss disseminierter Tumorzellen auf das  
Überleben von Patienten nach Resektion kolorektaler  
Lebermetastasen**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Vorgelegt von  
Jessica Bockhorst  
aus Hannover  
Kiel 2013**

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Becker
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Schem

Tag der mündlichen Prüfung: 22.05.2014

Zum Druck genehmigt, Kiel den 25.03.2014

gez. Prof. Dr. Humpe

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. EINLEITUNG .....</b>	<b>7</b>
1.1 DAS KOLOREKTALE KARZINOM .....	7
1.2 LEBERMETASTASEN .....	9
1.3 ENTWICKLUNGEN IN DER THERAPIE VON LEBERMETASTASEN .....	9
1.3.1 Chirurgische Behandlung von Lebermetastasen.....	9
1.3.2 Medikamentöse Therapie von Lebermetastasen .....	12
1.4 PROGNOTISCHE FAKTOREN UND RISIKO-SCORES .....	15
1.5 POSTOPERATIVE REZIDIVE .....	16
1.6 DISSEMINIERTE TUMORZELLEN.....	17
1.6.1 Nachweis disseminierter Tumorzellen .....	18
1.6.2 Momentaner Kenntnisstand: Disseminierte Tumorzellen beim kolorektalen Karzinom.....	20
1.6.3 Disseminierte Tumorzellen bei kolorektalem Karzinom und Lebermetastasen...	20
1.7 FRAGESTELLUNG.....	21
<b>2. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>22</b>
2.1 STUDIENDESIGN .....	22
2.2 EINSCHLUSSKRITERIEN.....	22
2.3 KNOCHENMARK- UND BLUTPROBEN .....	23
2.4 CK-20 RT-PCR (REVERSE TRANSKRIPTASE PCR).....	23
2.5 KLINISCHE DATENERFASSUNG .....	23
2.5.1 Charakteristika des Primärtumors.....	24
2.5.2 Operation .....	24
2.5.3 Laborwerte .....	25
2.5.4 Nachsorge.....	25
2.6 MORBIDITÄT- UND MORTALITÄTSSTATISTIK .....	25
2.7 STATISTIK .....	26
<b>3. ERGEBNISSE .....</b>	<b>26</b>
3.1 ERGEBNISSE DER DESKRIPTIVEN STATISTIK .....	26
3.1.1 Patienten.....	27
3.1.2 Operation .....	28

3.1.3	<i>Postoperativer Verlauf</i> .....	29
3.1.4	<i>Chemotherapie</i> .....	30
3.1.5	<i>Eigenschaften des Primärtumor</i> .....	30
3.1.6	<i>Charakteristika der Lebermetastasen</i> .....	32
3.1.7	<i>Überlebensdaten und Nachsorgedaten</i> .....	32
3.2	ERGEBNISSE DER UNIVARIANZANALYSE .....	32
3.2.1	<i>Einfluss disseminierter Tumorzellen</i> .....	32
3.2.2	<i>Weitere Einflussfaktoren auf das Gesamtüberleben</i> .....	35
3.2.3	<i>Chemotherapie und Nachweis von disseminierten Tumorzellen</i> .....	38
3.3	ANWENDUNG DES FONG-RISIKOSCORES AM PATIENTENKOLLEKTIV .....	38
3.4	ERGEBNISSE DER MULTIVARIATEN ANALYSE .....	39
<b>4.</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>39</b>
<b>5.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>45</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>47</b>
<b>7.</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>58</b>
<b>8.</b>	<b>LEBENS LAUF</b> .....	<b>59</b>

## Abkürzungsverzeichnis

5-FU	5-Fluorouracil
5-JÜR	5-Jahres-Überlebensrate
BMI	Körpermasseindex
CEA	Karzinoembryonales Antigen
CK20	Zytokeratin 20
Cm	Zentimeter
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
DIC	Disseminierte intravasale Koagulopathie
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor
EK	Erythrozytenkonzentrat
KM	Knochenmark
KRK	Kolorektales Karzinom
KRLM	Kolorektale Lebermetastase
Mm	Millimeter
m-RNA	Boten- Ribonukleinsäure
PBMC	mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PBS	Phosphat gepufferter Saline
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PM	Pringle-Manöver
RFA	Radiofrequenzablation
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Reverse Transkriptase
SA	Standardabweichung
UICC	Internationale Vereinigung gegen Krebs

## Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: KAPLAN-MEIER-ÜBERLEBENS-KURVE: DTZ IM KNOCHENMARK.....	33
ABBILDUNG 2: KAPLAN-MEIER-ÜBERLEBENSKURVE: DTZ IM PERIPHEREN BLUT .....	34
ABBILDUNG 3: KAPLAN-MEIER-ÜBERLEBENSKURVE: DTZ IN KM UND PERIPHEREM BLUT.....	35

## Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: UICC-STADIEN FÜR DAS KOLOREKTALE KARZINOM .....	8
TABELLE 2: DEFINITION DER RESEKTIONSART .....	24
TABELLE 3: DEMOGRAPHISCHE DATEN DER PATIENTEN .....	27
TABELLE 4: VERTEILUNG DER OPERATIONSARTEN .....	28
TABELLE 5: POSTOPERATIVE KOMPLIKATIONEN .....	29
TABELLE 6: VERTEILUNG DER CHEMOTHERAPIE.....	30
TABELLE 7: PRIMÄRTUMOR UND METASTASENEIGENSCHAFTEN.....	31
TABELLE 8: UNIVARIANZANALYSE EINIGER EINFLUSSFAKTOREN AUF DAS GESAMTÜBERLEBEN .....	36
TABELLE 9: MULTIVARIATE COX REGRESSIONSANALYSE UNABHÄNGIGER PROGNOSTISCHER FAKTOREN (N=75).....	39

## **1. Einleitung**

Das kolorektale Karzinom (KRK) zählt in Deutschland zu den häufigsten malignen Tumoren und ist in Westeuropa für 10% aller tumorbedingten Todesfälle verantwortlich. In Deutschland steht das KRK auf Platz zwei der karzinombedingten Todesursachen bei Männern und Frauen, gleich hinter dem Bronchial- bzw. Mammakarzinom (Krebsregister Deutschland) (Pritzkeleit *et al.*, 2011).

Ein häufiger Ort der Metastasierung ist die Leber. Vor und nach Resektion der Lebermetastasen können sogenannte disseminierte Tumorzellen in verschiedenen Kompartimenten des Körpers nachgewiesen werden.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Bedeutung dieser Zellen und ihrem Einfluss auf das Patientenüberleben. Dazu soll anfangs ein Überblick über Entstehung und Therapie der Metastasen gegeben und im Folgenden die Bedeutung disseminierter Tumorzellen erläutert werden.

### **1.1 Das Kolorektale Karzinom**

Nach Schätzungen des Robert Koch Instituts wurde in Deutschland im Jahr 2008 bei etwa 75.000 Patienten erstmals die Diagnose Darmkrebs gestellt (Pritzkeleit *et al.*, 2011). Die neuesten Erhebungen des deutschen Krebsregisters zur Inzidenz des KRK lassen erkennen, dass Deutschland im internationalen Vergleich weiterhin auf den vorderen Plätzen, vor etwa den USA und der Schweiz liegt.

Mittels eines international anerkannten Klassifikationssystems lässt sich das Kolonkarzinom in verschiedene Stadien einteilen. Anhand dieses Systems, welches von der „Union International Contre Le Cancer“ (UICC) eingeführt wurde, lässt sich eine prognostische Aussage zu Krankheitsverlauf und Überlebensdauer treffen.

**Tabelle 1: UICC-Stadien für das kolorektale Karzinom**

UICC-Stadium	Definition
<b>I</b>	Tumorinfiltration max. bis tunica muskularis propria (T1/T2); N0
<b>II</b>	Infiltration von perikolischem/ -rektalem Fettgewebe (T3/T4); N0
<b>III</b>	Lymphknotenmetastasen (T1,2,3,4 + N1, N2)
<b>IV</b>	Fernmetastasen (M1); jedes T, jedes N

(Quelle: TNM Klassifikation Version 7, UICC)

Bei etwa 15-35% aller Patienten wird die Diagnose im Stadium IV gestellt (Adam *et al.*, 2009). Zu diesem Zeitpunkt ist eine Metastasierung bereits eingetreten. Der häufigste Manifestationsort für die Fernmetastasen ist die Leber, bedingt durch die venöse Drainage der gastrointestinalen Organe in die Portalvene. Wird initial keine Fernmetastasierung festgestellt (Patienten im Stadium I-III) können dennoch bei 20-50% der Patienten nach kompletter Resektion des Primärtumors Lebermetastasen im Verlauf auftreten (Adam *et al.*, 2009; Field & Lipton, 2007).

Das rezidivfreie 5-Jahres-Überleben nach Resektion des Primärtumors bei Patienten mit KRK und ohne Lebermetastasen beträgt in einer mit Oxaliplatin, Folinsäure und Fluoruracil (sogenanntes FOLFOX-Schema) behandelten Gruppe 73,3% gegenüber 67,4% in der Vergleichsgruppe, die zwar mit Folinsäure und Fluoruracil aber ohne Oxaliplatin behandelt wurde. Im Gesamtüberleben profitieren hauptsächlich Patienten im Stadium III von der Anwendung des FOLFOX-Schemas (Andre *et al.*, 2009). Um das Risiko des Auftretens einer Metastasierung zu senken wird daher nach aktuellen Leitlinien bei Patienten ab Stadium II mit zusätzlichen Risikofaktoren wie Lymph- oder Hämangiainfiltration (L1, V1) schlechter Differenzierung (G3) oder T4 Tumor eine adjuvante Chemotherapie nach dem FOLFOX Schema empfohlen (Schmiegel *et al.*, 2008). Damit ist die stadienabhängige adjuvante Chemotherapie nach dem FOLFOX-Schema mittlerweile anerkannter Bestandteil in der Therapie kolorektaler Karzinome.

Ebenso wie das lokale Tumorrezidiv haben Fernmetastasen einen entscheidenden Einfluss auf das Überleben der Patienten. Ihr Auftreten, vor allem in der Leber, verkürzt die Lebenserwartung des Patienten maßgeblich. Im Folgenden soll eine Übersicht zur Epidemiologie der Lebermetastasen bei KRK gegeben werden, sowie zu heutigen Therapiestandards.



## 1.2 Lebermetastasen

Metastasen kolorektaler Karzinome bilden die größte Gruppe der sekundären Malignome der Leber. Bei 15-35% aller Patienten mit einem KRK sind zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits Metastasen vorhanden (synchrone Metastasen), bei etwa 50% der Patienten entstehen im Verlauf Fernmetastasen in der Leber (metachrone Metastasen). Häufig ist die Leber der einzige Metastasierungsort. Unbehandelt beträgt das mediane Überleben nach dem Auftreten von Lebermetastasen 5 bis 10 Monate. Eine 5-Jahres-Überlebens-Rate (5-JÜR) ohne Therapie ist unwahrscheinlich und kaum ermittelbar (Bengtsson *et al.*, 1981).

In wenigen retrospektiven Studien, die das Überleben von Patienten vor der Etablierung der Metastasenresektion untersucht haben, konnte belegt werden, dass Größe und Anzahl der Lebermetastasen einen Einfluss auf das Überleben der Patienten haben, sofern diese keine Therapie erhalten. Wood und Mitarbeiter ermittelten im Jahre 1976, dass bei ausgedehnter Metastasierung der Leber das 1-Jahresüberleben bei nur 5,7% liegt (Wood *et al.*, 1976). Hierbei wurde die extrahepatische Metastasierung als Risikofaktor ausgeschlossen. Ist die Metastasierung auf ein Segment oder einen Leberlappen beschränkt, beträgt die 1-JÜR ohne Operation 27%. Bei einer solitären Metastase beträgt die 1-JÜR 60%.

Diese Zahlen sind übereinstimmend mit den Ergebnissen der Studie von Wagner *et al.*, der das 3-Jahresüberleben für unbehandelte, theoretisch resezierbare Lebermetastasen mit 14% angibt. Für unbehandelte, nicht resezierbare KRLM beträgt das 3-JÜ nur 4% (Wagner *et al.*, 1984).

Insgesamt ist das Überleben der Patienten durch das Auftreten von Lebermetastasen stärker determiniert als durch den Primärtumor (Wood *et al.*, 1976).

## 1.3 Entwicklungen in der Therapie von Lebermetastasen

### 1.3.1 Chirurgische Behandlung von Lebermetastasen

Mit der Entwicklung der Leberchirurgie in den 60er Jahren konnte die Prognose für Patienten mit hepatisch metastasiertem KRK deutlich verbessert werden. Dank besserer anatomischer Kenntnisse über Blutversorgung und Segmentaufteilung, beschrieben durch Couinaud (Couinaud, 1952), wurde die Entwicklung der Leberchirurgie vorangetrieben. Die Kenntnisse der Leberischämie, die Verbesserung der operativen Techniken, sowie ein optimiertes Regime bei Narkose- und Intensivtherapie ebneten den Weg zur heute existierenden modernen Leberchirurgie.

Adson und Mitarbeiter konnten in den 70er Jahren erstmals zeigen, dass nach Resektion der Lebermetastasen Patienten sogar als geheilt betrachtet werden konnten (Adson *et al.*, 1984).

Problematisch war anfangs noch die hohe perioperative Mortalität, welche einen Eingriff an der Leber als durchaus risikoreich erscheinen ließ und die Entscheidung zur Operation schwer machte. Im Laufe der Jahre konnte die Mortalität jedoch rapide gesenkt werden. Heute werden größere Leberresektionen (Entfernung von bis zu 80% des ursprünglichen Lebergewebes) mit einer perioperativen Mortalität von unter 5% durchgeführt (Fong *et al.*, 1999). Mehrere Fall-Kontrollstudien der letzten Jahre haben verdeutlicht, dass die Resektion der Metastasen in den meisten Fällen ein längeres Überleben bedeutet (Wilson & Adson, 1976), als es der Spontanverlauf erwarten lassen würde.

In einer Studie von Scheele *et al.* (Scheele *et al.*, 1990) wurden 434 Leber-Resektionen zwischen den Jahren 1960 und 1992 durchgeführt und das Überleben der Patienten dokumentiert. Im Vergleich zu Studien mit nicht-resezierten Patienten (siehe Kapitel 1.2) zeigte sich hierbei eine deutliche Verbesserung des Gesamtüberlebens: Nach 10 Jahren lebten noch 23% der Patienten, nach 20 Jahren noch 18%.

Die chirurgische Therapie von KRLM stellt heute die Therapie der Wahl dar. Das 5-Jahresüberleben aller operierten Patienten liegt heute bei 40-50% (Abdalla *et al.*, 2006; Choti *et al.*, 2002; Elias *et al.*, 2004; Fernandez *et al.*, 2004). Dabei ist zu beachten, dass eine Resektion im kurativen Sinne nur bei weniger als 25% aller Patienten möglich ist (Capussotti & Muratore, 2006). Ein initial nicht resektabler Befund liegt bei fast 80% aller Patienten mit KRLM vor.

Lebermetastasen gelten häufig als irresektabel wenn weniger als 30% funktionsfähiges Restlebergewebe besteht, wenn eine Infiltration aller drei Lebervenen vorliegt, bzw. wenn mehr als sieben Lebersegmente betroffen sind oder wenn extrahepatische, nicht resektable Metastasen existieren (Van Cutsem *et al.*, 2006). Außerdem gelten eine Leberzirrhose im Stadium Child B oder C, sowie schwerwiegende Begleiterkrankungen als Kontraindikationen für eine Resektion. Mittels CT-Volumetrie kann das verbleibende Lebervolumen präoperativ um eine Differenz von ca. 10% genau vorhergesagt werden. Laut einem Konsensus, der von der europäischen Behandlungsgruppe kolorektaler Metastasen (European Colorectal Metastases Treatment Group, kurz ECMTG) getroffen wurde, stellen Anzahl, Größe, bilobärer Befall, synchrone Metastasierung, Befall von ligamentären Lymphknoten, resektable extrahepatische Metastasierung keine absoluten Kontraindikationen zur Resektion dar.

So wird heute zwischen resektablen, potentiell resektablen und irresektablen Metastasen unterschieden. Die Einstufung zur potentiell resektablen Metastase erfolgt individuell (Nordlinger *et al.*, 2009). Bei diesen Patienten kann eine neoadjuvante Chemotherapie zur Verkleinerung der Metastase und damit zur Verbesserung der operativen Voraussetzungen führen. Zu den potentiell resektablen Lebermetastasen zählt man auch Lebermetastasen mit gleichzeitigem extrahepatischem Befall, problematischen chirurgischen Voraussetzungen oder zu geringem verbleibendem Restleberparenchym.

Im Zeitalter neuer Chemo- und Antikörpertherapien ist es möglich einen Teil dieser Patienten in einen resektablen Zustand (sogenannte sekundäre Resektabilität) zu bringen und anschließend zu operieren.

Sollte auch die sekundäre Resektabilität nicht erreicht werden, stehen neben der palliativen Chemotherapie auch andere lokoregionäre Therapien, wie die Kryotherapie, die Chemoembolisation, die lokale Strahlentherapie oder thermische Ablationsverfahren zur Verfügung. Diese Verfahren werden häufig angewendet, wenn eine Resektion technisch nicht möglich ist. Dann handelt es sich allerdings um eine palliative Therapie, deren Einsatz individuell abgewogen werden muss.

Sollte das zu erwartende Restlebervolumen zu gering sein, gibt es unterschiedliche Strategien um dennoch eine sekundäre Resektabilität zu erreichen. Dabei wird die Eigenschaft der Leber zur Hypertrophie ausgenutzt. Durch die im Jahre 1990 von Makuuchi erstmals eingeführte Okklusion der Portalvenenäste der zu resezierenden Seite kann eine deutliche Hypertrophie der gesunden Lebersegmente in einem Zeitraum von zwei bis vier Wochen erreicht werden (Makuuchi *et al.*, 1990). Das mittlerweile am häufigsten verwendete Verfahren zur Induktion einer Hypertrophie ist die sogenannte Pfortaderembolisation, welche eine sichere und effektive Prozedur darstellt. Mit einem perkutan vorgeschobenen Katheter werden Gelatinepartikel oder Metallspiralen, sogenannte Coils, in einen Ast der Pfortader injiziert, welcher die befallenen Leberregionen versorgt. Durch eine Umverteilung des portalen Blutflusses kommt es dann zu einer kompensatorischen Hypertrophie des restlichen Leberparenchyms (Yokoyama *et al.*, 2007).

Auch in Kombination mit einer neoadjuvanten Chemotherapie lässt sich bei diesem Verfahren kein Anstieg der operativen Mortalität beobachten (Abulkhir *et al.*, 2008; Covey *et al.*, 2008; Mueller *et al.*, 2008). Weiterhin wird die Induktion der Hypertrophie durch die neoadjuvante Chemotherapie nicht eingeschränkt (Lim & Farges, 2012). Das Langzeitüberleben der

Patienten ist in einigen Studien vergleichbar mit dem von Patienten nach Standard-Leberresektionen (Abdalla *et al.*, 2002; Azoulay *et al.*, 2000).

### **1.3.2 Medikamentöse Therapie von Lebermetastasen**

Die systemische Therapie umfasst die adjuvante, die neo-adjuvante und die palliative Chemotherapie. Zum aktuellen Zeitpunkt ist es noch unklar, welche Patienten von einer begleitenden Chemotherapie profitieren.

#### *1.3.2.1 Adjuvante Chemotherapie*

Die adjuvante Chemotherapie wird angewendet um nach erfolgter kompletter chirurgischer Resektion der KRLM noch eventuell vorhandene Tumorzellen zu eliminieren. In älteren Studien wurde der Einfluss der adjuvanten Monotherapie mit 5-FU untersucht. Parks *et al.* (Parks *et al.*, 2007) konnten in einer Kohortenanalyse mit 792 Patienten nachweisen, dass Patienten, die eine adjuvante Behandlung mit 5-FU erhielten, einen Überlebensvorteil haben. Das mediane Überleben betrug 47 gegenüber 36 Monaten bei Patienten ohne Chemotherapie. Andere Studien zur adjuvanten Therapie mit 5-FU zeigten allerdings, dass sich das Gesamtüberleben der Patienten nicht verlängern ließ, sondern lediglich ein längeres krankheitsfreies Intervall zu erwarten war (Hebbar *et al.*, 2009; Portier *et al.*, 2006). Seit dem Jahr 2010 konnten jedoch zunehmend Erfolge mit einer Kombinationschemotherapie aus Oxaliplatin und Irinotecan in der adjuvanten Chemotherapie KRLM erzielt werden. Dieses Behandlungsschema ist angelehnt an die adjuvante Therapie von Kolonkarzinompatienten im Stadium III (Liu *et al.*, 2010). Weiterhin gibt es einige Untersuchungen zur Durchführung einer intraarteriellen Chemotherapie über die Leberarterie mit Floxuridin im Wechsel mit einer systemischen Chemotherapie mit Oxaliplatin und Capecitabin (Alberts *et al.*, 2010.). In einer Phase II Studie in den USA konnte ein verlängertes Überleben der Patienten nachgewiesen werden, bei denen eine intraarterielle Chemotherapie appliziert wurde. Intrahepatische Rezidive traten jedoch ebenso häufig auf wie bei Patienten einer vorangegangenen Studie, die nur eine systemische Therapie mit 5-FU erhalten hatten (Kemeny *et al.*, 2002).

Bisher existiert kein einheitlicher Konsens darüber, welche Patienten von einer adjuvanten Therapie profitieren und wie diese bestmöglich verlaufen sollte. Ein Expertenausschuss der sogenannten “European Colorectal Metastases Treatment Group” empfiehlt, dass die systemische Chemotherapie als Option für resezierte Patienten in Betracht gezogen werden sollte, insbesondere bei den Patienten, die keine neoadjuvante Chemotherapie erhalten haben (Nordlinger *et al.*, 2009).

### 1.3.2.2 Neoadjuvante Chemotherapie

Bei der neoadjuvanten Chemotherapie handelt es sich um eine systemische Therapie, die vor chirurgischer Entfernung des Tumors durchgeführt wird. Dabei kann sie die Verkleinerung einer vorher nicht resektablen Metastase ermöglichen und so eine sekundäre Resektabilität herbeiführen. Davon abgegrenzt werden muss der Fall, in dem eine neoadjuvante Chemotherapie bei bereits bestehender Resektabilität durchgeführt wird.

Bei 80% der Patienten, bei denen synchrone oder metachrone Metastasen diagnostiziert werden, ist eine komplette Resektion aus verschiedenen Gründen (extrahepatische Erkrankung, Beteiligung von nicht-resektablen Strukturen) nicht mehr durchführbar. Die Prognose dieser Patienten ist schlecht und wird mit einem 5-JÜ von 5% angegeben (Adam *et al.*, 2001). Seit Einführung einer effektiven neoadjuvanten Chemotherapie konnten die Überlebenschancen dieser initial nicht resektablen Patienten jedoch deutlich gebessert werden. Folprecht *et al.* konnten in der Zusammenschau mehrerer Studien eine Korrelation zwischen Ansprechraten und Resektionsraten von KRLM finden (Folprecht *et al.*, 2005). Es konnte gezeigt werden, dass die Response-Raten bei einer neoadjuvanten Chemotherapie mit FOLFOX oder FOLFIRI bei bis zu 60% liegen (Goldberg *et al.*, 2004; Saltz *et al.*, 2000; Tournigand *et al.*, 2004).

Dabei wurde beobachtet, dass das Langzeitüberleben von Patienten, bei denen eine sekundäre Resektabilität erreicht werden konnte, vergleichbar ist mit Patienten, die eine primäre Resektion erhalten haben (Adam *et al.*, 2001; Masi *et al.*, 2009; Nordlinger, 2004).

Der Stellenwert der neoadjuvanten Chemotherapie bei resektablen KRLM ist lange Zeit kontrovers diskutiert worden. Denn bei der neoadjuvanten Therapie muss berücksichtigt werden, dass durch die applizierte Chemotherapie eine Einschränkung der Leberfunktion erfolgen kann. Sowohl Oxaliplatin als auch Irinotecan gelten als nachweislich hepatotoxische Substanzen. Sie führen zur sinusoidalen Obstruktionen (Oxaliplatin) und zur Steatosis hepatis bzw. zur Steatohepatitis (Irinotecan) (Karoui *et al.*, 2006; Rubbia-Brandt *et al.*, 2004; Zorzi *et al.*, 2007). Diese Nebenwirkungen erhöhen das Risiko perioperativer Komplikationen und können nach Behandlung mit Irinotecan mit einer erhöhten postoperativen Mortalität einhergehen (Vauthey *et al.*, 2006).

Bei Anwendung von Oxaliplatin konnte eine erhöhte postoperative Komplikationsrate nachgewiesen werden, ohne dass jedoch die postoperative Mortalität beeinflusst wurde (Nordlinger *et al.*, 2010).

### 1.3.2.3 Antikörper in der neoadjuvanten Therapie

Bei der neoadjuvanten Behandlung primär nicht resektabler Metastasen stehen dem behandelnden Arzt zurzeit zwei Arten von Antikörper zur Verfügung.

Als monoklonaler Antikörper besetzt Cetuximab den EGF-Rezeptor (Epidermal Growth Factor) an kolorektalen Tumoren und deren Metastasen. So können gezielt zytotoxische Effektorzellen des Immunsystems auf die EGFR-exprimierenden Tumorzellen gelenkt werden (Folprecht *et al.*, 2010).

Ein zweiter Antikörper hat einen anderen Wirkmechanismus. Der Angiogenesehemmer Bevacizumab bindet den Wachstumsfaktor VEGF (vascular endothelial growth factor), so dass die Wachstumssignale des Tumors unterbunden werden. So wird die Bildung neuer Gefäße unterbunden, die Versorgung des Tumors mit Sauerstoff und Nährstoffen gemindert und sein Wachstum gehemmt (O'Connor *et al.*, 2009; Willett *et al.*, 2004).

In der CELIM II Studie von Folprecht *et al.* (Folprecht *et al.*, 2010) wird die zusätzliche Wirkung von Cetuximab auf initial nicht-resektable Lebermetastasen untersucht. In dieser Studie konnte Cetuximab in Kombination mit dem FOLFOX Therapieschema eine hohe Ansprechrate nachgewiesen werden, welche mit der Resektionsrate korrelierte: Bei 60% der Patienten mit primär nicht-resektablen Metastasen konnte anschließend eine komplette chirurgische Resektion erfolgen. In einer randomisierten aktuellen Studie von 2011 zeigte sich eine höhere sekundäre Resektionsrate von KRLM nach kombinierter Chemotherapie mit Cetuximab. Allerdings ergaben sich im Vergleich zu Patienten, welche den Antikörper nicht erhalten hatten, keine signifikanten Unterschiede im Gesamtüberleben oder in der Länge des rezidivfreien Intervalls (Maughan *et al.*, 2011).

Auch die Wirksamkeit von Bevacizumab in der neoadjuvanten Chemotherapie ist nicht vollständig bewiesen. Es scheint die Ansprechraten auf Irinotecan-Therapien zu verbessern und so eine Verkleinerung der Metastasen zu bewirken (Fuchs *et al.*, 2007; Hurwitz *et al.*, 2004). Wohingegen seine Anwendung in Kombination mit Oxaliplatin keine Erfolgsaussichten zu bringen scheint (Saltz *et al.*, 2008).

### 1.3.2.4 Palliative Therapie

Als palliative Chemotherapie wird ein Therapieregime bezeichnet, welches angewandt wird, wenn eine komplette Resektion des Tumors aufgrund seiner Größe oder Lage nicht mehr möglich ist, oder wenn inoperable Metastasen auftreten. Hierbei soll die Lebensqualität des Patienten möglichst lange stabil bleiben. Als Substanzen werden hauptsächlich 5-FU und

Leucovorin verwendet, welche entweder intravenös oder intraarteriell über die Leberarterie verabreicht werden können.

Zum Vergleich der Wirkung von intraarterieller und systemischer Chemotherapie ohne Operation existiert eine Studie aus dem Jahre 1987 (Chang *et al.*, 1987). Bei Patienten mit nicht resezierbaren KRLM zeigte sich eine höhere Ansprechrate auf die intraarterielle Therapie im Vergleich zur systemischen Therapie (62% vs. 17%). Allerdings unterschied sich das Gesamtüberleben der beiden Gruppen nicht wesentlich voneinander, da sich die intraarterielle Therapie als deutlich hepatotoxischer erwies. Zu denselben Ergebnissen kommen auch aktuelle Studien. Die Kombination von Floxuridine und Dexamethason intraarteriell verabreicht in Kombination mit 5-FU i.v. zeigt ein verbessertes Ansprechen der Metastasen im Vergleich zur alleinigen Chemotherapie (N. Kemeny, 2006; N. Kemeny *et al.*, 1999).

Als ein neuartiges Verfahren in der palliativen Therapie von KRLM soll hier kurz die selektive interne Radiotherapie (SIRT) erwähnt werden. Hierbei werden über einen intraarteriell eingeführten Katheter radioaktiv beladene Teilchen in die Leberarterien eingeführt. Diese blockieren die tumorzuführenden Gefäße und geben in unmittelbarer Tumornähe ihre Strahlung frei. Es konnten bereits Verzögerungen des Tumorwachstums bei stark mit Chemotherapie vorbehandelten Lebermetastasen beobachtet werden (Garrean *et al.*, 2007; Townsend *et al.*, 2009). Es handelt sich dabei jedoch um ein Verfahren, welches nicht routinemäßig eingesetzt wird.

Zusammenfassend zeigen die oben aufgeführten Studien, dass die chirurgische, radikale Resektion der Lebermetastasen die Therapie der ersten Wahl ist, wobei der zusätzliche Einsatz moderner Chemotherapie immer wichtiger wird.

#### **1.4 Prognostische Faktoren und Risiko-Scores**

Um diejenigen Patienten herauszufiltern, welche von einer primär chirurgischen Therapie profitieren, wurden Risiko-Punktesysteme, sogenannte „Risk-Scores“ entwickelt. Als wichtigster ist zum einen der sogenannte „Nordlinger-Score“ (Nordlinger *et al.*, 1996) zu nennen. Ein anderer, klinisch häufig angewandter Score, ist der „Memorial-Sloan-Kettering Cancer-Score (MSKC)“ von Fong, welcher an mehreren Patientenkollektiven validiert wurde und zur präoperativen Einschätzung geeignet ist (Fong *et al.*, 1999). Beide Systeme untersuchen die Abhängigkeit einzelner, voneinander unabhängiger Einflussfaktoren auf das Langzeitüberleben.

Präoperativ erfassbare, statistisch signifikante Einflussfaktoren, die sich negativ auf das postoperative Überleben der Patienten auswirken können, sind in beiden Studien folgende: präoperativer Tumormarker (CEA) > 200ng/ml, Lymphknotenstatus des Primärtumor positiv, mehr als eine Lebermetastase, größte Lebermetastase >5cm, krankheitsfreies Intervall < 12 Monate. Als präoperativ wichtigster Risikofaktor wurde eine extrahepatische Manifestation der Erkrankung angegeben. Einige Autoren sehen daher die Existenz extrahepatischer Erkrankungen (Infiltration des Diaphragmas, Nebennierenmetastasen, Lungenrundherde) auch als Kontraindikation für eine Leberresektion an (Fong *et al.*, 1999). Aus diesem Grunde wird dieser Parameter auch nicht im Risiko-Score erfasst.

Werden Lebermetastasen bei Vorhandensein von extrahepatischen Metastasen reseziert, muss das nicht unbedingt nachteilig für den Patienten sein. Kann die extrahepatische Metastase vollständig entfernt werden, so profitieren diese Patienten von einem verlängertem Überleben, haben jedoch im Vergleich zu Patienten ohne extrahepatische Manifestation ein höheres Rezidivrisiko (Pulitano *et al.*, 2011).

Einer der wichtigsten Prognosefaktoren nach Resektion von KRLM ist ein tumorfreier Resektionsrand (R0). Wie groß dieser genau sein muss wird immer noch kontrovers in der Literatur diskutiert. Jahrelang galt ein mindestens 1 cm breiter tumorfreier Rand als Voraussetzung für ein langes rezidivfreies Überleben (Ekberg *et al.*, 1986). Mittlerweile gibt es Hinweise, dass ein mikroskopisch tumorfreier Rand ausreichend ist (Poultides *et al.*, 2010).

## **1.5 Postoperative Rezidive**

In den ersten drei Jahren nach Resektion des kolorektalen Karzinoms treten 90% der Primärtumorrezidive und 60% der KRLM auf (Desch *et al.*, 2005; Pietra *et al.*, 1998). Nach Resektion der KRLM erleiden zwei Drittel der Patienten ein Rezidiv innerhalb der ersten zwei Jahre. Dabei treten bei der Hälfte aller Patienten sowohl hepatische als auch extrahepatische Metastasen auf (Fong *et al.*, 1999). Daher ist nach erfolgter Lebermetastasenresektion eine engmaschige Kontrolle zum frühzeitigen Erfassen einer erneuten Metastasierung von großer Bedeutung. Die zeitlichen Intervalle richten sich nach Erfahrungswerten bezüglich der Häufigkeit des Auftretens von Tumorrezidiven. In den ASCO-Guidelines (American Society of Clinical Oncology) von 2005 wird die 3-monatliche klinische und sonographische Kontrolle empfohlen, sowie eine halbjährliche Computertomographie von Abdomen und Thorax.



Aufgrund der hohen Inzidenz einer erneuten Metastasierung wird vermutet, dass einzelne Tumorzellen vor oder während der Leberresektion in die Blutbahn gelangen und sich dann in anderen Organen zu erneuten Metastasen entwickeln.

Erhöhte Konzentrationen von disseminierten Tumorzellen im Blut konnten intraoperativ bereits nachgewiesen werden und stehen in einigen Studien im Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko für ein intrahepatisches Rezidiv (Koch *et al.*, 2005; Topal *et al.*, 2005).

## 1.6 Disseminierte Tumorzellen

Das Wissen um Tumorzellen, die während des Tumorwachstums in die Peripherie gelangen ist keineswegs neuartig. Schon im Jahre 1869 verbreitete Ashworth in einer seiner Arbeiten die Idee von einer Streuung des Tumors ins Blut (Ashworth, 1869). Knapp hundert Jahre später im Jahre 1955 wurde diese These von Engell unterstützt, der zum ersten Mal in der Geschichte der Medizin zirkulierende Tumorzellen verschiedener Entitäten während einer Tumorresektion in peripheren Kompartimenten nachweisen konnte (Engell, 1959; Rahbari *et al.*, 2010.). Heute ist bekannt, dass Tumorzellen ständig in der Blutbahn zirkulieren. Allerdings werden nahezu alle Zellen vom Immunsystem entweder abgetötet, durch Anoikis inaktiviert oder können Gefäße durch fehlende Invasion nicht mehr verlassen (Pantel *et al.*, 1997).

Treten Tumorzellen in tumorfernen Körperkompartimenten auf spricht man definitionsgemäß von hämatogener Tumorzell dissemination. Diese wird als ein sehr frühes Stadium der Metastasierung gesehen, welche vor allen Dingen durch das Auftreten von Einzelzellen (oder höchstens Zellclustern) geprägt ist. Nach erfolgter Entfernung des Primärtumors ohne Nachweis einer weiteren Makrometastasierung spricht man von „minimal residual disease“ oder „minimal residual cancer“. Diese Zellen haben die Eigenschaft jahrelang im Blut oder im Knochenmark zu überdauern, um sich anschließend zu Metastasen entwickeln zu können. Es wird angenommen, dass sie sich meist im G0-Stadium befinden (Pantel & Brakenhoff, 2004) und somit weder einer Chemo- noch einer Strahlentherapie zugänglich sind. Welche Faktoren dazu führen, dass die Tumorzellen nach Jahren zu Metastasen auswachsen, ist unklar.

Von diesem Phänomen abzugrenzen ist die Mikrometastasierung, bei der bereits eine Stromainvasion eingetreten ist und deren Zellkomplexe größer als 2 mm sind. Sie ist, im Gegensatz zum Auftreten von disseminierten Tumorzellen, nicht reversibel und stellt häufig eine palliative Situation dar (Solomayer *et al.*, 1998).

Die Problematik, die hinter der frühen Zirkulation der Tumorzellen steckt, liegt auf der Hand: Auch Patienten mit kleinem Primärtumor, der erfolgreich ohne verbleibenden Rest reseziert werden konnte, können Fernmetastasen entwickeln. Obwohl mit konventionellen Stagingmethoden keine Metastasen erkannt wurden, muss doch von einer möglichen Frühmetastasierung ausgegangen werden.

Eine alleinige Operation kann also häufig nicht mehr als kurative Therapie betrachtet werden. Andererseits gibt es auch Patienten, die trotz positivem Nachweis von DTZ über Jahre keine Metastasen entwickeln.

Bei der Therapie gastrointestinaler Karzinome wird bis jetzt noch keine standardisierte, routinemäßige Untersuchung von disseminierten Tumorzellen im klinischen Alltag durchgeführt. Dieses ist unter Umständen auch darauf zurückzuführen, dass bis jetzt noch keine eindeutige Studienlage hinsichtlich des prädiktiven Wertes der Ergebnisse existiert.

Im Gegensatz dazu spielt der Nachweis disseminierter Tumorzellen bei der Behandlung des Mammakarzinoms eine zunehmend wichtige Rolle und so wurde ihr Nachweis mittels Immunzytochemie bereits in die neueste Auflage der TNM Klassifikation aufgenommen (Singletary *et al.*, 2003).

### ***1.6.1 Nachweis disseminierter Tumorzellen***

Disseminierte Tumorzellen lassen sich in verschiedenen Kompartimenten des Körpers nachweisen (Blut, Urin, Knochenmark, Stuhl, Peritoneallavage) (Pantel *et al.*, 1997). Dafür stehen hauptsächlich zwei Verfahren zur Verfügung, die sich im Laufe der Zeit etablieren konnten.

#### *1.6.1.1 Immunzytochemie*

Diese Methode ermöglicht die Identifikation und Klassifizierung von Tumorzellen anhand der Morphologie und Expression bestimmter Antigene, welche durch Färbung mittels spezifischer Antikörper detektiert werden.

Sensitivität und Spezifität dieser Methode variieren stark, da die Ergebnisse des immunzytochemischen Nachweises abhängig sind vom Expressionsniveau des Zielantigens auf den Tumorzellen. Dieses kann gerade bei undifferenzierten Karzinomen verloren gehen, so dass sie nicht als Tumorzelle identifiziert werden können (Ghossein & Bhattacharya, 2000). Ein weiterer Nachteil dieser Methode ist die unspezifische Anfärbung nicht-epithelialer Zellen, was falsch positive Ergebnisse provozieren kann. Andererseits berichten

einige Autoren über Studien mit bis zu 300 Patienten mit gastrointestinalen Karzinomen, bei denen ein Zusammenhang zwischen Tumorzellnachweis im Knochenmark mittels Immunzytochemie und einem verkürztem krankheitsfreien Intervall ermittelt werden konnte (Jauch *et al.*, 1996; Leinung *et al.*, 2000). Neben den Möglichkeiten in der Diagnostik bietet die Immunzytochemie aber auch neue Ansätze in der Therapie: Antikörper sollen den Tumor oder die Tumorzellen, die sich einer Chemotherapie gegenüber resistent gezeigt haben, in Zukunft nicht nur markieren sondern auch zerstören (Maxwell-Armstrong *et al.*, 1999). Anwendung findet dieses Prinzip schon versuchsweise in der Therapie des Mammakarzinoms.

#### *1.6.1.2 Polymerase Kettenreaktion*

Mit Hilfe der Polymerase Kettenreaktion (PCR) kann tumorspezifische mRNA nachgewiesen werden, die nur in malignen Zellen vorkommt. Dadurch wird eine hochsensible und spezifische Detektion von Tumorzellen ermöglicht. Im besonderen Fall der gastro-intestinalen Tumoren hat sich besonders das Zytokeratin 20 (CK-20) als Marker durchgesetzt. Dieser Baustein des Zytoskeletts zeichnet sich durch eine besonders starke Expression im kolorektalem Karzinom und deren Metastasen aus und konnte in den meisten Kontrolluntersuchungen im Gewebe von gesunden Probanden nicht nachgewiesen werden (Burchill *et al.*, 1995; Gunn *et al.*, 1996).

In Kiel wurde die Detektion DTZ mit der CK20 RT-PCR etabliert und zeigte, dass der Nachweis DTZ beim kolorektalen Karzinom als unabhängiger prognostischer Faktor zu werten ist (Soeth *et al.*, 1997). Bei Pankreaskarzinompatienten wurde gezeigt, dass der Nachweis von DTZ im Blut oder Knochenmark mit einem schlechteren Gesamtüberleben verbunden ist (Soeth *et al.*, 2005).

In mehreren Studien mit diesem Marker konnten auch andere Arbeitsgruppen beweisen, dass das CK20-RT-PCR-System bei dem Nachweis disseminierter Tumorzellen im Blut und im Knochenmark sowohl über eine hohe Sensitivität, als auch über eine hohe Spezifität verfügt (Weitz *et al.*, 1999; Weitz *et al.*, 1998; Weitz *et al.*, 2000). Weiterhin wurde in diesen Studien der Zusammenhang von Tumorzeldissemination und Bildung von Lebermetastasen bei Patienten mit KKR untersucht. Dabei zeigte sich, dass ein signifikanter statistischer Zusammenhang zwischen dem intraoperativen Nachweis der Tumorzellen im Blut und einem Tumorrezidiv besteht. Die Detektion von CK-20 positiven Tumorzellen im Knochenmark steht in dieser Studie im Zusammenhang mit einem deutlich verkürzten medianen Überleben im Gegensatz zu CK-20 negativen Patienten (Koch *et al.*, 2005).

Des Weiteren konnte mit Hilfe der CK20-RT-PCR gezeigt werden, dass bei ausgedehnten Resektionen der Leber intraoperativ vermehrt Tumorzellen im Blut nachzuweisen waren, vermutlich durch Manipulation am Tumor und erhöhten Blutverlust.

Trotzdem werden diese Methode und ihre Ergebnisse noch in Frage gestellt, da sich eine Dissemination von Tumorzellen in manchen Studien nicht eindeutig auf das Langzeitüberleben, bzw. das Auftreten von Rezidiven ausgewirkt hat (Vogel & Kalthoff, 2001; Wolfrum *et al.*, 2005). Das kann sowohl in Zusammenhang mit der jeweils untersuchten Tumorentität und dem untersuchten Kompartiment stehen (Blut oder Knochenmark) als auch mit den bislang nicht standardisierten Asservierungs-, Aufarbeitungs- und Analysetechniken. (Vogel & Kalthoff, 2001).

### ***1.6.2 Momentaner Kenntnisstand: Disseminierte Tumorzellen beim kolorektalen Karzinom***

Die prognostische Aussagekraft disseminierter Tumorzellen beim KRK wird in der Literatur kontrovers diskutiert (Koch *et al.*, 2005; Weitz *et al.*, 1999). Uneinheitliche Patientengruppen und nicht-standardisierte Nachweismethoden erbrachten widersprüchliche Ergebnisse.

In einer kürzlich erschienenen Metanalyse von Rahbari *et al.* (Rahbari *et al.*, 2010) wurden vergleichbare aktuelle Studien zu diesem Thema untersucht. Mit der Fragestellung, ob der Nachweis DTZ im peripheren Blut oder im Knochenmark als prognostischer Faktor verwertbar ist, erfolgte die Datenauswertung von 36 Studien und 3094 Patienten. Untersucht wurden jeweils peripheres Blut und/oder Knochenmark vor einer operativen Resektion des Primärtumors. Als eindeutiges Ergebnis dieser Metaanalyse kann festgehalten werden, dass DTZ, die präoperativ im Blut nachweisbar sind, als Indikator eines kürzeren rezidivfreien Überlebens gelten, wohingegen der prognostische Einfluss von DTZ im KM unklar bleibt.

### ***1.6.3 Disseminierte Tumorzellen bei kolorektalem Karzinom und Lebermetastasen***

Ist eine Fernmetastasierung des KRK bereits eingetreten, bleibt die Aussagekraft der DTZ weiterhin unklar. Über Jahre wurde postuliert, dass bei dem Vorhandensein von Makrometastasen den disseminierten Tumorzellen keine Bedeutung zukommt. In mehreren Studien mit geringen Patientenzahlen und unterschiedlichen Analysetechniken wurde bereits versucht die prognostische Rolle der Tumorzellen bei Patienten mit KRLM zu ermitteln.

An einer kleinen Patientenkohorte (n=37) konnte gezeigt werden, dass die intraoperative Detektion DTZ im peripheren Blut ein Indikator für ein späteres Tumorrezidiv ist (Koch *et al.*, 2005). In anderen Studien mit ebenfalls kleinen Patientenkohorten konnte ein Einfluss

DTZ auf das Überleben jedoch nicht nachgewiesen werden (Schoppmeyer *et al.*, 2006; Topal *et al.*, 2005; Vlems *et al.*, 2003). Weiterhin wurde festgestellt, dass auch auf das Auftreten eines extrahepatischen Rezidives von dem Vorhandensein disseminierter Tumorzellen unbeeinflusst bleibt (Schoppmeyer *et al.*, 2006).

Demgegenüber stehen die Ergebnisse einer Studie, die den prognostischen Einfluss disseminierter Tumorzellen bestätigt, falls diese präoperativ im KM nachgewiesen werden. Beim Vergleich zweier Nachweisverfahren (Immunzytochemie vs. RT-PCR) wird in dieser Studie jedoch deutlich, dass ein negativer Einfluss nur durch die RT-PCR Methode nachgewiesen werden kann und nicht mittels Immunzytochemie (Vogelaar *et al.*, 2010.).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass der prognostische Einfluss DTZ bei Patienten mit KRLM nach Resektion der Makrometastasen unklar bleibt und daher Gegenstand dieser Arbeit sein soll.

## **1.7 Fragestellung**

Ziel der Studie war es bei Patienten mit resezierten kolorektalen Lebermetastasen prognostische Faktoren hinsichtlich des Gesamtüberlebens zu analysieren. Hierzu sollte insbesondere die Bedeutung disseminierter Tumorzellen im Blut und Knochenmark auf das Überleben der Patienten nach erfolgter Resektion von KRLM untersucht werden.

Der Einfluss mittels CK-20 RT-PCR nachgewiesener disseminierter Tumorzellen auf das Überleben von Patienten nach Operation des kolorektalen Primärtumors konnte bereits belegt werden (s.o.). In dieser Untersuchung sollte erörtert werden, ob sich diese Zusammenhänge auch bei Patienten mit einer hepatischen Metastasierung zeigen.

Ein weiteres Ziel der vorliegenden Studie sollte die Analyse potentieller prognostischer Variablen sein, die bei jedem Patienten präoperativ erfassbar sind. Hierzu bestehen bereits zahlreiche Studien (Fong *et al.*, 1999; Nordlinger *et al.*, 1996), deren Ergebnisse im Folgenden mit denen dieser Studie verglichen werden sollen.

Zusätzlich zu diesen präoperativen Variablen sollten intra- und postoperative Variablen erfasst werden. Nach Erhalt der Ergebnisse muss diskutiert werden, welche Rolle disseminierte Tumorzellen in der Diagnostik und Behandlung des KRK in Zukunft spielen werden, beispielsweise in Hinblick auf eine adjuvante Chemotherapie.

Diese Studie soll einen Beitrag dazu leisten, die Behandlung von Patienten mit Lebermetastasen bei KRK zu verbessern. Sie soll Anregung dazu sein, die individuelle

Prognoseeinschätzung zu vereinfachen, um damit Risikopatienten schneller erkennen zu können und deren Therapie zu optimieren.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign**

Es handelt sich bei der hier vorliegenden Studie um eine retrospektive Auswertung von prospektiv erfassten Daten.

Alle Patienten wurden in der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie der Universität Kiel im Sinne einer kurativen Resektion operiert. Vor Beginn der OP hatte jeder Patient schriftlich, nach einer ausführlichen Aufklärung, in die Probenentnahme und -verarbeitung eingestimmt. Eine Einverständniserklärung über die Zurverfügungstellung der eigenen Daten zu Forschungszwecken wird generell jedem Patienten bei Krankenhausaufnahme vorgelegt und ist in unterschriebener Form den Krankenakten beigelegt. Alle Patienteninformationen wurden nach den Vorschriften des Datenschutzes vertraulich behandelt. Ein Bescheid der zuständigen Ethikkommission lag zum Zeitpunkt des Beginns der Datensammlung vor.

### **2.2 Einschlusskriterien**

In die Studie wurden insgesamt 108 Patienten aufgenommen, bei denen zwischen den Jahren 1999 und 2008 eine kurative Resektion der Lebermetastasen vorgenommen wurde. Folgende Kriterien waren essentiell, um in die Studie aufgenommen zu werden:

Bei dem Primärtumor des Patienten handelte es sich um ein Adenokarzinom entweder im Rektum oder im restlichen Kolon. Dieses war in einigen Fällen schon vorher reseziert worden, oder die Resektion erfolgte zeitgleich (synchron) mit denen der Lebermetastase.

Die Operation geschah mit kurativer Absicht. Vor der Operation durfte kein Anhalt dafür bestehen, dass eine vollständige Resektion (R0) der LM nicht möglich wäre. Patienten bei denen intraoperativ ein sichtbarer Rest oder ganze Metastasen verblieben waren (R2 Situation), wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt. Ebenso verhielt es sich mit Patienten, die mit Radiofrequenzablation (RFA) behandelt wurden.

Es wurden sowohl Primär- als auch Rezidivoperationen an der Leber durchgeführt, wobei jeder Patient aber nur einmal in die Studie aufgenommen wurde.

Bei allen Patienten konnte das Ausmaß der LM präoperativ entweder computertomographisch oder magnetresonanztomographisch erfasst werden. Zusätzlich wurde ein intraoperativer Ultraschall der Leber durchgeführt.

### **2.3 Knochenmark- und Blutproben**

Waren oben genannte Kriterien erfüllt, wurden nach Narkoseeinleitung aber vor Beginn der Operation 10 ml Blut aus einem zentralvenösen Katheter entnommen. Außerdem wurden 10 ml Knochenmark mittels steriler Punktion des Beckenkammes aspiriert. 30 Patienten sprachen sich entweder gegen eine Knochenmarkaspiration aus oder es wurde nicht ausreichend Material für die RNA Extraktion gewonnen. Daraus ergeben sich insgesamt 106 mittels PCR untersuchte Blutproben und 78 Knochenmarkproben.

### **2.4 CK-20 RT-PCR (reverse Transkriptase PCR)**

Isolation und Detektion der CK-20 positiven Tumorzellen im zentralvenösen Blut und im Knochenmark erfolgte mit Hilfe der bereits etablierten RT-PCR (Soeth *et al.* 1997). Die Extraktion der mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMC) erfolgte nach Verdünnung der Blut- und Knochenmarkproben mit Phosphat gepufferter Saline (PBS) und anschließender Ficoll-Dichtezentrifugation. Die RNA Extraktion erfolgte dann wie zuvor beschrieben (Soeth *et al.*, 1997).

Jede Probe aus Blut und Knochenmark wurde mindestens zweimal mit oben genanntem Verfahren getestet. Bei unklarem Ergebnis erfolgte ein dritter Testversuch, welcher in 10 von 76 Knochenmarkproben und in 15 von 106 Blutproben nötig war. Die CK-20 RT-PCR erfolgte im Rahmen der Routineanalysen im sogenannten Diagnostiklabor der Sektion Molekulare Onkologie im Institut für Experimentelle Tumorforschung.

### **2.5 Klinische Datenerfassung**

Die Daten aus Patientenkurven und -anamnesebögen, OP- und Anästhesie-Protokollen wurden in die zentrale Tumordatenbank der Klinik für Allgemeine Chirurgie eingegeben.

Zu jedem Patient wurden circa 100 einzelne Variablen erfasst, die den folgenden Gruppen zugeordnet werden können:

- Charakteristika des Primärtumors
- Daten zur Operation
- klinische Charakteristika der Metastasen
- pathologische Charakteristika der Metastasen
- Demographische Daten zum Patienten und Laborwerte
- Nachsorge

### 2.5.1 Charakteristika des Primärtumors

Der Primärtumor wurde anhand der UICC Klassifikation in vier verschiedene Stadien eingeteilt (siehe Kapitel 1.1). Zum Erreichen einer größeren Gruppe wurden die UICC Stadien I und II, sowie III und IV für die statistische Auswertung zusammengefasst.

### 2.5.2 Operation

Die Art der Leberresektion wurde anhand der sogenannten Brisbane Klassifikation definiert (Pang, 2002).

**Tabelle 2: Definition der Resektionsart**

<b>Resektionsart</b>	<b>Resektion der Segmente</b>
<b>Hemihepatektomie rechts</b>	V-VIII (+/- I)
<b>Hemihepatektomie links</b>	II-IV (+/- I)
<b>erweiterte Hemihepatektomie rechts</b>	IV-VIII (+/-I)
<b>erweiterte Hemihepatektomie links</b>	II,III, IV, V, VIII (+/-I)
<b>Linkslaterale Resektion</b>	II, III
<b>Zentrale Resektion</b>	IV

(Quelle: The Brisbane 2000 terminology of hepatic anatomy and resections. The terminology committee of the IHPBA.

Journal: HPB. 2000;2:333-339)

Als „major“-Resektion wurde die Entfernung von zwei oder mehr Segmenten definiert, wohingegen die Resektion eines einzelnen Segmentes oder eine atypische Keilresektion als „minor“-Resektionen definiert wurde (Bismuth *et al.*, 1982).



### 2.5.3 Laborwerte

Die Leberfunktionsparameter (Albumin, Bilirubin, Quick) wurden vor der Operation und am fünften postoperativen Tag erfasst. Das karzinoembryonale Antigen (CEA) wurde nur bei einigen Patienten präoperativ ermittelt. Dieses Glykoprotein, welches unter anderem von den Epithelien der Kolonschleimhaut exprimiert wird, dient als Tumormarker kolorektaler Karzinome sowie der Differenzierung von einigen Lebertumorentitäten.

### 2.5.4 Nachsorge

Die Nachsorgedaten hinsichtlich des Langzeitüberlebens und der Entwicklung eines postoperativen Lokalrezidivs in der Leber oder einer weiteren Fernmetastasierung wurden in einer zentralen Tumordatenbank (ProWebDB) erfasst.

Die Informationen wurden durch Befragung der Hausärzte, der Patienten selbst oder durch Auswertung der Patientendaten unserer onkologischen Ambulanz erhalten.

## 2.6 Morbidität- und Mortalitätsstatistik

Jeder Todesfall in den ersten 30 Tagen nach der Operation wurde als postoperative Mortalität erfasst. Patienten, die innerhalb der ersten 30 Tage starben, wurden aus den Überlebensanalysen ausgeschlossen.

Die postoperative Morbidität wurde mit Hilfe der sogenannten Clavien-Klassifikation kategorisiert (Clavien *et al.*, 1992; Dindo *et al.*, 2004).

Jeder Art der Komplikation kann in diesem Klassifikationssystem einer von insgesamt vier Schweregraden zugeordnet werden:

I = geringeres Risiko, bedarf keiner Therapie

II = Therapie in Form von Medikamenten/Transfusion notwendig

III = Notwendigkeit der chirurgischen Intervention

IV = lebensbedrohende Komplikation

V = Tod des Patienten

Hierbei wurde zwischen eingriffsspezifischen und generellen Komplikationen unterschieden.

## **2.7 Statistik**

Sämtliche Auswertungen konnten mit Hilfe des Statistik-Programms SPSS (Vers.17.0) berechnet werden. Der primäre Endpunkt wurde festgelegt als der Tod des Patienten. Alle Todesfälle, die während der Follow-up Periode auftraten waren auf die Tumorerkrankung zurückzuführen. Patienten, die postoperativ noch im Krankenhaus verstarben, wurden aus der Überlebensanalyse ausgeschlossen.

Die kumulative Überlebenswahrscheinlichkeit wurde nach der Kaplan-Meier-Methode ermittelt (Kaplan EL, 1958). Mittels univarianter Analyse wurde der Einfluss verschiedener Parameter auf das Überleben untersucht. Als Signifikanzniveau wurde ein p-Wert von 0,05 definiert. Mit Hilfe der Cox-Regression wurde der Einfluss multipler Variablen auf das Gesamtüberleben analysiert.

## **3. Ergebnisse**

### **3.1 Ergebnisse der deskriptiven Statistik**

Insgesamt wurden 108 Patienten in die Studie eingeschlossen, die zwischen den Jahren 1996 und 2008 an kolorektalen Lebermetastasen operiert wurden. Die Gruppe setzte sich zusammen aus 40 Frauen und 68 Männern mit einem mittleren Alter zum Zeitpunkt der Operation von 64,6 Jahren, wobei der jüngste Patient 34 und der älteste Patient 88 Jahre alt war. 28,7% der Patienten waren dabei älter als 70 Jahre (Tabelle 3).

Die mittlere stationäre Verweildauer aller Patienten betrug 16 Tage, nach Major-Resektion 17,5 Tage und nach Minor –Resektion nur 13 Tage.

**Tabelle 3: Demographische Daten der Patienten**

<b>Merkmal</b>	<b>Ausprägung</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Geschlecht</b>	männlich	68	63
	weiblich	40	37
<b>Alter</b>	<70 Jahre	77	71,3
	≥ 70 Jahre	31	28,7
<b>Risikofaktor</b>	Ja	43	39,8
	Nein	65	68,2
<b>Übergewicht BMI&gt;25m<sup>2</sup>/kg</b>	Ja	49	45,5
	Nein	59	54,5
<b>Leberfunktionseinschränkung</b>	Ja	24	22,2
	Nein	84	77,7
<b>CEA-Level prä-op</b>	<5 ng/ml	16	50,0
	>5 ng/ml	16	50,0

### 3.1.1 Patienten

#### 3.1.1.1 Demographische Daten

Um das operative Risiko des einzelnen Patienten besser einschätzen zu können, wurden ausgewählte Begleiterkrankungen als Risikofaktoren definiert. Dazu gehörten Alkohol-Abusus, chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), Herzinsuffizienz, Hypertonus, koronare Herzerkrankung (KHK), Niereninsuffizienz, Nikotinabusus und Leberzirrhose. 43 von 108 Patienten (40%) litten an einer oder mehrerer dieser Komorbiditäten. Zusätzlich wurde der Body Mass Index (BMI) aus Größe und Gewicht ermittelt und Übergewicht als ein BMI von > 25m<sup>2</sup>/kg definiert. Zum Zeitpunkt der Operation waren 49 von 108 (45,5%) Patienten übergewichtig (siehe Tabelle 3).

### 3.1.1.2 Laborchemische Parameter

Zur Beurteilung ob eine präoperative Einschränkung der Leberfunktion vorlag, wurden folgende Laborparameter vor der Operation analysiert:

Bilirubin, Albumin und der Quickwert. Pathologische Werte im Sinne einer eingeschränkten Leberfunktion ergaben sich bei 24 Patienten.

Eine präoperative Erhöhung des karzinoembryonalen Antigens (CEA) über 5 ng/ml wurde bei 16 von 32 Patienten vor der Operation gemessen.

Nach erfolgter Operation wurden die Leberfunktionsparameter am 5. postoperativen Tag bestimmt, zur Dokumentation der postoperativen Leberfunktion.

### 3.1.2 Operation

**Tabelle 4: Verteilung der Operationsarten**

<b>Operationsart</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Major Resektion</b>	71	64
<b>Minor Resektion</b>	37	34
<b>Synchrone Resektion</b>	27	25
<b>Metachrone Resektion</b>	81	75
<b>Leberresektion atypisch</b>	22	20,4
<b>Lebermehrsegmentresektion</b>	33	30,6
<b>Lebersegmentresektion</b>	29	26,9
<b>Hemihepatektomie links</b>	4	3,8
<b>Hemihepatektomie rechts</b>	12	11,3
<b>Hemihepatektomie erweitert rechts</b>	11	10,2
<b>Leberresektion zentral</b>	1	0,9
<b>Leberresektion linkslateral</b>	8	7,4

Bei 64% der Patienten musste mehr als ein Segment reseziert werden, um eine vollständige Entfernung der Metastase zu erreichen. Somit wurden mehr major- als minor-Resektionen durchgeführt (siehe Tabelle 4).

Bei der Resektion mehrerer Segmente ist das sogenannte Pringle-Manöver ein Mittel um größere Blutverluste zu vermeiden. Das Pringle-Manöver (passageres Abklemmen der Vena portae und der Arteria hepatica) wurde bei 55 von 108 Patienten (49,1%) vorgenommen.

Bei 27 Patienten wurde neben der KRLM auch der kolorektale Primärtumor im Sinne einer sogenannten synchronen Operation reseziert und bei 2 weiteren Patienten wurde zusätzlich ein Teil des Dünndarms entfernt.

Bei 42 von 108 Patienten (38,9%) wurden, nach größerem Blutverlust, intraoperativ Erythrozytenkonzentrate (EK) transfundiert. Im Mittel wurden 460 ml pro Patient transfundiert.

### 3.1.3 Postoperativer Verlauf

**Tabelle 5: postoperative Komplikationen**

<b>Faktor</b>	<b>Kategorie</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Patienten mit Komplikationen</b>		49	45
<b>Postoperative Komplikationen</b>		140	100
Hepatisch	Clavien Grad I/II	0	0
	Clavien Grad III/IV	77	55
	Clavien Grad V	0	0
Generelle	Clavien Grad I/II	28	20
	Clavien Grad III/IV	31	22
	Clavien Grad V	4	3

Bei insgesamt 49 Patienten (45%) traten intraoperativen Komplikationen auf. Diese wurden mit Hilfe der Clavien-Klassifikation (Clavien *et al.*, 2000) erfasst, wie bereits im Kapitel 2.8 beschrieben (siehe Tabelle 5). Bei 77 von 106 der Patienten (55%) kam es zu eingriffsspezifischen Komplikationen, die mindestens einen zusätzlichen chirurgischen Eingriff nötig machten.

Bei Komplikationen, die unmittelbar mit der Leberresektion in Zusammenhang gebracht werden können, ist zunächst das postoperative Leberversagen zu nennen. Hierbei wurde zwischen einer passageren und einer fulminanten Leberinsuffizienz unterscheiden. War der

Quick-Wert auch nach dem fünften postoperativem Tag noch deutlich erniedrigt (<60%), so wurde von einer fulminanten Leberinsuffizienz ausgegangen. Dieses traf auf 8 von 102 (7,8%) Patienten zu. Ein erhöhter Bilirubinwert (> 1,0 mg/dl) zeigte sich bei 36 von 108 Patienten (33,3%).

Desweiteren zählen zu den häufigsten postoperativen eingriffsspezifischen Komplikationen Galleleckagen (8,4%) und intraabdominelle Abszesse (20,7%) sowie Nachblutungen (2,8%). Als therapeutische Konsequenz bei intraabdomineller Problematik wurde erneut operiert (37,7%) und/ oder eine interventionelle Abszessdrainage durchgeführt (14,1%).

Als generelle Komplikationen waren definiert: Pulmonale Komplikation, Wundinfektion, Kardiovaskuläre- bzw neurologische Komplikation, Harnwegsinfekte, Nierenversagen, sowie extrahepatische Infektionen.

Vier Patienten verstarben unmittelbar an postoperativen Komplikationen, die Mortalitätsrate beträgt somit 3%.

### **3.1.4 Chemotherapie**

28 Patienten erhielten eine adjuvante Chemotherapie, 13 Patienten wurden neoadjuvant therapiert, um eine Verkleinerung der Tumormasse zu erreichen.

Bei 57 Patienten war bereits eine adjuvante Chemotherapie nach Operation des Primärtumors erfolgt. Bei 49 Patienten wurde weder nach Resektion des Primärtumors noch nach Resektion der Lebermetastase eine Chemotherapie durchgeführt (Tabelle 6).

**Tabelle 6: Verteilung der Chemotherapie**

<b>Chemotherapie</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Adjuvant</b>	28	26
<b>Neoadjuvant</b>	13	12
<b>Nach Operation d. Primarius</b>	57	52.7
<b>Keine Chemotherapie</b>	49	45

### **3.1.5 Eigenschaften des Primärtumor**

Eigenschaften des Primärtumors wurden aus vorangegangenen Operationsberichten und histopathologischen Befunden der Krankenakten ermittelt. Bei 70 Patienten (65%) lag ein

Adenokarzinom des Kolons vor, wohingegen 38 Patienten (35%) an einem Rektumkarzinom erkrankt waren.

Der Primärtumor wurde in der vorliegenden Patientenkohorte bei 22 Patienten (20,3%) in einem frühen Stadium diagnostiziert und operiert (UICC I+II). In 37 Fällen (34%) befand sich der Primärtumor bereits im Stadium der Überschreitung der Organgrenzen (UICC III). Der größte Teil der Patienten (45,4%) hatte zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits Fernmetastasen und wurde somit in das UICC-Stadium IV eingestuft (Tabelle 7).

**Tabelle 7: Primärtumor und Metastaseneigenschaften**

<b>Faktor</b>	<b>Kategorie</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>UICC Stadium (Primärtumor)</b>	I	5	4,6
	II	17	15,7
	III	37	34,3
	IV	49	45,4
<b>Metastasen-Lokalisation</b>	re LL	56	51,9
	li LL	26	24,1
	bilobulär	26	24,1
<b>Metastasen-Anzahl</b>	1	64	59,2
	>1	44	40,8
<b>Größte Metastase</b>	bis 2,5cm	31	28,7
	bis 5cm	45	41,7
	bis 10cm	24	22,2
	>10cm	8	7,4
<b>Größte Metastase</b>	<5cm	76	70,4
	>5cm	32	29,6
<b>Metastasengröße pro Patient:</b>	47,76mm (5-160 mm)		

### **3.1.6 Charakteristika der Lebermetastasen**

Insgesamt war der rechte Leberlappen häufiger von Metastasen befallen als der linke (52% gegenüber 24%). In 24% der Fälle lagen bilobuläre KRLM vor. Die durchschnittliche Metastasengröße lag bei 48 mm (5 mm bis 160 mm) (Tabelle 7).

Bei 64 Patienten lag eine singuläre Metastase vor, wohingegen bei 44 Patienten multiple (bis max. 8) Metastasen vorlagen. Pro Patient wurden durchschnittlich 2,5 Metastasen gefunden und reseziert.

### **3.1.7 Überlebensdaten und Nachsorgedaten**

Die Nachsorgeuntersuchungen erstreckten sich bis Ende 2008, beziehungsweise bis zum Zeitpunkt des Todes der betroffenen Patienten. Die mittlere Nachsorgezeit betrug 33,7 Monate (1-111 Monate). Das mittlere Überleben aller Patienten lag bei 41 Monaten.

Insgesamt starben 59 von 108 Patienten (55%) an ihrem Tumorleiden, davon verstarben vier Patienten postoperativ im Krankenhaus (bzw. innerhalb eines Monats).

Daten zum Auftreten eines Rezidivs konnten größtenteils allein den Angaben der Hausärzte entnommen werden und sind somit nicht bei allen Patienten vorhanden. 59 Patienten (54,6%) entwickelten ein intra- oder extrahepatisches Rezidiv. Dabei blieben die neu aufgetretenen Metastasen bei circa einem Drittel der Patienten (n=22) auf die Leber beschränkt, bei über der Hälfte (n=37) traten Rezidive auch extrahepatisch auf. Zehn Patienten wurden aufgrund erneut aufgetretener Metastasen an der Leber im weiteren Verlauf ein zweites Mal operiert.

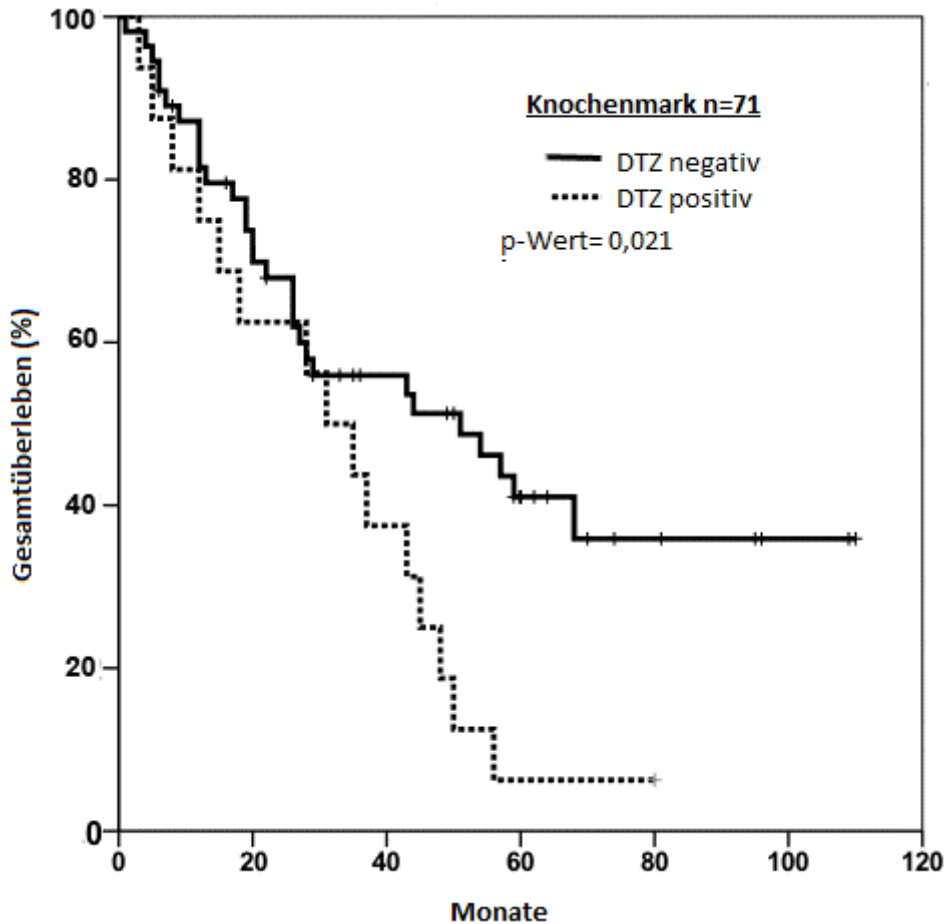
## **3.2 Ergebnisse der Univarianzanalyse**

### **3.2.1 Einfluss disseminierter Tumorzellen**

Mit Hilfe der Univarianzanalyse wurde der Einfluss verschiedener Faktoren auf das Gesamtüberleben der Patienten analysiert (Tabelle 8).

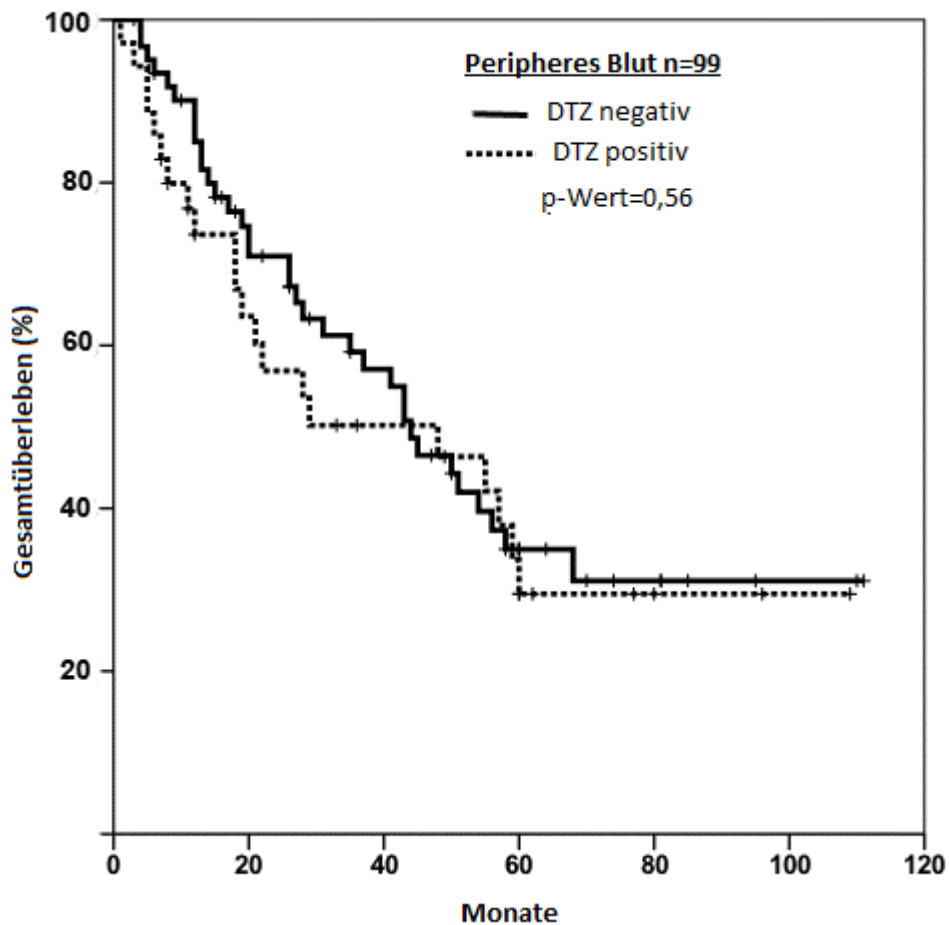
Bei Detektion von DTZ im Knochenmark war das mittlere Überleben dieser Patienten signifikant kürzer. Bei negativem Knochenmarkbefund beträgt das mittlere Überleben 45 Monate, im Gegensatz zu 22 Monaten bei CK20 positiven Patienten ( $p = 0,021$ ) (Abbildung 1).





**Abbildung 1: Kaplan-Meier-Überlebens-Kurve: DTZ im Knochenmark**

Der Nachweis von Tumorzellen im peripheren Blut hat hingegen keinen signifikanten Einfluss auf das Patientenüberleben ( $p=0,56$ ) (Abbildung 2). Bis 40 Monate postoperativ wird allenfalls ein Trend deutlich. Das mittlere Überleben der Patienten mit CK-20 negativen Status beträgt lediglich 5 Monate mehr als das der Patienten mit positivem Status (50 vs. 55 Monate).



**Abbildung 2: Kaplan-Meier-Überlebenskurve: DTZ im peripheren Blut**

Von 47 (im Blut) CK-20 positiven Patienten hatten 8 Patienten auch gleichzeitig einen positiven Knochenmarkbefund. Vergleicht man nun diese Gruppe mit Patienten, bei denen weder im Blut noch im Knochenmark DTZ nachgewiesen wurden, so zeigt sich eine Diskrepanz im mittleren Überleben von 25 zu 55 Monaten. Dieser Unterschied ist von prognostischer Signifikanz ( $p=0,05$ ) (Abbildung 3).

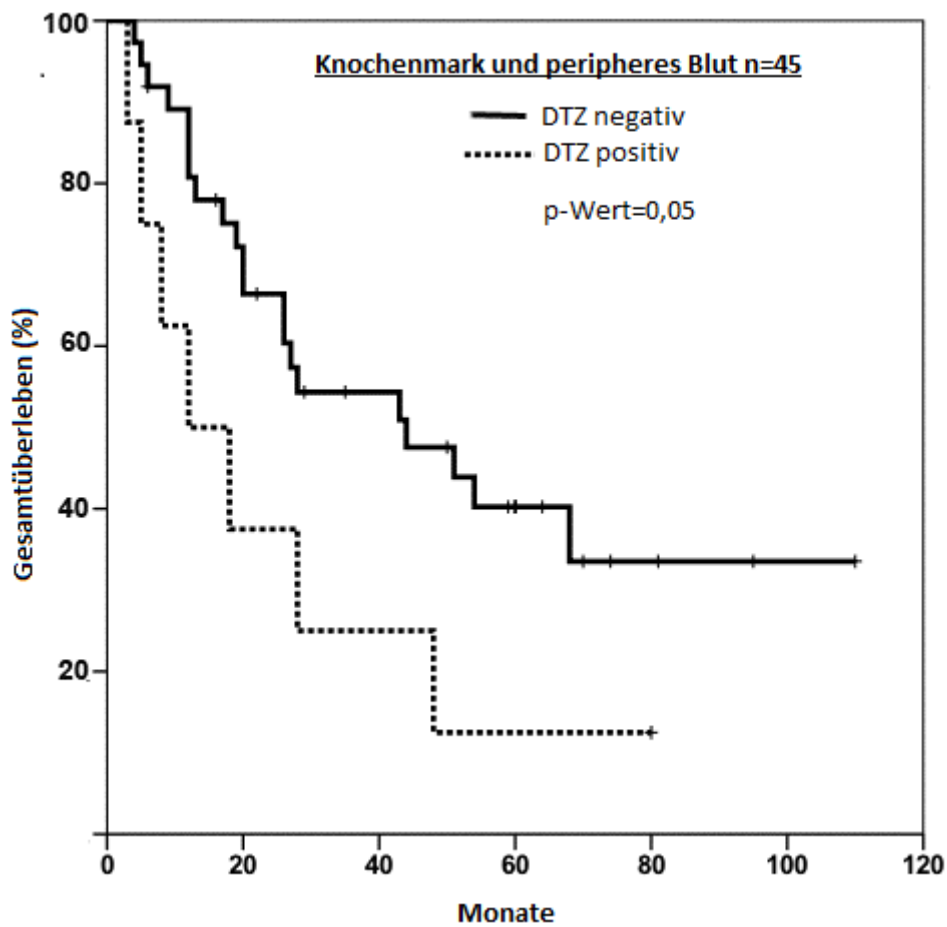


Abbildung 3: Kaplan-Meier-Überlebenskurve: DTZ in KM und peripherem Blut

### 3.2.2 Weitere Einflussfaktoren auf das Gesamtüberleben

Neben den DTZ wurde auch der Einfluss anderer Faktoren auf das Patientenüberleben mithilfe der Univarianzanalyse getestet. Die wichtigsten werden in Tabelle 8 zusammengefasst.

**Tabelle 8: Univarianzanalyse einiger Einflussfaktoren auf das Gesamtüberleben**

<b>Faktor</b>	<b>Kategorie</b>	<b>N</b>	<b>mittl. Überleben (Monate)</b>	<b>P-Wert</b>
<b>Knochenmark*</b>	Positiv	16	22	0,021
	Negativ	55	45	
<b>Peripheres Blut*</b>	Positiv	35	50	0,56
	Negativ	64	55	
<b>Knochenmark und peripheres Blut *</b>	Positiv	8	25	0,05
	Negativ	37	55	
<b>UICC Stadium Primärtumor</b>	I/II	22	51	0,101
	III/IV	86	31	
<b>Metastasengröße</b>	≤ 5cm	76	44	0,27
	> 5cm	32	22	
<b>Anzahl der Metastasen</b>	1	64	50	0,111
	>1	44	28	
<b>Lokalisation der Metastasen</b>	Unilateral	82	44	0,08
	Bilateral	26	21	
<b>Resektionsstatus</b>	R0	97	54	0,001
	R1	11	18	
<b>Resektionsausmaß</b>	Major	71	28	0,608
	Minor	37	51	
<b>EK-Transfusion intraop.</b>	Ja	42	26	0,138
	Nein	66	50	

<b>Komplikationen postop.</b>	Ja	49	26	0,110
	Nein	59	50	
<b>EK-Transfusion postop.</b>	Ja	34	21	0,001
	Nein	74	54	
<b>Aufenthalt ICU</b>	<4 Tage	86	45	0,002
	>4 Tage	22	18	
<b>Resektionszeitpunkt</b>	Synchron	22	21	0,108
	Metachron	86	43	
<b>Fong Score</b>	0-2: niedrig	73	44	0,079
	3-5: hoch	35	22	

\* Detektion der Tumorzellen mit CK20 RT-PCR

Dabei ist als wichtiger Einflussfaktor der Resektions-Status (R-Status) zu nennen. Bestand bei einem Patienten nach operativem Eingriff eine R1 Situation, so ist seine Prognose signifikant schlechter ( $p=0,001$ ). Das mittlere Überleben beträgt dann nur 18 Monate gegenüber 54 Monaten bei Patienten mit R0 Situation.

Als weiterer Einflussfaktor wurde das Stadium des Primärtumors zum Zeitpunkt der Operation getestet. Dieses ist bekanntlich für den weiteren Krankheitsverlauf von entscheidender Bedeutung. Die Überlebenskurven hierzu zeigen einen Unterschied im Langzeitüberleben der zwei Gruppen: Patienten, bei denen das kolorektale Karzinom in einem frühen Stadium entdeckt wurde (UICC I/II), haben ein längeres mittleres Überleben als Patienten deren Primärtumor im Stadium der Überschreitung der Organgrenzen oder der Metastasierung entfernt wurde (UICC Stadium III/IV). Allerdings ist dieser Unterschied nicht signifikant ( $p=0,101$ ) (Tabelle 8).

Hinsichtlich der Lebermetastasen-Charakteristika ergeben sich keine eindeutigen Ergebnisse (Tabelle 8). Sowohl Lokalisation, Größe als auch Anzahl der Metastasen unterscheiden sich in diesem Patientenkollektiv hinsichtlich des Überlebens. Diese Werte erreichen aber keine statistische Signifikanz und können somit allenfalls als Trend gewertet werden.

Überschreitet die größte resezierte Metastase jedoch einen Durchmesser von 5 cm, so ist das mittlere Überleben der Patienten mit 22 Monaten deutlich kürzer ( $p=0,27$ ).

Werden multiple Metastasen diagnostiziert und entfernt so haben diese Patienten ebenfalls eine schlechtere Prognose als Patienten mit singulärer Metastase (28 vs 50 Monate,  $p=0,11$ ).

Das Ausmaß der Resektion (major oder minor) hatte keine entscheidende Auswirkung auf das mittlere Überleben der Patienten.

Intraoperativ wurde die EK-Transfusion als Zeichen einer Blutungskomplikation gewertet. Patienten, die intraoperativ transfundiert wurden, also einen größeren Blutverlust erlitten, zeigten ein schlechteres Überleben als die restlichen Patienten (26 vs 50 Monate,  $p=0,60$ ).

Zu weiteren prognoseverschlechternden Faktoren zählen ein Aufenthalt auf der Intensivstation von über vier Tagen, sowie die Gabe von Erythrozytenkonzentraten nach der Operation (Tabelle 8). Patienten mit postoperativen Komplikationen hatten zwar eine schlechtere Prognose als Patienten mit komplikationsfreiem Verlauf (50 vs 26 Monate), diese blieb jedoch ohne Signifikanz ( $p=0,10$ ).

### ***3.2.3 Chemotherapie und Nachweis von disseminierten Tumorzellen***

Die Durchführung einer Chemotherapie könnte dafür verantwortlich sein, dass DTZ im Blut oder im Knochenmark eliminiert wurden. Daher wurde der Zusammenhang zwischen dem Nachweis von DTZ und der Durchführung einer Chemotherapie untersucht. Bei insgesamt 41 Patienten wurde eine Chemotherapie durchgeführt. Es fand sich keine signifikante Korrelation zwischen einer chemotherapeutischen Behandlung nach Resektion des Primärtumors (KRK) und dem Auftreten von DTZ im Blut ( $p=0,16$ ) oder im Knochenmark ( $p=1,0$ ) (Fisher Exakt Test). Auch die Durchführung einer neoadjuvanten Chemotherapie vor Lebermetastasenresektion korreliert nicht mit dem Auftreten von DTZ. (zweiseitiger Fisher Exakt Test: Blut  $p=0,23$ ; KM  $p=0,35$ ).

Weder die Durchführung einer adjuvanten Chemotherapie, nach Resektion des Primärtumors, noch die Anwendung einer neoadjuvante Chemotherapie vor Resektion der KRLM haben einen signifikanten Einfluss auf das Gesamtüberleben in der univarianten Analyse.

### **3.3 Anwendung des Fong-Risikoscores am Patientenkollektiv**

Der Risikoscore von Fong, welcher Patienten mit einem hohen Rezidivrisiko ermittelt, wurde an dem vorliegenden Patientenkollektiv getestet. Es zeigte sich, dass Patienten mit einem hohen Risikoscore von über drei von fünf Punkten ein deutlich schlechteres Gesamtüberleben haben als Patienten mit weniger Risikofaktoren. Das Ergebnis ist nicht signifikant ( $p=0,079$ ), es zeigt sich aber ein deutlicher Trend im Langzeitüberleben. (22 vs. 44 Monate). Es konnte

kein signifikanter Zusammenhang zwischen einem hohen Fong-Score und dem Auftreten von DTZ im Knochenmark (zweiseitiger Fisher Exakt Test:  $p=1,00$ ) oder im Blut (zweiseitiger Fisher Exakt Test:  $p=0,52$ ) gezeigt werden.

### 3.4 Ergebnisse der multivariaten Analyse

Nachdem der Einfluss einzelner Faktoren mittels univariater Analyse auf das Überleben der Patienten getestet wurde, folgt nun die Betrachtung mehrerer Variablen in der Cox-Regressionsanalyse.

Patienten, bei denen sowohl ein CK-20 PCR Status des peripheren Blutes als auch des Knochenmarks vorlag, wurden in die Auswertung einbezogen ( $n=75$ ).

Folgende Variablen wurden im multivariaten Modell hinsichtlich ihres unabhängigen Einflusses auf das Patientenüberleben getestet:

- DTZ im peripheren Blut
- DTZ im KM
- Lokalisation der Metastase
- Resektionsstatus

Als einziger unabhängiger prognostischer Faktor wurde die Variable „Disseminierte Tumorzellen im Knochenmark“ bestimmt. Alle anderen Faktoren wurden im Regressionsmodell schrittweise eliminiert.

Mit einer Hazard Ratio von 1,91 ist das Risiko, der im Knochenmark CK-20 positiven Patienten, zu versterben, erhöht ( $p=0,038$ ). Der Nachweis von DTZ im Knochenmark ist damit ein unabhängiger Risikofaktor für ein schlechteres Gesamtüberleben (Tabelle 9).

**Tabelle 9: Multivariate Cox Regressionsanalyse unabhängiger prognostischer Faktoren (n=75)**

Faktor	Kategorie	Hazard ratio	95% CI*	P Wert
<b>Knochenmark**</b>	positiv vs. negativ	1,91	1,03 - 3,52	0,038

\* CI Konfidenzintervall

\*\* Tumorzelldetektion mit CK20 RT-PCR

## 4. Diskussion

Geht es um die Behandlung des hepatisch metastasierten kolorektalen Karzinoms ist die chirurgische Resektion seit langem die Therapie der Wahl. Durch zunehmend bessere

operative Möglichkeiten und damit abnehmender intraoperativer Mortalität sind Metastasenresektionen mittlerweile ein sicheres Mittel, um das Überleben der Erkrankten zu verlängern. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass die Rezidivrate auch nach kurativer Resektion mit 75% intra- oder extrahepatischen Rezidiven weiterhin sehr hoch und trotz multidisziplinärer Therapieansätze schwer beherrschbar ist (Fong *et al.*, 1999).

Es ist bereits bekannt, dass verschiedene Faktoren Einfluss auf das postoperative Überleben nehmen können. Hierzu zählen Charakteristika des Primärtumors und des Patienten, genauso wie Eigenschaften der Metastasen und die chirurgische Situation (Koch *et al.*, 2005). Diese Einflussfaktoren wurden bereits in zahlreichen Studien auf ihre Aussagekraft hin untersucht. Als wichtigste Faktoren sind hierbei zu nennen: ein positiver Lymphknotenstatus des Primärtumors, hohe Anzahl bzw. Größe der Metastasen sowie ein hoher CEA-Wert. Auch ein tumorzellbesetzter Resektionsrand, sowie mehrere Bluttransfusionen werden für ein kürzeres Überleben der Patienten verantwortlich gemacht (Ohlsson *et al.*, 1998).

Dabei entstanden Systeme, die es dem verantwortlichen Chirurgen einfacher machen sollten, in Frage kommende Patienten auszuwählen, bzw. diejenigen zu selektieren, die nicht von einer Operation profitieren würden.

Beispiele für einen Risikoscore dieser Art ist der „Clinical Risk Score“ nach Fong (Fong *et al.*, 1999) (siehe Kapitel 1.4.). Dieses Punktesystem wurde an einem Patientenkollektiv mit 1001 Patienten entwickelt und etabliert. Wichtige Einflussfaktoren auf das Patientenüberleben sind, laut Fong, auch Größe und Anzahl der Metastasen. In der vorliegenden Studie haben diese Variablen jedoch keinen signifikanten Einfluss auf das postoperative Patientenüberleben. Ursächlich hierfür könnte die geringere Fallzahl sein.

Es lässt sich festhalten, dass die Variablen des „Clinical Risk Scores“ klinisch relativ einfach zu ermitteln sind. Allerdings ist das exakte individuelle Risiko des einzelnen Patienten schwer abschätzbar (Koch *et al.*, 2005). Molekulare Eigenschaften des Primärtumors/ der Metastase werden hierbei eben so wenig berücksichtigt, wie eine mögliche Mikrometastasierung des Primärtumors.

Dabei ist aus Studien mit anderen Tumorentitäten bekannt, dass Mikrometastasierung in Form von disseminierten Tumorzellen in Zusammenhang mit dem Auftreten von Metastasen und Rezidiven stehen können (Cote *et al.*, 1991).

Die Ausschüttung von Tumorzellen vom Primärtumor ist eine Voraussetzung für die Entwicklung von Fernmetastasen (Engell, 1959; Rahbari *et al.*, 2010). Diese Erkenntnis konnte schon vor einiger Zeit gewonnen werden (siehe Kapitel 1.6).



Gemäß der sogenannten „seed and soil“ Hypothese sind an der Entwicklung von der Tumorzelle zur Metastase jedoch auch andere Faktoren beteiligt (Fidler, 2003). Der alleinige Nachweis der Tumorzelle beispielsweise im Knochenmark bedeutet keinesfalls die Entstehung einer Metastase in diesem Kompartiment.

Bereits im Jahre 1978 konnte Fidler nachweisen, dass die Entstehung einer Metastase als der Endpunkt vieler destruktiver Prozesse zu verstehen ist, den nur sehr wenige Tumorzellen überleben (Fidler, 2003). An einem klinischen Model konnte er zeigen, dass 24 Stunden nach der Ausschüttung von Tumorzellen nur noch 0,1% der Zellen lebensfähig sind und davon nur ein Zehntel in der Lage ist, Metastasen zu bilden. Insgesamt ist die Erfolgsrate zirkulierender Tumorzellen also sehr niedrig. Ursache sind verschiedene Immunmechanismen, die die einzelnen Zellen inaktivieren, sobald sie den Tumorverband verlassen (Pantel & Brakenhoff, 2004). Im Organismus kann es bereits bei der Entstehung des Primärtumors zur Ausschüttung der Tumorzellen kommen (Eyles *et al.* 2010). Auch bei intraoperativer Manipulation an einer Lebermetastase werden Tumorzellen in die Blutbahn ausgeschüttet (Koch *et al.*, 2005). Gelangen die Zellen in den Blutkreislauf, so werden sie bei den meisten soliden Tumoren bis ins Knochenmark transportiert. Hier können die Tumorzellen monatelang verweilen, bis sie erneut in die Blutbahn gelangen um sich in anderen Organen zu Metastasen zu entwickeln (Prinzip der schlafenden Tumorzelle) (Pantel *et al.*, 2009).

Beim kolorektalen Karzinom treten Knochenmarks-Metastasen relativ selten auf und trotzdem unterscheiden sich die Detektionsraten DTZ im Knochenmark nicht von anderen Tumorentitäten (Pantel *et al.*, 2009). Diese Tatsache unterstützt die oben aufgeführte Theorie der „schlafenden Tumorzelle“. Obwohl kaum unmittelbare Knochenmarkmetastasen zu befürchten sind, eignet sich der Nachweis von DTZ als prognostischer Marker bei Patienten mit KRK. Die im Knochenmark vorhandenen DTZ könnten eventuell auch als „Metastatische Stammzelle“ bezeichnet werden.

Als Nachweismethode dienen die Immunzytochemie oder die RT-PCR. In der vorliegenden Studie wurde die CK-20 Expression, ein etablierter epithelialer Marker, genutzt um Tumorzellen in zwei unterschiedlichen Kompartimenten nachzuweisen.

Seit kurzem existiert die Theorie der mesenchymalen zu epithelialien Transition: Bevor sich Tumorzellen vom Primärtumor lösen, kann es zu einer Veränderung der Oberfläche kommen. Einige potentielle Mikrometastasen tragen das zu ihrer Detektion verwendete Oberflächenantigen CK-20 nicht, und könnten somit in der RT-PCR nicht erkannt werden (Christiansen & Rajasekaran, 2006; Krebs *et al.*, 2010).

Da es sich hierbei um einen sehr geringen prozentualen Anteil der Tumorzellen handelt, wurde diese theoretische Annahme hier jedoch nicht weiter berücksichtigt. Wie bereits erwähnt, hat sich der Nachweis der CK-20 Expression auf der Zelloberfläche mehrfach als Marker mit großer Sensitivität und Spezifität bewährt (Soeth *et al.*, 1997).

Mit Hilfe eines immunzytochemischen Verfahrens (CellSearch Systems) kann auch die absolute Anzahl DTZ im Blut bestimmt werden. Cohen (Cohen *et al.*, 2009) konnte einen Zusammenhang zwischen der Anzahl DTZ (im peripheren Blut) und der Überlebenserwartung der Patienten mit KRK darstellen. Nach dieser Studie besteht eine, vom Tumorstadium abhängige, Detektionsrate der DTZ.

Mittlerweile bemüht man sich in vielen Zentren die Methoden zur Bestimmung DTZ zu standardisieren. Diese Maßnahmen könnten den Vergleich unterschiedlicher Studienergebnisse vereinfachen.

Der Einfluss DTZ auf das Überleben bei Patienten mit KRK wurde in einer Metaanalyse erst kürzlich erneut hervorgehoben. Der Nachweis DTZ im peripheren Blut bei Patienten mit KRK hat eine signifikant schlechtere Prognose des Gesamtüberlebens zur Folge (Rahbari *et al.*, 2010). Hierzu wurden 36 Studien mit 3094 Patienten im UICC Stadium I-III analysiert.

Lässt sich dieser Zusammenhang auch bei Patienten mit bereits metastasiertem KRK darstellen? Ist die Detektion CK-20 positiver Zellen auch bei diesen Patienten ein prognostisch schlechter Marker? In der Beantwortung dieser Fragen lag das Ziel der vorliegenden Studie. Als Kompartimente in denen CK-20 positive Zellen nachgewiesen wurden, dienten sowohl peripheres Blut als auch Knochenmark.

Als wichtigstes Ergebnis dieser Studie lässt sich festhalten: Der Nachweis disseminierter Tumorzellen im Knochenmark ist ein negativer prognostischer Faktor für Patienten mit KRK vor Resektion der LM und wirkt sich nachteilig auf das Überleben aus. Sowohl in der Uni- als auch in der Multivarianzanalyse ist der positive Knochenmarkstatus ein signifikanter Einflussfaktor.

Bei genauer Betrachtung der Kaplan-Meier Kurven (Abbildung 1, S.33) kann man eine Besonderheit erkennen: bis 24 Monate nach der Operation unterscheidet sich das Überleben positiver und negativer Patienten nur unwesentlich. Erst nach zwei Jahren versterben wesentlich mehr CK-20 positive Patienten an den Folgen der Tumorerkrankung. Man könnte also annehmen, dass der Nachweis disseminierter Tumorzellen im Knochenmark der Identifizierung von Patienten dient, die ein spätes Rezidiv erleiden. Diese Annahme passt wiederum zu dem Konzept der „schlafenden Tumorzelle“. Die Tumorzellen sind zwar

nachweisbar, entwickeln sich jedoch erst im richtigen Milieu und bei Vorhandensein entsprechender Umweltfaktoren zur Metastase.

In der Literatur gibt es ähnliche Resultate: Beispielsweise konnten Weitz und Kollegen beweisen, dass der Nachweis disseminierter Tumorzellen im Knochenmark vor einer Lebermetastasenresektion zu einer Verkürzung des rezidivfreien Überlebens führt (Weitz *et al.*, 1999).

Weiterhin wurde in der vorliegenden Studie der Einfluss CK-20 positiver Zellen im peripheren Blut untersucht: Der Nachweis der Zellen im Blut führt zwar ebenfalls zu einer kürzeren mittleren Überlebenszeit, allerdings ohne statistische Signifikanz in der Univarianzanalyse. Anders verhält es sich mit Patienten, bei denen Tumorzellen sowohl im Blut als auch im KM gefunden wurden: ein doppelt positiver Tumorzellstatus führt zu einer signifikant schlechteren Prognose des Gesamtüberlebens. Hinsichtlich dieses Ergebnisses finden sich keine Vergleiche in der Literatur.

Weitere Fragen, die sich in diesem Zusammenhang stellen sind folgende: Eignet sich der Nachweis DTZ besonders im KM zum Therapie-Monitoring, wie etwa bei der Therapie des Mammakarzinoms? Das würde voraussetzen, dass DTZ auf die Chemotherapie ansprechen und unter der Therapie zunehmend weniger nachweisbar sind. Hierzu finden sich zur Zeit Studien mit widersprüchlichen Ergebnissen: Staritz und Kollegen (Staritz *et al.*, 2004) schreiben dem Nachweis DTZ keinen Nutzen im Therapie-Monitoring zu: Bei Patienten mit KRK wurde vor und während der Chemotherapie DTZ im Blut mittels CK-20 RT-PCR detektiert. Dabei zeigte sich ein Anstieg der Tumorzellen im Blut und im KM während der Chemotherapie, vor allem bei Patienten deren Lebermetastasen besonders gut auf die Chemotherapie ansprachen.

In anderen, multizentrischen Studien konnte jedoch bei Patienten mit fortgeschrittenem KRK und nicht resektablen Metastasen ein eindeutiger Zusammenhang während der Chemotherapie zwischen Tumorzelllast im Blut und Gesamtüberleben, bzw. rezidivfreiem Überleben hergestellt werden (Cohen *et al.*, 2009; Tol *et al.*, 2010). Die Konzentration der Tumorzellen vor und vor allem kurz nach Beginn der Chemotherapie war ein starker, unabhängiger Einflussfaktor auf das Überleben der Patienten. Der Nachweis der Tumorzelllast erfolgte hier jedoch mit Hilfe des oben genannten CellSearch Systems. Die Ergebnisse dieser Studien weisen die ersten Schritte in Richtung „personalisierte Medizin“. Diese ermöglicht auch in der Behandlung des KRK eine individuelle Anpassung der Chemotherapie an das molekularbiologische Verhalten des Tumors.

In der vorliegenden Studie hat eine Chemotherapie weder Einfluss auf die Detektion von Tumorzellen noch auf das Gesamtüberleben. Für künftige Therapiekonzepte kann es vorteilig sein, Patienten mit DTZ zu identifizieren und Strategien zu entwerfen, diese potentiellen Mikrometastasen zu bekämpfen. Die Detektion von DTZ eignet sich, das konnte in dieser und anderen Studien belegt werden, zur prognostischen Einschätzung und könnte ggf. bestehende Stagingssysteme ergänzen. So findet beispielsweise der Nachweis von DTZ im Blut oder Knochenmark bereits Berücksichtigung in der TNM Klassifikation für das Mammakarzinom. Allerdings fehlt bisher für den Nachweis von DTZ beim KRK eine Standardisierung der Messmethoden.

Insgesamt zeichnet sich eine an Bedeutung zunehmende diagnostische Aussagekraft der disseminierten Tumorzellen beim KRK ab. Dieses könnte dazu führen, dass man sich in Zukunft entscheidet, Patienten mit einer hoher Tumorzelllast in jedem Fall einer systemischen Therapie zu unterziehen, trotz makroskopisch vollständig entfernten Metastasen. Für die Etablierung von Therapieempfehlungen sind allerdings noch zusätzliche klinische Studien notwendig.

Im Gegensatz zur starken prognostischen Aussagekraft der DTZ zu Beginn der Therapie steht ihre prognostische Qualität während einer systemischen Therapie: Da sich einige Zellen im Ruhestadium befinden und somit den heute gängigen Chemotherapeutika nicht zugänglich sind (Braun *et al.*, 2000; Slade *et al.*, 2005), lässt sich der Erfolg der Therapie nicht an dem Vorhandensein von Tumorzellen ermitteln. Letztendlich lässt vermutlich nur die Konzentration von DTZ eine prognostische Aussage zu (Tol *et al.*, 2010).

Mit dem Wissen um die „schlafenden Tumorzellen“, die sich häufig im Knochenmark befinden, konnten allerdings in der Therapie des Mammakarzinoms schon erste Erfolge mit dem Bisphosphonat Zolendronat verzeichnet werden. In einer klinischen Phase 2 Studie mit lokal fortgeschrittenen Brustkrebspatientinnen konnte gezeigt werden, dass neoadjuvante Behandlung mit Zolendronat in Kombination mit systemischer Chemotherapie den Anteil der Patientinnen mit DTZ im KM verringern kann (Aft *et al.*, 2010). Diese Ergebnisse unterstützen die These, dass Zolendronat das Wachstum von Tumorzellen im KM vermindert, so wie es auch *in vitro* einen direkten zytostatischen Effekt auf Tumorzellen hat.

Ob diese Resultate auch auf andere Tumorentitäten, wie das KRK, übertragbar sind, lässt sich zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht sagen.

## 5. Zusammenfassung

Bei einem Großteil der Patienten mit kolorektalem Karzinom kommt es nach operativer Entfernung der Lebermetastasen zu intra- oder extrahepatischen Rezidiven. Dabei wird vermutet, dass Tumorzellen, die vor der Operation in Blut oder Knochenmark nachgewiesen werden können, einen Einfluss auf das Entstehen dieser Rezidive haben.

Bisher ist die diagnostische Aussagekraft dieser disseminierten Tumorzellen allerdings unklar.

Zentrale Frage dieser Arbeit war, ob es einen nachweisbaren Einfluss disseminierter Tumorzellen auf das Patientenüberleben gibt. Desweiteren sollten klinische und onkologische Parameter hinsichtlich ihres Einflusses auf das Patientenüberleben getestet werden.

Dazu wurde zwischen 1999 und 2008 bei 108 Patienten vor Resektion der kolorektalen Lebermetastasen Blut und Knochenmarkproben entnommen. Mittels Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion, eine in diesem Haus bereits etablierte Methode, wurden disseminierte Tumorzellen nachgewiesen. Klinische Daten wurden prospektiv ermittelt und der Einfluss der Variablen auf das Gesamtüberleben der Patienten analysiert. Allein Patienten mit R0 oder R1 resezierten Metastasen wurden erfasst.

Primärer Endpunkt der Studie war das Gesamtüberleben gemessen vom Zeitpunkt der Lebermetastasenresektion, wobei alle eingetretenen Todesfälle tumorbedingt waren.

Präoperativ wurden jedem Patienten sowohl zentralvenöses Blut als auch Knochenmark entnommen. Insgesamt konnten so 106 Blut-, sowie 78 KM-Proben gewonnen werden. Mittels RT PCR wurde anschließend das Vorhandensein disseminierter Tumorzellen ermittelt, welche das Zytokeratin 20 auf ihrer Oberfläche trugen.

Das mittlere Überleben aller Patienten lag bei 41 Monaten, 60% der Patienten verstarben im Beobachtungszeitraum an ihrem Tumorleiden. Primäres Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss disseminierter Tumorzellen auf das Gesamtüberleben der Patienten zu ermitteln. Als wichtigstes Ergebnis zeigte sich, dass der Nachweis DTZ im Knochenmark mit einer signifikant schlechteren Prognose ( $p=0,021$ ) der Patienten einhergeht.

Patienten mit positivem Knochenmarkbefund hatten ein um 23 Monate kürzeres mittleres Überleben als Patienten mit unauffälligem Knochenmark. Auch in der Multivarianzanalyse war ein positiver Knochenmarkbefund ein unabhängiger Einflussfaktor auf das Patientenüberleben.

In vorangegangenen Studien mit kleineren Patientenzahlen wurde der Nachweis disseminierter Tumorzellen bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen bereits mit einem verkürzten krankheitsfreien Intervall in Zusammenhang gebracht. Nun konnte in dieser bislang größten Studie nachgewiesen werden, dass die präoperative Detektion DTZ im Knochenmark einen Einfluss auf das Gesamtüberleben der Patienten hat.

Als ein weiterer signifikanter Einflussfaktor zeigte sich der Resektionsrand: Konnte postoperativ in der histopathologischen Untersuchung eine R0 Situation nachgewiesen werden, so lebten die Patienten im Schnitt 36 Monate länger als Patienten mit einer R1 Situation ( $p= 0,001$ ).

Größe, Anzahl und Lokalisation der Metastasen hatten im Gesamtkollektiv keinen signifikanten Einfluss auf das mittlere Überleben.

Zu diskutieren bleibt der therapeutische Nutzen um das Wissen des negativen Einflusses der disseminierten Tumorzellen. Es ist mittlerweile bekannt, dass Mikrometastasen durch (neo-) adjuvante Chemotherapie nicht vollständig inaktiviert werden können, da sie sich vermutlich in einem Ruhezustand befinden, der sie immun gegen das Angreifen der Chemotherapeutika macht. So ist erklärbar, dass es in einigen Fällen trotz R0 Resektion der Metastasen und adjuvanter Chemotherapie zur erneuten Manifestation von Leber- oder Fernmetastasen kommt. Nur durch den Einsatz bzw. die Entwicklung neuer systemischer Therapien kann die Entstehung potentieller Metastasen aus disseminierten Tumorzellen künftig verhindert werden. Hierbei wird die Identifizierung von Risikopatienten mit positivem DTZ-Status sicherlich an Bedeutung gewinnen.

## 6. Literaturverzeichnis

- Abdalla, E. K., Adam, R., Bilchik, A. J., Jaeck, D., Vauthey, J. N., & Mahvi, D. (2006). Improving resectability of hepatic colorectal metastases: Expert consensus statement. *Ann Surg Oncol*, 13(10), 1271-1280.
- Abdalla, E. K., Barnett, C. C., Doherty, D., Curley, S. A., & Vauthey, J. N. (2002). Extended hepatectomy in patients with hepatobiliary malignancies with and without preoperative portal vein embolization. *Arch Surg*, 137(6), 675-680; discussion 680-671.
- Abulkhair, A., Limongelli, P., Healey, A. J., Damrah, O., Tait, P., Jackson, J., et al. (2008). Preoperative portal vein embolization for major liver resection: A meta-analysis. *Ann Surg*, 247(1), 49-57.
- Adam, R., Avisar, E., Ariche, A., Giachetti, S., Azoulay, D., Castaing, D., et al. (2001). Five-year survival following hepatic resection after neoadjuvant therapy for nonresectable colorectal. *Ann Surg Oncol*, 8(4), 347-353.
- Adam, R., Hoti, E., Folprecht, G., & Benson, A. B. (2009). Accomplishments in 2008 in the management of curable metastatic colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res*, 3(5 Supplement 2), S15-22.
- Adson, M. A., van Heerden, J. A., Adson, M. H., Wagner, J. S., & Ilstrup, D. M. (1984). Resection of hepatic metastases from colorectal cancer. *Arch Surg*, 119(6), 647-651.
- Aft, R., Naughton, M., Trinkaus, K., Watson, M., Ylagan, L., Chavez-MacGregor, M., et al. (2010). Effect of zoledronic acid on disseminated tumour cells in women with locally advanced breast cancer: An open label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 11(5), 421-428.
- Alberts, S. R., Roh, M. S., Mahoney, M. R., O'Connell, M. J., Nagorney, D. M., Wagman, L., et al. (2010). Alternating systemic and hepatic artery infusion therapy for resected liver metastases from colorectal cancer: A north central cancer treatment group (ncctg)/ national surgical adjuvant breast and bowel project (nsabp) phase ii intergroup trial, n9945/ci-66. *J Clin Oncol*, 28(5), 853-858.
- Andre, T., Boni, C., Navarro, M., Tabernero, J., Hickish, T., Topham, C., et al. (2009). Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage ii or iii colon cancer in the mosaic trial. *J Clin Oncol*, 27(19), 3109-3116.

- Ashworth, T. (1869). A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *Med J.*, 14:146–149.
- Azoulay, D., Castaing, D., Smail, A., Adam, R., Cailliez, V., Laurent, A., et al. (2000). Resection of nonresectable liver metastases from colorectal cancer after percutaneous portal vein embolization. *Ann Surg*, 231(4), 480-486.
- Bengtsson, G., Carlsson, G., Hafstrom, L., & Jonsson, P. E. (1981). Natural history of patients with untreated liver metastases from colorectal cancer. *Am J Surg*, 141(5), 586-589.
- Bismuth, H., Houssin, D., & Castaing, D. (1982). Major and minor segmentectomies "reglees" in liver surgery. *World J Surg*, 6(1), 10-24.
- Braun, S., Kantenich, C., Janni, W., Hepp, F., de Waal, J., Willgeroth, F., et al. (2000). Lack of effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high-risk breast cancer patients. *J Clin Oncol*, 18(1), 80-86.
- Burchill, S. A., Bradbury, M. F., Pittman, K., Southgate, J., Smith, B., & Selby, P. (1995). Detection of epithelial cancer cells in peripheral blood by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Br J Cancer*, 71(2), 278-281.
- Capussotti, L., & Muratore, A. (2006). Neoadjuvant chemotherapy and resection of advanced synchronous liver metastases before treatment of the colorectal primary (br j surg) 2006; 93; 872-878. *Br J Surg*, 93(12), 1564; author reply 1564.
- Chang, A. E., Schneider, P. D., Sugarbaker, P. H., Simpson, C., Culnane, M., & Steinberg, S. M. (1987). A prospective randomized trial of regional versus systemic continuous 5-fluorodeoxyuridine chemotherapy in the treatment of colorectal liver metastases. *Ann Surg*, 206(6), 685-693.
- Choti, M. A., Sitzmann, J. V., Tiburi, M. F., Sumetchotimetha, W., Rangsri, R., Schulick, R. D., et al. (2002). Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. *Ann Surg*, 235(6), 759-766.
- Christiansen, J. J., & Rajasekaran, A. K. (2006). Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis. *Cancer Res*, 66(17), 8319-8326.
- Clavien, P. A., Sanabria, J. R., & Strasberg, S. M. (1992). Proposed classification of complications of surgery with examples of utility in cholecystectomy. *Surgery*, 111(5), 518-526.
- Clavien, P. A., Yadav, S., Sindram, D., & Bentley, R. C. (2000). Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans. *Ann Surg*, 232(2), 155-162.



- Cohen, S. J., Punt, C. J., Iannotti, N., Saidman, B. H., Sabbath, K. D., Gabrail, N. Y., et al. (2009). Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*, *20*(7), 1223-1229.
- Cote, R. J., Rosen, P. P., Lesser, M. L., Old, L. J., & Osborne, M. P. (1991). Prediction of early relapse in patients with operable breast cancer by detection of occult bone marrow micrometastases. *J Clin Oncol*, *9*(10), 1749-1756.
- Couinaud, C. (1952). [segmental and lobar left hepatectomies; studies on anatomical conditions.]. *J Chir (Paris)*, *68*(11), 697-715.
- Covey, A. M., Brown, K. T., Jarnagin, W. R., Brody, L. A., Schwartz, L., Tuorto, S., et al. (2008). Combined portal vein embolization and neoadjuvant chemotherapy as a treatment strategy for resectable hepatic colorectal metastases. *Ann Surg*, *247*(3), 451-455.
- Desch, C. E., Benson, A. B., 3rd, Somerfield, M. R., Flynn, P. J., Krause, C., Loprinzi, C. L., et al. (2005). Colorectal cancer surveillance: 2005 update of an american society of clinical oncology practice guideline. *J Clin Oncol*, *23*(33), 8512-8519.
- Dindo, D., Demartines, N., & Clavien, P. A. (2004). Classification of surgical complications: A new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg*, *240*(2), 205-213.
- Ekberg, H., Tranberg, K. G., Andersson, R., Lundstedt, C., Hagerstrand, I., Ranstam, J., et al. (1986). Determinants of survival in liver resection for colorectal secondaries. *Br J Surg*, *73*(9), 727-731.
- Elias, D., Sideris, L., Pocard, M., Ouellet, J. F., Boige, V., Lasser, P., et al. (2004). Results of r0 resection for colorectal liver metastases associated with extrahepatic disease. *Ann Surg Oncol*, *11*(3), 274-280.
- Engell, H. C. (1959). Cancer cells in the blood; a five to nine year follow up study. *Ann Surg*, *149*(4), 457-461.
- Eyles, J., Puaux, A. L., Wang, X., Toh, B., Prakash, C., Hong, M., et al. (2010). Tumor cells disseminate early, but immunosurveillance limits metastatic outgrowth, in a mouse model of melanoma. *J Clin Invest*, *120*(6), 2030-2039.
- Fernandez, F. G., Drebin, J. A., Linehan, D. C., Dehdashti, F., Siegel, B. A., & Strasberg, S. M. (2004). Five-year survival after resection of hepatic metastases from colorectal cancer in patients screened by positron emission tomography with f-18 fluorodeoxyglucose (fdg-pet). *Ann Surg*, *240*(3), 438-447; discussion 447-450.

- Fidler, I. J. (2003). The pathogenesis of cancer metastasis: The 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer*, 3(6), 453-458.
- Field, K., & Lipton, L. (2007). Metastatic colorectal cancer-past, progress and future. *World J Gastroenterol*, 13(28), 3806-3815.
- Folprecht, G., Grothey, A., Alberts, S., Raab, H. R., & Kohne, C. H. (2005). Neoadjuvant treatment of unresectable colorectal liver metastases: Correlation between tumour response and resection rates. *Ann Oncol*, 16(8), 1311-1319.
- Folprecht, G., Gruenberger, T., Bechstein, W. O., Raab, H. R., Lordick, F., Hartmann, J. T., et al. (2010). Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: The celim randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 11(1), 38-47.
- Fong, Y., Fortner, J., Sun, R. L., Brennan, M. F., & Blumgart, L. H. (1999). Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: Analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg*, 230(3), 309-318; discussion 318-321.
- Fuchs, C. S., Marshall, J., Mitchell, E., Wierzbicki, R., Ganju, V., Jeffery, M., et al. (2007). Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: Results from the bicc-c study. *J Clin Oncol*, 25(30), 4779-4786.
- Garrean, S., Muhs, A., Bui, J. T., Blend, M. J., Owens, C., Helton, W. S., et al. (2007). Complete eradication of hepatic metastasis from colorectal cancer by yttrium-90 sirt. *World J Gastroenterol*, 13(21), 3016-3019.
- Ghossein, R. A., & Bhattacharya, S. (2000). Molecular detection and characterisation of circulating tumour cells and micrometastases in solid tumours. *Eur J Cancer*, 36(13 Spec No), 1681-1694.
- Goldberg, R. M., Sargent, D. J., Morton, R. F., Fuchs, C. S., Ramanathan, R. K., Williamson, S. K., et al. (2004). A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 22(1), 23-30.
- Gunn, J., McCall, J. L., Yun, K., & Wright, P. A. (1996). Detection of micrometastases in colorectal cancer patients by k19 and k20 reverse-transcription polymerase chain reaction. *Lab Invest*, 75(4), 611-616.
- Hebbar, M., Pruvot, F. R., Romano, O., Triboulet, J. P., & de Gramont, A. (2009). Integration of neoadjuvant and adjuvant chemotherapy in patients with resectable liver metastases from colorectal cancer. *Cancer Treat Rev*, 35(8), 668-675.

- Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W., Cartwright, T., Hainsworth, J., Heim, W., et al. (2004). Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*, 350(23), 2335-2342.
- Jauch, K. W., Heiss, M. M., Gruetzner, U., Funke, I., Pantel, K., Babic, R., et al. (1996). Prognostic significance of bone marrow micrometastases in patients with gastric cancer. *J Clin Oncol*, 14(6), 1810-1817.
- Kaplan EL, M. P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*.(53), 457-481.
- Karoui, M., Penna, C., Amin-Hashem, M., Mitry, E., Benoist, S., Franc, B., et al. (2006). Influence of preoperative chemotherapy on the risk of major hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg*, 243(1), 1-7.
- Kemeny, M. M., Adak, S., Gray, B., Macdonald, J. S., Smith, T., Lipsitz, S., et al. (2002). Combined-modality treatment for resectable metastatic colorectal carcinoma to the liver: Surgical resection of hepatic metastases in combination with continuous infusion of chemotherapy--an intergroup study. *J Clin Oncol*, 20(6), 1499-1505.
- Kemeny, N. (2006). Management of liver metastases from colorectal cancer. *Oncology (Williston Park)*, 20(10), 1161-1176, 1179; discussion 1179-1180, 1185-1166.
- Kemeny, N., Huang, Y., Cohen, A. M., Shi, W., Conti, J. A., Brennan, M. F., et al. (1999). Hepatic arterial infusion of chemotherapy after resection of hepatic metastases from colorectal cancer. *N Engl J Med*, 341(27), 2039-2048.
- Koch, M., Kienle, P., Hinz, U., Antolovic, D., Schmidt, J., Herfarth, C., et al. (2005). Detection of hematogenous tumor cell dissemination predicts tumor relapse in patients undergoing surgical resection of colorectal liver metastases. *Ann Surg*, 241(2), 199-205.
- Krebs, M. G., Hou, J. M., Ward, T. H., Blackhall, F. H., & Dive, C. (2010). Circulating tumour cells: Their utility in cancer management and predicting outcomes. *Ther Adv Med Oncol*, 2(6), 351-365.
- Leinung, S., Wurl, P., Weiss, C. L., Roder, I., & Schonfelder, M. (2000). Cytokeratin-positive cells in bone marrow in comparison with other prognostic factors in colon carcinoma. *Langenbecks Arch Surg*, 385(5), 337-343.
- Lim, C., & Farges (2012), O. Portal vein occlusion before major hepatectomy in patients with colorectal liver metastases: Rationale, indications, technical aspects, complications and outcome. *J Visc Surg*, 149(2), e86-96.

- Liu, J. H., Hsieh, Y. Y., Chen, W. S., Hsu, Y. N., Chau, G. Y., Teng, H. W., et al. (2010). Adjuvant oxaliplatin- or irinotecan-containing chemotherapy improves overall survival following resection of metachronous colorectal liver metastases. *Int J Colorectal Dis*, 25(10), 1243-1249.
- Makuuchi, M., Thai, B. L., Takayasu, K., Takayama, T., Kosuge, T., Gunven, P., et al. (1990). Preoperative portal embolization to increase safety of major hepatectomy for hilar bile duct carcinoma: A preliminary report. *Surgery*, 107(5), 521-527.
- Masi, G., Loupakis, F., Pollina, L., Vasile, E., Cupini, S., Ricci, S., et al. (2009). Long-term outcome of initially unresectable metastatic colorectal cancer patients treated with 5-fluorouracil/leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (folfoxiri) followed by radical surgery of metastases. *Ann Surg*, 249(3), 420-425.
- Maughan, T. S., Adams, R. A., Smith, C. G., Meade, A. M., Seymour, M. T., Wilson, R. H., et al. (2011). Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: Results of the randomised phase 3 mrc coin trial. *Lancet*, 377(9783), 2103-2114.
- Maxwell-Armstrong, C. A., Durrant, L. G., & Scholefield, J. H. (1999). Immunotherapy for colorectal cancer. *Am J Surg*, 177(4), 344-348.
- Mueller, L., Hillert, C., Moller, L., Krupski-Berdién, G., Rogiers, X., & Broering, D. C. (2008). Major hepatectomy for colorectal metastases: Is preoperative portal occlusion an oncological risk factor? *Ann Surg Oncol*, 15(7), 1908-1917.
- Nordlinger, B. (2004). [surgery of liver metastasis from colorectal cancer following irinotecan and 5fu-folinic acid]. *Ann Chir*, 129 Spec No 2, 8-10.
- Nordlinger, B., Guiguet, M., Vaillant, J. C., Ballardur, P., Boudjema, K., Bachellier, P., et al. (1996). Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver. A prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients. Association française de chirurgie. *Cancer*, 77(7), 1254-1262.
- Nordlinger, B., Van Cutsem, E., Gruenberger, T., Glimelius, B., Poston, G., Rougier, P., et al. (2009). Combination of surgery and chemotherapy and the role of targeted agents in the treatment of patients with colorectal liver metastases: Recommendations from an expert panel. *Ann Oncol*, 20(6), 985-992.
- Nordlinger, B., Vauthey, J. N., Poston, G., Benoist, S., Rougier, P., & Van Cutsem, E. (2010). The timing of chemotherapy and surgery for the treatment of colorectal liver metastases. *Clin Colorectal Cancer*, 9(4), 212-218.

- O'Connor, J. P., Carano, R. A., Clamp, A. R., Ross, J., Ho, C. C., Jackson, A., et al. (2009). Quantifying antivascular effects of monoclonal antibodies to vascular endothelial growth factor: Insights from imaging. *Clin Cancer Res*, 15(21), 6674-6682.
- Ohlsson, B., Stenram, U., & Tranberg, K. G. (1998). Resection of colorectal liver metastases: 25-year experience. *World J Surg*, 22(3), 268-276; discussion 276-267.
- Pang, Y. Y. (2002). The Brisbane 2000 Terminology of liver anatomy and resections. *Hpb* 2000; 2:333-39. *HPB (Oxford)*, 4(2), 99; author reply 99-100.
- Pantel, K., Alix-Panabieres, C., & Riethdorf, S. (2009). Cancer micrometastases. *Nat Rev Clin Oncol*, 6(6), 339-351.
- Pantel, K., & Brakenhoff, R. H. (2004). Dissecting the metastatic cascade. *Nat Rev Cancer*, 4(6), 448-456.
- Pantel, K., von Knebel Doeberitz, M., Izbicki, J. R., & Riethmuller, G. (1997). [disseminated tumor cells: Diagnosis, prognostic relevance, phenotyping and therapeutic strategies]. *Chirurg*, 68(12), 1241-1250.
- Parks, R., Gonen, M., Kemeny, N., Jarnagin, W., D'Angelica, M., DeMatteo, R., et al. (2007). Adjuvant chemotherapy improves survival after resection of hepatic colorectal metastases: Analysis of data from two continents. *J Am Coll Surg*, 204(5), 753-761; discussion 761-753.
- Pietra, N., Sarli, L., Costi, R., Ouchemi, C., Grattarola, M., & Peracchia, A. (1998). Role of follow-up in management of local recurrences of colorectal cancer: A prospective, randomized study. *Dis Colon Rectum*, 41(9), 1127-1133.
- Portier, G., Elias, D., Bouche, O., Rougier, P., Bosset, J. F., Saric, J., et al. (2006). Multicenter randomized trial of adjuvant fluorouracil and folinic acid compared with surgery alone after resection of colorectal liver metastases: Ffcd achbth auro 9002 trial. *J Clin Oncol*, 24(31), 4976-4982.
- Poultides, G. A., Schulick, R. D., & Pawlik, T. M. (2010). Hepatic resection for colorectal metastases: The impact of surgical margin status on outcome. *HPB (Oxford)*, 12(1), 43-49.
- Pritzkeleit, R., Holzmann, M., Eisemann, N., Gerdemann, U., & Katalinic, A. (2011). *Krebs in schleswig-holstein; inzidenz und mortalität im jahr 2008*. Lübeck: Institut für Krebs epidemiologie e.V.
- Pulitano, C., Bodingbauer, M., Aldrighetti, L., de Jong, M. C., Castillo, F., Schulick, R. D., et al. (2011 May). Liver resection for colorectal metastases in presence of extrahepatic

- disease: Results from an international multi-institutional analysis. *Ann Surg Oncol*, 18(5), 1380-1388.
- Rahbari, N. N., Aigner, M., Thorlund, K., Mollberg, N., Motschall, E., Jensen, K., et al. (2010). Meta-analysis shows that detection of circulating tumor cells indicates poor prognosis in patients with colorectal cancer. *Gastroenterology*.
- Rubbia-Brandt, L., Audard, V., Sartoretti, P., Roth, A. D., Brezault, C., Le Charpentier, M., et al. (2004). Severe hepatic sinusoidal obstruction associated with oxaliplatin-based chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*, 15(3), 460-466.
- Saltz, L. B., Clarke, S., Diaz-Rubio, E., Scheithauer, W., Figer, A., Wong, R., et al. (2008). Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: A randomized phase iii study. *J Clin Oncol*, 26(12), 2013-2019.
- Saltz, L. B., Cox, J. V., Blanke, C., Rosen, L. S., Fehrenbacher, L., Moore, M. J., et al. (2000). Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan study group. *N Engl J Med*, 343(13), 905-914.
- Scheele, J., Stangl, R., & Altendorf-Hofmann, A. (1990). Hepatic metastases from colorectal carcinoma: Impact of surgical resection on the natural history. *Br J Surg*, 77(11), 1241-1246.
- Schmiegel, W., Reinacher-Schick, A., Arnold, D., Graeven, U., Heinemann, V., Porschen, R., et al. (2008). [update s3-guideline "colorectal cancer" 2008]. *Z Gastroenterol*, 46(8), 799-840.
- Schoppmeyer, K., Fruhauf, N., Oldhafer, K., Seeber, S., & Kasimir-Bauer, S. (2006). Tumor cell dissemination in colon cancer does not predict extrahepatic recurrence in patients undergoing surgery for hepatic metastases. *Oncol Rep*, 15(2), 449-454.
- Singletary, S. E., Allred, C., Ashley, P., Bassett, L. W., Berry, D., Bland, K. I., et al. (2003). Staging system for breast cancer: Revisions for the 6th edition of the ajcc cancer staging manual. *Surg Clin North Am*, 83(4), 803-819.
- Slade, M. J., Singh, A., Smith, B. M., Tripuraneni, G., Hall, E., Peckitt, C., et al. (2005). Persistence of bone marrow micrometastases in patients receiving adjuvant therapy for breast cancer: Results at 4 years. *Int J Cancer*, 114(1), 94-100.
- Soeth, E., Grigoleit, U., Moellmann, B., Roder, C., Schniewind, B., Kremer, B., et al. (2005). Detection of tumor cell dissemination in pancreatic ductal carcinoma patients by ck 20 rt-pcr indicates poor survival. *J Cancer Res Clin Oncol*, 131(10), 669-676.

- Soeth, E., Vogel, I., Roder, C., Juhl, H., Marxsen, J., Kruger, U., et al. (1997). Comparative analysis of bone marrow and venous blood isolates from gastrointestinal cancer patients for the detection of disseminated tumor cells using reverse transcription pcr. *Cancer Res*, 57(15), 3106-3110.
- Solomayer, E. F., Diel, I. J., Meyberg, G. C., Gollan, C., Bode, S., Wallwiener, D., et al. (1998). Prognostic relevance of cathepsin d detection in micrometastatic cells in the bone marrow of patients with primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 49(2), 145-154.
- Staritz, P., Kienle, P., Koch, M., Benner, A., von Knebel Doeberitz, M., Rudi, J., et al. (2004). Detection of disseminated tumour cells as a potential surrogate-marker for monitoring palliative chemotherapy in colorectal cancer patients. *J Exp Clin Cancer Res*, 23(4), 633-639.
- Tol, J., Koopman, M., Miller, M. C., Tibbe, A., Cats, A., Creemers, G. J., et al. (2010). Circulating tumour cells early predict progression-free and overall survival in advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy and targeted agents. *Ann Oncol*, 21(5), 1006-1012.
- Topal, B., Aerts, J. L., Roskams, T., Fieuws, S., Van Pelt, J., Vandekerckhove, P., et al. (2005). Cancer cell dissemination during curative surgery for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol*, 31(5), 506-511.
- Tournigand, C., Andre, T., Achille, E., Lledo, G., Flesh, M., Mery-Mignard, D., et al. (2004). Folfiri followed by folfox6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: A randomized gercor study. *J Clin Oncol*, 22(2), 229-237.
- Townsend, A., Price, T., & Karapetis, C. (2009). Selective internal radiation therapy for liver metastases from colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev*(4), CD007045.
- Van Cutsem, E., Nordlinger, B., Adam, R., Kohne, C. H., Pozzo, C., Poston, G., et al. (2006). Towards a pan-european consensus on the treatment of patients with colorectal liver metastases. *Eur J Cancer*, 42(14), 2212-2221.
- Vauthey, J. N., Pawlik, T. M., Ribero, D., Wu, T. T., Zorzi, D., Hoff, P. M., et al. (2006). Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol*, 24(13), 2065-2072.
- Vlems, F. A., Diepstra, J. H., Punt, C. J., Ligtenberg, M. J., Cornelissen, I. M., van Krieken, J. H., et al. (2003). Detection of disseminated tumour cells in blood and bone marrow samples of patients undergoing hepatic resection for metastasis of colorectal cancer. *Br J Surg*, 90(8), 989-995.

- Vogel, I., & Kalthoff, H. (2001). Disseminated tumour cells. Their detection and significance for prognosis of gastrointestinal and pancreatic carcinomas. *Virchows Arch*, 439(2), 109-117.
- Vogelaar, F. J., Mesker, W. E., Rijken, A. M., van Pelt, G. W., van Leeuwen, A. M., Tanke, H. J., et al. (2010). Clinical impact of different detection methods for disseminated tumor cells in bone marrow of patients undergoing surgical resection of colorectal liver metastases: A prospective follow-up study. *BMC Cancer*, 10, 153.
- Wagner, J. S., Adson, M. A., Van Heerden, J. A., Adson, M. H., & Ilstrup, D. M. (1984). The natural history of hepatic metastases from colorectal cancer. A comparison with resective treatment. *Ann Surg*, 199(5), 502-508.
- Weitz, J., Kienle, P., Magener, A., Koch, M., Schrodell, A., Willeke, F., et al. (1999). Detection of disseminated colorectal cancer cells in lymph nodes, blood and bone marrow. *Clin Cancer Res*, 5(7), 1830-1836.
- Weitz, J., Kienle, P., Magener, A., Willeke, F., Lehnert, T., Herfarth, C., et al. (1998). [detection of isolated disseminated tumor cells of colorectal carcinomas in lymph nodes]. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd*, 115(Suppl I), 319-322.
- Weitz, J., Koch, M., Kienle, P., Schrodell, A., Willeke, F., Benner, A., et al. (2000). Detection of hematogenic tumor cell dissemination in patients undergoing resection of liver metastases of colorectal cancer. *Ann Surg*, 232(1), 66-72.
- Willett, C. G., Boucher, Y., di Tomaso, E., Duda, D. G., Munn, L. L., Tong, R. T., et al. (2004). Direct evidence that the vegf-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nat Med*, 10(2), 145-147.
- Wilson, S. M., & Adson, M. A. (1976). Surgical treatment of hepatic metastases from colorectal cancers. *Arch Surg*, 111(4), 330-334.
- Wolfrum, F., Vogel, I., Fandrich, F., & Kalthoff, H. (2005). Detection and clinical implications of minimal residual disease in gastro-intestinal cancer. *Langenbecks Arch Surg*, 390(5), 430-441.
- Wood, C. B., Gillis, C. R., & Blumgart, L. H. (1976). A retrospective study of the natural history of patients with liver metastases from colorectal cancer. *Clin Oncol*, 2(3), 285-288.
- Yokoyama, Y., Nagino, M., & Nimura, Y. (2007). Mechanisms of hepatic regeneration following portal vein embolization and partial hepatectomy: A review. *World J Surg*, 31(2), 367-374.



Zorzi, D., Laurent, A., Pawlik, T. M., Lauwers, G. Y., Vauthey, J. N., & Abdalla, E. K. (2007). Chemotherapy-associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases. *Br J Surg*, *94*(3), 274-286.

## **7. Danksagung**

Mein ganz besonderer Dank gilt Dr. Sebastian Hinz, der mir nicht nur das Thema überlassen hat, sondern in mir auch die Freude am wissenschaftlichen Arbeiten geweckt hat. Mit großer Geduld und Kompetenz hat er die Entstehung dieser Studie über Jahre betreut und war jederzeit als Ansprechpartner für mich da. Sein großes, medizinisches und naturwissenschaftliches Fachwissen hat mich beeindruckt und inspiriert.

Prof. Kalthoff danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Prof. Dr. med. Thomas Becker, Direktor der Klinik für Allgemeine Chirurgie, Viszeral-, Thorax- Transplantations- und Kinderchirurgie danke ich für die Möglichkeit an seiner Klinik diese Doktorarbeit anzufertigen.

Bianca Zinke und Alexandra Siegert, sowie allen anderen Mitarbeitern der Forschungsgruppe Molekulare Onkologie der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie danke ich für die Herstellung der Proben und die große Unterstützung.

Weiterhin danke ich meinem Freund Christoph Risius für die unermüdliche Hilfe bei der Formatierung der Arbeit.

## 8. Lebenslauf

Jessica Bockhorst

Geboren am: 31.01.1985 in Hannover

### Schulabschluss

06/2003 Abitur am Theodor-Heuss Gymnasium  
Göttingen

### Universitätsausbildung

ab 10/2003 Studium der Humanmedizin an der Christian-  
Albrechts-Universität zu Kiel

08/2005 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung

WS 2006/7 Studium an der medizinischen Fakultät Universidad  
Miguel Hernández de Elche (Spanien)

05/2008 Beginn dieser Doktorarbeit in der Klinik für  
Allgemeine Chirurgie und Thoraxchirurgie des  
Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus  
Kiel bei Prof. Dr. Becker (Dr. Sebastian Hinz)

ab 08/2008 Praktisches Jahr in Kiel und Flensburg

10/2009 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung

seit 03/2010 Assistenzärztin der Abteilung Pädiatrie im Klinikum  
Hildesheim

**Publikationen:**

Hinz S, **Bockhorst J**, Röder C, Egberts JH, Schafmayer C, Küchler T, Becker T, Kalthoff H.

Disseminated tumor cells in the bone marrow negatively influence survival after resection of colorectal liver metastases.

Ann Surg Oncol. 2012 Aug; 19(8):2539-46. Epub 2012 Mar 7