

Diplomarbeit

Prognostischer Wert der Lymphozyten-Monozyten Ratio (LMR) bei PatientInnen mit Kolorektalkarzinom

eingereicht von

Kevin Hanschitz

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin
Klinische Abteilung für Onkologie**

unter der Anleitung der Betreuer

Dr. med. univ. Michael Stotz

**Assoz.-Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. et scient. med. Armin
Gerger**

Graz, am 24.2.2015

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 24.2.2015

Kevin Hanschitz eh.

Danksagung

Ich möchte mich recht herzlich bei meinen Betreuern Dr. Michael Stotz und Prof.Dr. Armin Gerger bedanken, die mich während meiner Diplomarbeit betreut und unterstützt haben. Ein weiterer Dank gilt meinen Eltern und meinem Bruder, die mich während meiner gesamten Studienzeit tatkräftig unterstützt haben.

Zusammenfassung

Einleitung: Das Kolorektalkarzinom gehört zu den am häufigst auftretenden Malignomen. Inflammation und Immunabwehr spielen bei der Entstehung von Karzinomen eine mögliche Rolle. In der durchgeführten Studie wurde die Lymphozyten-Monozyten-Ratio (LMR) in Bezug auf die Prognose bei PatientInnen mit Kolonkarzinom in den klinischen Stadien II und III untersucht.

Methoden: In diese retrospektive Studie wurden 372 PatientInnen mit Kolonkarzinom in den klinischen Stadien II und III inkludiert. Zur Bestimmung der Zeit bis zum Wiederauftreten der Tumorerkrankung (TTR) und des Gesamtüberlebens (OS), wurden Kaplan-Meyer- und Cox-Regressions-Analysen verwendet.

Ergebnisse: Eine erhöhte preoperative LMR ist signifikant mit verlängerter TTR und OS (HR 0.47, 95%CI 0.29-0.76, $p=0.002$; HR 0.48, 95%CI 0.29-0.78, $p=0.003$) assoziiert. In einer Subanalyse war diese Assoziation auf PatientInnen mit klinischem Stadium III limitiert. „Hochrisiko“-PatientInnen, basierend auf der LMR, mit einem $LMR \leq 2.83$ zeigten keinen Benefit durch eine adjuvante Chemotherapie mit 5-Fluorouracil (HR 0.99; 95%CI 0.60-1.63; $p=0.953$).

Diskussion: In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die LMR einen möglichen prognostischen Biomarker bei PatientInnen mit Kolonkarzinom im klinischen Stadium III darstellt.

Abstract

Introduction: Colorectal cancer is one of the most common malignant tumours. Inflammation and immunological responses have a great relevance for the creation of cancer. The research study examined the Lymphozyten-Monozyten-Ratio (LMR) in relation to the prognosis for patients with colon carcinoma in the clinical stages II and III.

Methods: In this retrospective study 372 patients with colon carcinoma in the clinical stages II and III were included. Kaplan-Meyer-analysis and cox regression analysis were used to determine the time to tumor recurrence (TTR) and overall survival (OS).

Results: An increased preoperative LMR is significantly associated to a higher TTR and OS (HR 0.47, 95%CI 0.29-0.76, $p=0.002$; HR 0.48, 95%CI 0.29-0.78, $p=0.003$). In a subanalysis this association was limited to patients in the clinical stages III. High risk patients, based on the LMR, with a $LMR \leq 2.83$ haven't shown any benefit by an adjuvant chemotherapy with 5-Fluorouracil (HR 0.99; 95%CI 0.60-1.63; $p=0.953$).

Discussion: In this study it was demonstrated that the LMR is a possible prognostic biomarker for patients with colon carcinom in the clinical stage III.

Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG	4
ABSTRACT	5
INHALTSVERZEICHNIS	6
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	8
TABELLENVERZEICHNIS	9
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	10
1 EINLEITUNG	11
1.1 KOLOREKTALKARZINOM	12
1.1.1 <i>Epidemiologie</i>	12
1.1.2 <i>Lokalisation</i>	13
1.1.3 <i>Ätiologie</i>	15
1.1.3.1 <i>Adenomatöse Polypen</i>	15
1.1.3.2 <i>Genetische Prädispositionen</i>	17
1.1.3.3 <i>Ernährung</i>	17
1.1.3.4 <i>Entzündliche Darmerkrankungen</i>	18
1.1.3.5 <i>Rauchen</i>	18
1.1.4 <i>Klinik und Diagnose</i>	19
1.1.4.1 <i>Klinik</i>	19
1.1.4.2 <i>Diagnose</i>	19
1.1.5 <i>Klassifikation</i>	20
1.1.5.1 <i>Histomorphologische Einteilung</i>	20
1.1.5.2 <i>Makroskopische Einteilung</i>	21
1.1.5.3 <i>TNM-Klassifikation</i>	21
1.1.5.4 <i>Stadieneinteilung nach UICC</i>	22
1.1.5.5 <i>Grading</i>	23
1.1.6 <i>Therapie</i>	23
1.1.6.1 <i>Kolonkarzinom</i>	23
1.1.6.2 <i>Rektumkarzinom</i>	25
1.1.7 <i>Prognose</i>	25
1.2 ASSOZIATION ZWISCHEN INFLAMMATION UND KARZINOMEN	26
1.2.1 <i>Inflammatorischen Zellen</i>	26
1.2.1.1 <i>Entwicklung</i>	26
1.2.1.2 <i>Zellen der myeloischen Reihe</i>	26
1.2.1.3 <i>Zellen der lymphatischen Reihe</i>	28
1.2.2 <i>Immunsystem</i>	30
1.2.3 <i>Inflammation-Malignom Interaktion</i>	31
1.2.3.1 <i>Chronische Inflammation und Malignome</i>	31
1.2.3.2 <i>Neutrophilen-Infiltration</i>	32
1.2.3.3 <i>Eosinophilen-Infiltration</i>	33

1.2.3.4	<i>Mastzell-Infiltration</i>	33
1.2.3.5	<i>Natürliche Killerzellen-Infiltration</i>	34
1.2.3.6	<i>Lymphozyten-Infiltration</i>	34
1.2.3.7	<i>Monozyten/Makrophagen-Infiltration</i>	35
1.3	STUDIENZIEL	38
2	MATERIAL UND METHODEN	39
2.1	STUDIENKOLLEKTIV	39
2.2	STATISTISCHE AUSWERTUNG	40
3	ERGEBNISSE	41
4	DISKUSSION	50
5	LITERATURVERZEICHNIS	53

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anatomie des Verdauungssystems	13
Abbildung 2: Kolonpolypen.....	15
Abbildung 3: Kolorektale Adenome.....	16
Abbildung 4: Klassifikation nach UICC	22
Abbildung 5: M1- und M2-Monozyten	27
Abbildung 6: Blutzellentwicklung	29
Abbildung 7: Spezifische Immunzellantwort	31
Abbildung 8: Tumor-assoziierte Makrophagen	37
Abbildung 9: Die preoperative LMR in Assoziation mit TTR	45
Abbildung 10: Die preoperative LMR in Assoziation mit OS	46
Abbildung 11: Zusammenhang zwischen LMR und TTR bei Kolonkarzinom-PatientInnen im Stadium II	47
Abbildung 12: Zusammenhang zwischen LMR und TTR bei Kolonkarzinom-PatientInnen im Stadium III	48
Abbildung 13: Zusammenhang zwischen adjuvanter Chemotherapie oder alleiniger Operation mit TTR in "Hochrisiko"-PatientInnen basierend auf $LMR \leq 2.83$	49

Tabellenverzeichnis

**TABELLE 1: PATIENTINNENCHARAKTERISTIKA UND DEREN ASSOZIATION
MIT TTR UND OS IN UNIVARIATER ANALYSE 42**

**TABELLE 2: ZUSAMMENHANG ZWISCHEN LMR UND KLINISCH-
PATHOLOGISCHEN PARAMETERN 43**

Abkürzungsverzeichnis

APC	adenomatous-polyposis-coli
CA 19-9	carbohydrate antigen 19-9
CCLL22	macrophage-derived chemokine
CSF	colony stimulating factor
CT	Computertomographie
DCC	deleted in colorectal carcinoma
EGF	epidermal growth factor
HIF1-alpha	Hypoxie-induzierter Faktor
IL-1 beta	Interleukin-1, beta
KRAS	kirsten rat sarcoma viral
MHC	major histocompatibility complex
MRT	Magnetresonanztomographie
NF-kB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
SPARC	secreted protein acidic and rich in cysteine
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor alpha
VEGF	vascular endothelial growth factor

1 Einleitung

Im ersten Teil der Einleitung wird das Kolonkarzinom näher beschrieben, um einen Überblick über diese häufig vorkommende Tumorerkrankung zu schaffen. Es wird auf die Epidemiologie, Lokalisation, Ätiologie, Klinik, Diagnostik, Klassifikation, Therapie und Prognose näher eingegangen.

Im zweiten Teil der Einleitung wird der Zusammenhang zwischen inflammatorischen Prozessen und Malignomen beschrieben um die biologische Plausibilität der Studie darzustellen.

1.1 Kolorektalkarzinom

1.1.1 Epidemiologie

Die Zahl der an Malignomen erkrankten PatientInnen nimmt weltweit zu. Als mögliche Gründe dafür werden verschiedene Ursachen diskutiert. So wird angenommen, dass das vermehrte Auftreten von Krebserkrankungen auf einen Anstieg des Durchschnittsalters und Lifestyle-Faktoren zurück zu führen ist(1).

Das Kolorektalkarzinom ist der 3. häufigste maligne Tumor bei Männern und 2. häufigste bei Frauen. Die Anzahl der Neuerkrankungen liegt bei Männern höher als bei Frauen(2).

Karzinome des Kolons und Rektums kommen vor allem bei älteren Menschen vor. Das Durchschnittsalter von PatientInnen mit Kolorektalkarzinom liegt um die 7. Lebensdekade (3).

Die höchsten Inzidenzraten zeigen Australien, Neuseeland, Europa und Nordamerika, die niedrigsten Afrika, Süd- und Zentralasien (1). So erkrankten alleine in Europa im Jahr 2006 412.900 Personen am Kolorektalkarzinom(4). Im Jahr 2011 konnten in Österreich 4577 Neuerkrankungen verzeichnet werden. Von diesen 4577 Personen waren 56,7% männlich und 43,3% weiblich (5).

1.1.2 Lokalisation

Der Dickdarm, welcher sich über eine Länge von ungefähr 1,5 bis 1,8 Metern erstreckt, lässt sich in mehreren Abschnitten gliedern(6).

Rechts kaudal beginnt er mit dem Caecum und geht in das Kolon über. Dieses teilt sich in das aufsteigende Kolon ascendens, querliegende Kolon transversum, absteigende Kolon descendens und das Colon sigmoideum. Das Kolon sigmoideum geht schließlich in das Rektum über(7). Dieser letzte Teil des Darms weist eine Länge von ungefähr 15 bis 19 cm auf. Das Rektum endet schließlich am Übergang in den Canalis analis (Analkanal)(8).

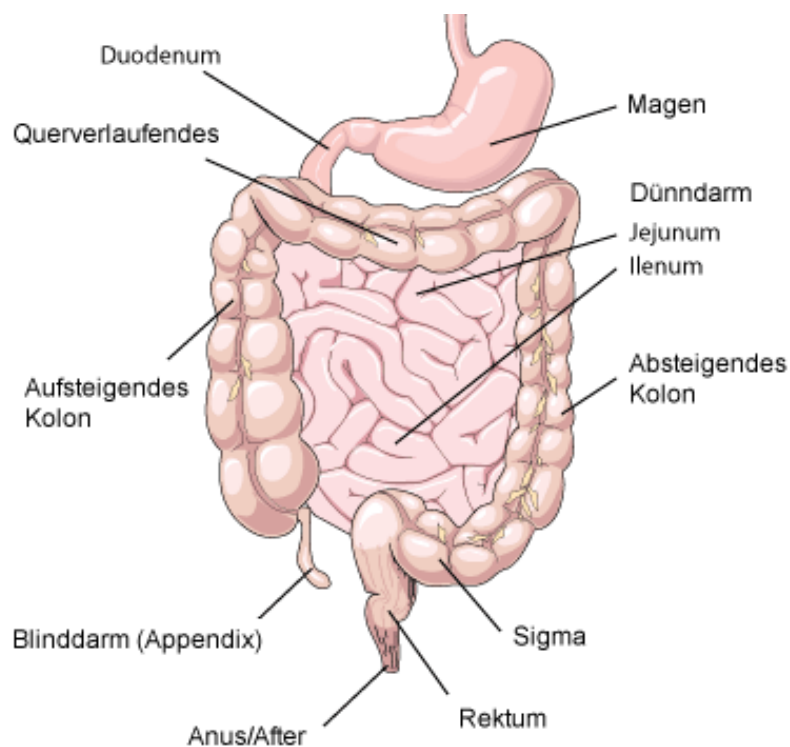


Abbildung 1: Anatomie des Verdauungssystems (9)

Um ein besseres Verständnis für den Metastasierungsprozess beim Kolorektalkarzinom zu erlangen wird im folgenden Teil das venöse Drainagesystem der oben beschriebenen Strukturen erklärt.

Kolon

Das venöse Blut von Caecum mit seinem Appenix vermiformis und das der Kolonabschnitte gelangt über die Venae mesentericae superior und inferior zur Vena portae hepatis und von dort zur Leber(6, 7).

Rektum

Beim Rektum und Canalis analis erfolgt der venöse Abfluss über mehrere Venen. Das venöse Blut des oberen Teiles des Rektums wird über die Vena rectalis superior zur Vena mesenterica inferior drainiert und gelangt somit von dort zur Leber. Der untere Teil des Rektums und der Canalis analis leiten ihr Blut über die Venae rectales mediae und inferiores zur Vena cava inferior ab, welches schließlich über den kleinen Kreislauf zur Lunge gelangt.

Tumore aus dem unteren Teil des Rektums beziehungsweise vom Analkanal metastasieren häufiger in die Lunge, Tumore aus dem oberen Teil in die Leber(6, 7).

Die Kolorektalkarzinome kommen mit unterschiedlicher Häufigkeit an den verschiedenen Dickdarmabschnitten vor:

- Rektum.....60%
- Kolon sigmoideum.....20%
- Zäkum und Kolon ascendens.....10%
- Restlichen Dickdarmabschnitte.....10%(3).

1.1.3 Ätiologie

Die maligne Entartung körpereigener Zellen zu Krebszellen entsteht aufgrund des Einflusses verschiedenster Faktoren. Diese Faktoren führen zu einer Veränderung bestimmter Gene, was unter anderem zur Aktivierung von wachstumsfördernden (Onkogene) und Inaktivierung wachstumshemmenden Gene (Tumor-Suppressorgene) führt(10).

Risikofaktoren zur Entstehung eines Kolorektalkarzinoms

1.1.3.1 Adenomatöse Polypen

Bei Polypen handelt es sich um makroskopisch sichtbare Vorwölbungen der Schleimhautoberfläche. Sie können von wenigen Millimetern bis mehreren Zentimetern groß werden(11).

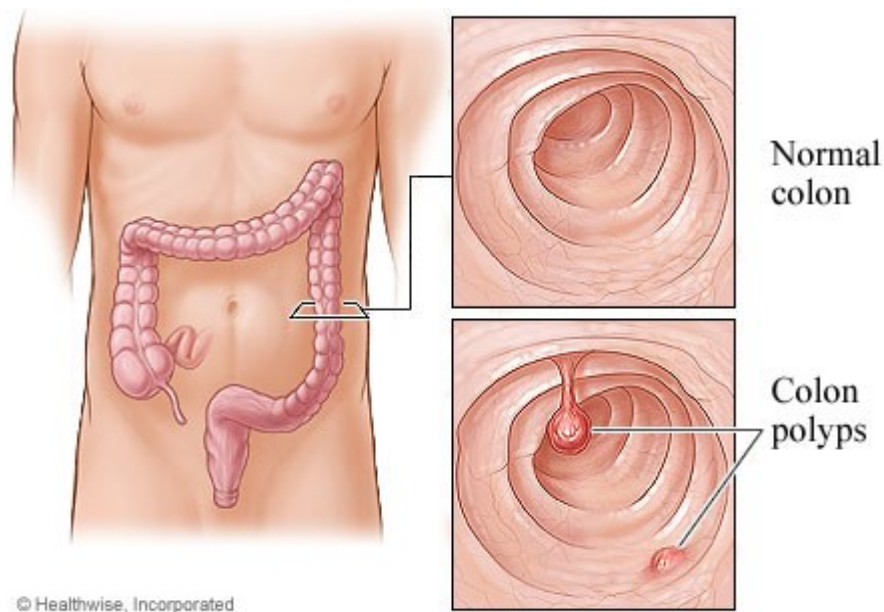


Abbildung 2: Kolonpolypen (12)

Im folgenden Teil wird auf Adenome eingegangen, da diese das größte maligne Entartungsrisiko zeigen (13).

Adenome werden in tubuläre, tubulovillöse und villöse Formen unterteilt(3). Sie sind die Vorstufen beinahe aller sporadisch auftretenden Kolorektalkarzinome. Das Vorhandensein von Adenomen nimmt mit dem Alter zu. Es lassen sich bei zirka 40% aller 60 jährigen Personen adenomatöse Polypen finden(13, 14). Da Adenome meistens asymptomatisch bleiben, handelt es sich hier hauptsächlich um Zufallsbefunde im Rahmen einer Koloskopie (15).

Die Entartung eines Adenoms in ein Karzinom (Adenom-Karzinom-Sequenz) dauert durchschnittlich 10 Jahre. Durch genetische Veränderungen oder Verlust des APC-Tumor-suppressor-Gens, KRAS-Onkogens beziehungsweise des DCC-Tumor-suppressor-Gens kann sich aus einer normalen Mukosa, über verschiedene Adenotypen, ein Karzinom entwickeln (13, 14).

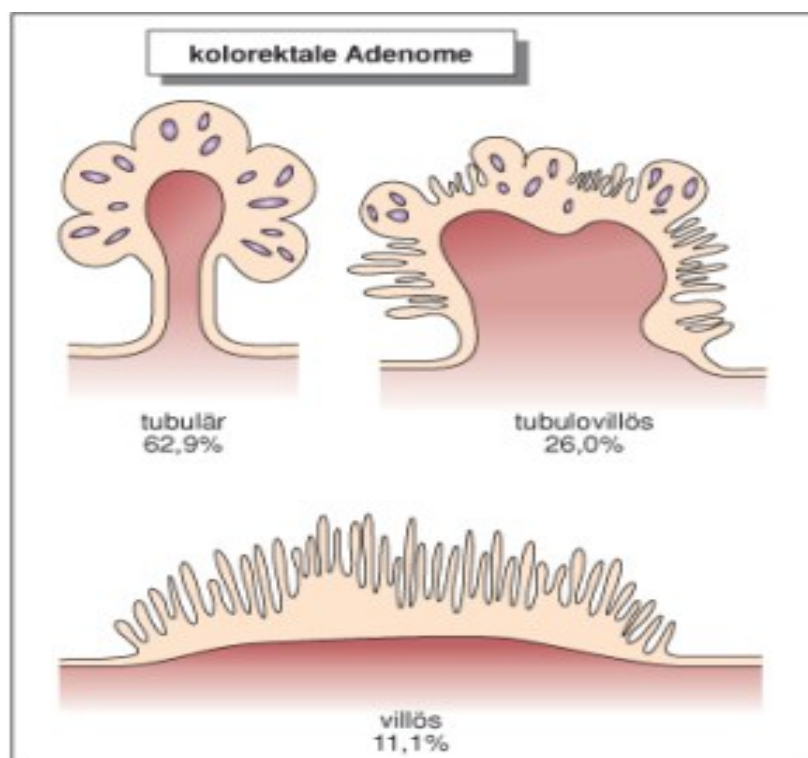


Abbildung 3: Kolorektale Adenome(16)

1.1.3.2 Genetische Prädispositionen

Familiäre adenomatöse Polyposis (FAP)

Die FAP ist eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung, der eine Keimbahnmutation des APC –Gens zugrunde liegt. Typisch für die FAP ist das Auftreten von mehr als 100 Adenomen in bereits jungen Jahren(13, 17)

Hereditäres nonpolypöses Kolorektalkarzinom (HNPCC) / Lynch-Syndrom:

Beim HNPCC handelt es sich um eine vererbte Erkrankung. Hierbei kommt es aufgrund verschiedener genetischer Veränderungen zum häufigen Auftreten von Kolorektalkarzinomen. Neben dem Kolorektalkarzinom treten unter anderem Endometriumkarzinome und eine Reihe anderer Malignome häufiger auf(13, 18)

1.1.3.3 Ernährung

Die Anzahl der Neuerkrankungen am Kolorektalkarzinom ist speziell in jenen Bevölkerungen mit westlicher Ernährungsweise gestiegen (19).

In einer Metanalyse von Chan D. et al. konnte gezeigt werden, dass es zwischen einem erhöhten Konsum von rotem und verarbeitetem Fleisch und dem Risiko an einem Kolorektalkarzinom zu erkranken einen signifikanten Zusammenhang gibt(20).

In einer weiteren Studie konnte bewiesen werden, dass zwischen erhöhtem Alkoholkonsum und dem Risiko, an einem Kolorektalkarzinom zu erkranken, ein signifikanter Zusammenhang besteht. Ein Alkoholkonsum von 12,6-49,9 g/Tag Ethanol ist mit einem 21%-igen Anstieg an einem Kolorektalkarzinom zu erkranken assoziiert. Bei einem Alkoholkonsum von über 50 g/Tag, erhöht sich das Risiko um 52%(21).

1.1.3.4 Entzündliche Darmerkrankungen

Ca. 1-2% aller Kolorektalkarzinome entwickeln sich im Rahmen einer chronischen Inflammation des Darmtraktes. Das Risiko zur Entstehung eines Karzinoms im Rahmen einer entzündlichen Darmerkrankung hängt vor allem von der Dauer der Inflammation bzw. deren Ausmaß ab. (22).

Das höchste Risiko zur Entwicklung eines Kolonkarzinoms weist die Colitis Ulcerosa auf. Hierbei kann es aufgrund der Inflammation zur Entstehung intraepithelialer Neoplasien kommen, welche in ein invasives Karzinom übergehen können(13, 23).

1.1.3.5 Rauchen

In einer Metanalyse von Liang P. et al. konnte gezeigt werden, dass Rauchen sowohl das Risiko an einem Kolorektalkarzinom zu erkranken, als auch die Mortalität der an Kolorektalkarzinom erkrankten PatientInnen erhöht. Dabei kamen Sie auf das Ergebnis, dass das Risiko abhängig von der Anzahl der täglich konsumierten Zigaretten und der Raucherjahre ist. Außerdem konnte gezeigt werden, dass zwischen Rauchen und Rektumkarzinomen ein größerer Zusammenhang besteht als zwischen Rauchen und Kolonkarzinomen(24). Als mögliche Ursache für eine erhöhte Mortalität beim Kolorektalkarzinom im Zusammenhang mit Rauchen wäre die Tatsache, das Rauchen, durch Förderung der Angiogenese und Hemmung zellvermittelter Immunität, das Tumorwachstum fördert(25).

1.1.4 Klinik und Diagnose

1.1.4.1 Klinik

Die Symptome hängen teilweise von der Größe und vom Stadium des Tumors ab. Es handelt sich in der Regel um unspezifische Krankheitssymptome wie Änderungen der Stuhlgewohnheiten, lokalisierte oder generalisierte Bauchschmerzen, Gewichtsverlust, allgemeines Schwächegefühl und Zeichen einer Anämie beziehungsweise eines Eisenverlustes. Diese Symptome treten oft erst spät und bei bereits fortgeschrittenen Tumoren auf(26).

Eines der wichtigsten, jedoch ein sehr unspezifisches Symptom, ist Blut im Stuhl. Hier kann man grob sagen, je dunkler das Blut, desto proximaler die Lokalisation der Blutungsquelle im Verdauungstrakt und umgekehrt. Als Ursache für Blut im Stuhl kommen neben Malignomen, auch eine Reihe von gutartigen Erkrankungen wie zum Beispiel Hämorrhoiden in Frage(27).

1.1.4.2 Diagnose

Wie bei der Diagnostik jeder Erkrankung beginnt man auch hier mit einer ausführlichen Anamnese. Ziel der Anamnese ist es sich einen ersten Überblick darüber zu verschaffen, ob bei der Patientin/dem Patienten ein erhöhtes Risiko an einem Kolorektalkarzinom zu erkranken besteht. Innerhalb der Anamneseerhebung sollte gezielt nach Symptomen gefragt werden. Weiters sollte erhoben werden, ob Familienmitglieder an einem Kolorektalkarzinom erkrankt sind(22).

Im nächsten Schritt soll eine physikalische Untersuchung erfolgen. Dazu gehört die genaue Palpation des Abdomens, bei welcher mögliche Resistenzen, welche aufgrund eines Tumors bestehen können, getastet werden können. Ebenso sollte eine rektal-digitale Untersuchung durchgeführt werden, da ein Großteil der Kolorektalkarzinome im Rektum lokalisiert sind(3, 22).

Das diagnostische Verfahren der Wahl ist die Koloskopie. Hierbei wird bevorzugt eine totale Koloskopie durchgeführt. Mit Hilfe der Koloskopie kann die Ermittlung der genauen Tumorlokalisierung erfolgen sowie eine Biopsie der Läsion durchgeführt werden. Im Falle von Polypen, kann die Koloskopie nicht nur als diagnostisches, sondern auch als therapeutisches Verfahren eingesetzt werden, indem man die Polypen abträgt(26).

Sollte eine totale Koloskopie aufgrund einer Stenose oder einer anderen Ursache nicht durchführbar sein, kann alternativ eine Bildgebung (Hydro-CT und MRT), durchgeführt werden (22).

Als Tumormarker dient unter anderem das carcino-embryonale Antigen (CEA). Hierbei handelt es sich nicht um einen für das Kolorektalkarzinom spezifischen Marker. Er dient vor allem der postoperativen Nachsorge, wo sich erhöhte Werte nach einer R0-Resektion wieder normalisieren sollten(13, 22). Neben dem Kolorektalkarzinom, findet man auch bei Karzinomen der Pankreas, Magen, Mamma und bei Bronchialkarzinomen erhöhte CEA-Werte. Physiologisch zeigen sich Werte bis 3 µg/l. Das CEA dient in der Diagnostik nicht als Beweis, sondern als Hinweis für das Vorhandensein eines Karzinoms und dient vor allem der Verlaufskontrolle von Kolorektalkarzinomen.

Um Metastasen zu identifizieren oder auszuschließen, sollte eine weiterführende Diagnostik mittels CT, oder alternativ mittels MRT, durchgeführt werden (4).

1.1.5 Klassifikation

1.1.5.1 Histomorphologische Einteilung

90-95% aller Kolorektalkarzinome sind:

- Adenokarzinom
- Muzinöses Adenokarzinom

Die restlichen Formen sind selten:

- Siegelringzellkarzinom
- Plattenepithelkarzinom
- adenosquamöses Karzinom
- medulläre Karzinom
- undifferenziertes Karzinom(28)

1.1.5.2 Makroskopische Einteilung

Nach ihrem äußeren Erscheinungsbild, lassen sich Kolorektalkarzinome folgendermaßen einteilen:

- Ulzerierend, mit scharf begrenzenden Rändern (häufigste Form)
- Ulzerierend ohne definierten Grenzen
- Diffus infiltrierend
- Polypenförmig(28).

1.1.5.3 TNM-Klassifikation

Hier unterscheidet man 3 Kategorien:

- T, bezieht sich auf die lokale Ausdehnung des Primärtumors zum Diagnosezeitpunkt.
- N, bezieht sich auf den regionalen Lymphknotenstatus. Es wird angegeben, ob bereits Lymphknoten befallen sind oder nicht.
- M, bezieht sich auf das Vorhandensein beziehungsweise Nichtvorhandensein von Fernmetastasen(29).

1.1.5.4 Stadieneinteilung nach UICC

Die UICC (Union Internationale Contre Le Cancer), teilt das Kolonkarzinom, basierend auf der TNM-Klassifikation in 4 Stadien ein(30).

Stadium	Primärtumor	Lymphknotenstatus	Fernmetastasen
0	Tis	N0	M0
I	T1, T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1 - 2	N1 (1-3 betroffene LK)	M0
	T1	N2a (4-6 betroffene LK)	M0
IIIB	T3 - 4	N1 (1-3 betroffene LK)	M0
	T2-3	N2a (4-6 betroffene LK)	M0
	T1-2	N2b (≥ 7 betroffene LK)	M0
IIIC	T4a	N2a (4-6 betroffene LK)	M0
	T3-T4a	N2b (≥ 7 betroffene LK)	M0
	T4b	N1-2	M0
IVA	jedes T	jedes N	M1a (Fernmetastasen in einem Organ)
IVB	jedes T	jedes N	M1b (Fernmetastasen in einem Organ oder im Peritoneum)

Abbildung 4: Klassifikation nach UICC (31)

1.1.5.5 Grading

Histopathologisch lässt sich das Kolorektalkarzinom in 4 Differenzierungsgrade einteilen:

- Grad 1 (gut differenziert)
- Grad 2 (mäßig differenziert)
- Grad 3 (schlecht differenziert)
- Grad 4 (undifferenziert)

Die WHO schlägt ein Grading-System mit nur 2 Klassen vor. Hier unterscheidet man zwischen ‚Low-Grade‘ (beinhaltet Grad 1-2) und ‚High-Grade‘(beinhaltet Grad 3-4)(28).

1.1.6 Therapie

Die Therapie des Kolorektalkarzinoms erfolgt stadienabhängig(26, 32).

1.1.6.1 Kolonkarzinom

Wenn keine Metastasen vorliegen ist das primäre Ziel die operative Entfernung des Primärtumors.

Der Resektionsausmaß hängt von der Blutversorgung und der Verteilung der Lymphknoten des betroffenen Segments ab. Erfolgt die Operation mit kurativem Ziel, werden eine Resektion im Gesunden bei einem Sicherheitsabstand von mindestens 5 cm und eine Lymphadenektomie durchgeführt. Für die spätere Unterscheidung zwischen Stadium II und III und zur sicheren Entfernung potentieller Lymphknotenmetastasen, sollten mindestens 12 Lymphknoten entfernt werden(26, 32, 33).

Ob Lebermetastasen operabel sind oder nicht hängt von verschiedenen Kriterien ab. Die Entscheidung erfolgt durch die Operateure beziehungsweise das

multidisziplinäre Team. Obwohl in erster Linie solitäre Lebermetastasen operiert werden, können, sofern die Lokalisation nicht zu risikoreich ist und mindestens 30% der Leber erhalten bleiben, auch mehrere Lebermetastasen entfernt werden. Weitere Kriterien sind mögliche Komorbiditäten, da damit ein erhöhtes Operationsrisiko einher geht. Ein weiteres Kriterium dafür, dass Lebermetastasen operabel sind, ist, dass nach Resektion ein vaskulärer Zu- und Abfluss sowie die biliäre Drainage aufrecht bleiben(4, 33).

Nach erfolgter Entfernung des Primärtumors, sollten PatientInnen im Stadium III beziehungsweise ‚Hochrisiko-PatientInnen‘ im Stadium II eine adjuvante Chemotherapie erhalten(26, 33).

PatientInnen im Stadium II werden dann als ‚Hochrisiko-PatientInnen‘ eingestuft, wenn eines der folgenden klinischen Merkmale auf sie zutrifft:

- Es werden weniger als 12 Lymphknoten entfernt
- Schlecht differenzierter Tumor
- Infiltration des Gefäß-, Lymphsystems oder von Nerven
- Tumore mit intestinaler Obstruktion oder Perforation
- pT4(26)

Stadium II:

Hochrisiko-PatientInnen im Stadium II sollten eine adjuvante Chemotherapie mit 5-Fluorouracil erhalten. Eine Kombination mit Oxaliplatin kann bei jüngeren, beziehungsweise PatientInnen mit mehreren Risikofaktoren erfolgen(33).

Stadium III:

Im Stadium III wird standartmäßig eine adjuvante Chemotherapie mit 5-Fluorouracil und Oxaliplatin empfohlen. Beim XELOX-Schema (Capecitabin und Oxaliplatin) wird 5-Fluorouracil durch Capecitabin ausgetauscht und mit Oxaliplatin kombiniert(13, 32).

1.1.6.2 Rektumkarzinom

Sofern der aborale Rand des Karzinoms mindestens 2-3 cm von der Linea dentata entfernt ist, kann eine sphinktererhaltende Resektion angestrebt werden. In bestimmten Stadien wird eine präoperative Radiochemotherapie, gefolgt von einer postoperativen Chemotherapie durchgeführt(32).

1.1.7 Prognose

Die Prognose beim Kolonkarzinom hängt maßgeblich vom klinischen Stadium ab. Erfolgt eine rein chirurgische Therapie ohne adjuvanter Chemotherapie, so liegt die 5-Jahres Überlebensrate bei 85-95% im Stadium I, 60-80% im Stadium II und 30-60% im Stadium III(26).

Es gibt zurzeit keine Marker welche bereits vor Behandlungsbeginn Auskunft über die Wirksamkeit einer postoperativen Chemotherapie geben(26)

Das Ziel prognostischer und prädiktiver Biomarkern ist den klinischen Verlauf und das Therapieansprechen vorhersagen zu können (34).

Trotz optimaler Therapie bestehend aus chirurgischer Resektion und je nach Stadium mit adjuvanter Chemotherapie, erleiden 30-50% aller PatientInnen mit einem Kolonkarzinom ein Rezidiv. Im Rahmen von Nachsorgeuntersuchungen sollen Rezidive bzw. Metastasen frühzeitig erkannt werden um eventuell neuerlich eine kurative Therapie anbieten zu können(26, 33).

1.2 Assoziation zwischen Inflammation und Karzinomen

1.2.1 Inflammatorischen Zellen

1.2.1.1 Entwicklung

Die inflammatorischen Zellen beziehungsweise die Zellen des Immunsystems entwickeln sich aus Stammzellen. Diese multipotenten Stammzellen befinden sich im Knochenmark. Welche Zellen sich aus den Stammzellen entwickeln hängt von mehreren Einflussfaktoren ab. Dazu zählen neben Interleukinen und verschiedenen Hormonen vor allem der Wachstumsfaktor CSF. Somit differenzieren sich diese Zellen in myeloische oder lymphatischen Zellen(35, 36).

1.2.1.2 Zellen der myeloischen Reihe

- Granulozyten: Sie machen den größten Teil aller Leukozyten im Blut aus. Man unterscheidet zwischen neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten.
Neutrophile Granulozyten gehören der unspezifischen Immunabwehr an. Sie wirken mittels Phagozytose. Basophile Granulozyten schütten hingegen Faktoren wie zum Beispiel Histamin aus. Eosinophile Granulozyten dienen vor allem der Abwehr von Parasiten(10, 35).
- Monozyten: Monozyten bleiben, vergleichsmäßig zu den anderen Zellen, nur für eine kurze Zeit im Blutsystem. Sie verlassen es schließlich um sich in Makrophagen weiter zu entwickeln. Über spezielle Rezeptoren, sogenannte MHC-Moleküle, wirken Makrophagen auch mit Lymphozyten zusammen, um Ihnen Teile der von ihnen phagozytierten Mikroorganismen, zu präsentieren(35-37). Neben der Phagozytose können Makrophagen auch eine Reihe von immunaktiven Substanzen sezernieren. Dabei schütten sie unter anderem neben verschiedenen Interleukinen auch

Chemokine aus, welche die Inflammation aufrechterhalten. Bei Makrophagen lassen sich zwei Phänotypen unterscheiden: Mithilfe von TH1-Zellen aktivieren sich Makrophagen zu M1-Zellen, welche eine gesteigerte immunologische Aktivität aufweisen. TH2-Zellen aktivieren Makrophagen zu M2-Zellen. Diese Zellen wirken antiphlogistisch und spielen bei der Gewebshomöostase eine wichtige Rolle(38, 39).

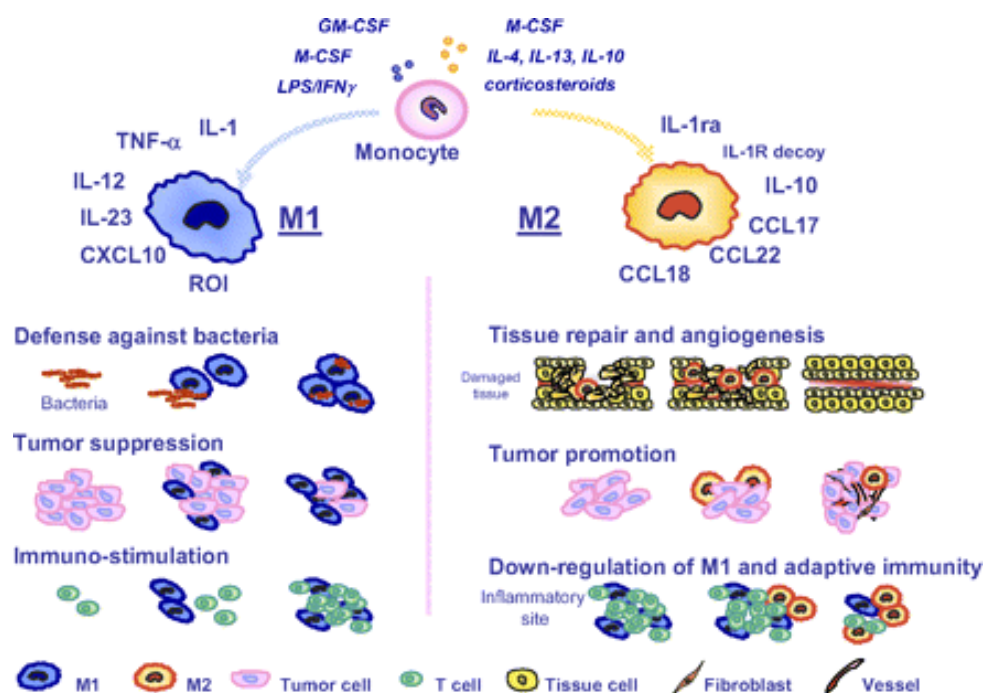


Abbildung 5: M1- und M2-Monozyten (40)

- Dendritische Zellen: Sie gehören zu den Antigen-präsentierenden-Zellen. Dendritische Zellen phagozytieren Antigene und präsentieren sie über spezifische Rezeptoren an ihrer Oberfläche. Sie sind in der Lage das Gewebe zu verlassen und gelangen in die Lymphknoten, wo sie die dort befindlichen Lymphozyten aktivieren. Damit stellen sie eine wichtige Assoziation zwischen unspezifischem und spezifischem Immunsystem dar(37).
- Mastzellen: Sie befinden sich im Gewebe wo sie nahe der Nerven und Gefäße lokalisiert sind. Mastzellen befinden sich in der Dermis und der

Schleimhaut. Im Rahmen einer anaphylaktischen Reaktion, aber auch durch andere Reize wie Kälte oder Hitze, schütten Mastzellen Inhaltsstoffe aus. Zu diesen Inhaltsstoffen zählen unter anderem Histamin was zur Erhöhung der Gefäßpermeabilität führt, beziehungsweise auch Prostaglandine, Leukotrien oder auch TNF (Tumornekrosefaktor). Außerdem schütten Mastzellen auch Heparin aus wodurch die Blutgerinnung gehemmt wird. Weitere Inhaltsstoffe sind Chondroitinsulfat, unterschiedliche Proteasen sowie Hydrolasen und verschiedene Zytokine(35, 37).

1.2.1.3 Zellen der lymphatischen Reihe

- Lymphozyten: Man unterscheidet zwischen B- und T-Lymphozyten. Sie zählen zu den Zellen der erworbenen (spezifischen) Immunabwehr. B-Lymphozyten besitzen spezielle Rezeptoren. Mit diesen können Sie die dazu passenden Antigene binden. Die dadurch aktivierten Lymphozyten können dann ihre Rezeptoren als Immunglobuline abgeben. Bei den T-Zellen unterscheidet man zwischen CD4 positiven T-Zellen (T-Helfer-Zellen) und CD8 positiven T-Zellen (cytotoxische T-Zellen). Die CD4 positiven T-Zellen unterstützen vor allem durch die Ausschüttung von Zytokinen die Zusammenarbeit vom angeborenen und erworbenen Immunsystem. Je nach Differenzierung kann man bei den CD4 positiven T-Zellen zwischen TH1-Zelle, beziehungsweise TH2-Zelle unterscheiden. Sie unterscheiden sich im Wesentlichen dadurch, dass Sie unterschiedliche Zytokine ausschütten und somit verschiedene Prozesse in Gang setzen. (35, 37).
- Natürlichen Killerzellen: Sie leiten bei ihrer Zielzelle eine Apoptose ein indem Sie sich an die Zelle haften. Natürliche Killerzellen sind nicht antigenspezifisch und zählen zur angeborenen Immunabwehr. Unterstützt werden natürliche Killerzellen von MHC-Molekülen. Sie überprüfen, als eine Art Kontrolleure des Immunsystems die MHC-Moleküle körpereigener

Zellen. Ist die Zahl aber auch Form der MHC-Moleküle verändert, leiten Sie die Apoptose ein(36).

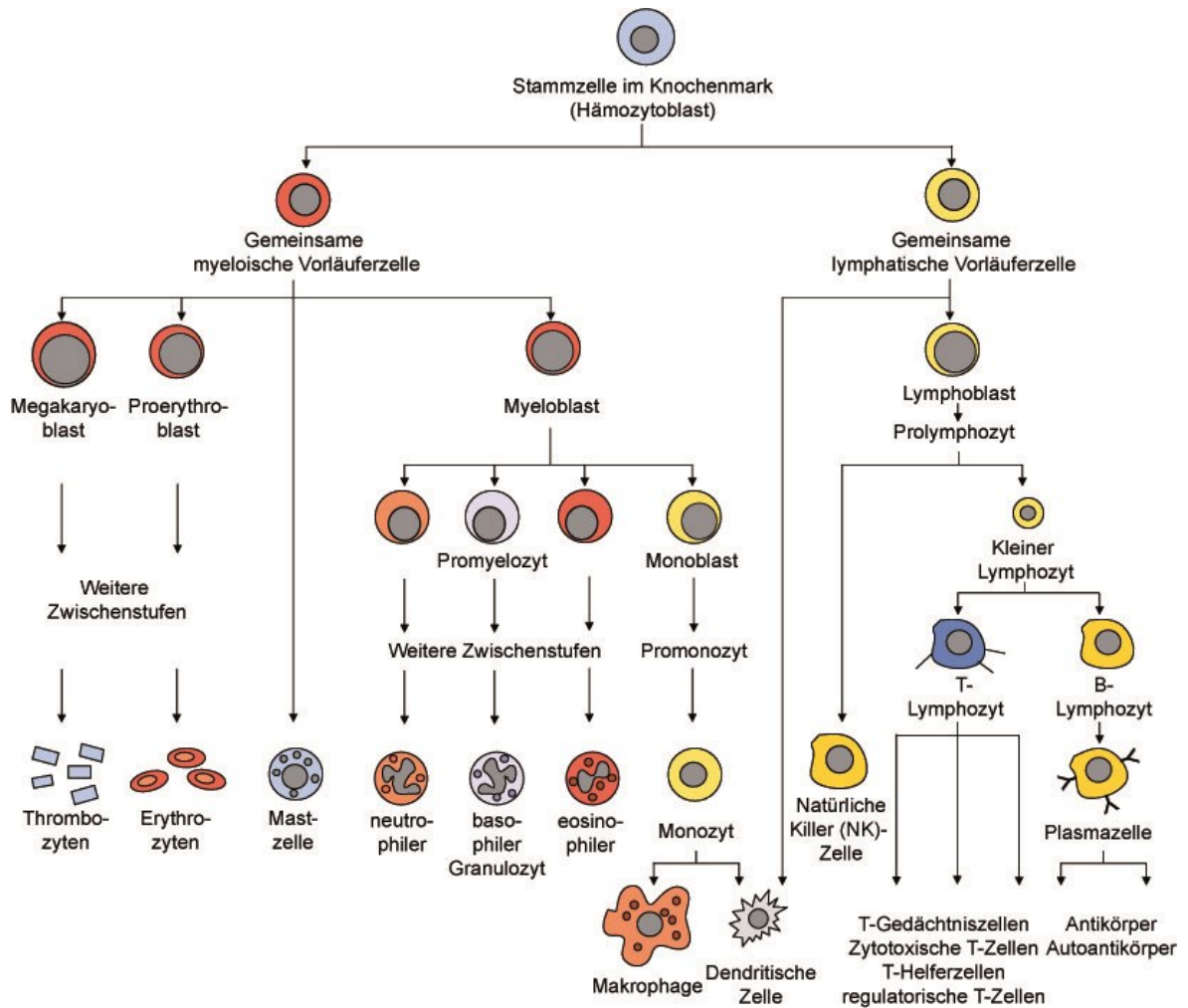


Abbildung 6: Blutzellentwicklung (41)

1.2.2 Immunsystem

Man unterscheidet zwischen einer angeborenen (unspezifischen) und einer erworbenen (spezifischen) Immunabwehr.

Ziel ist es körperfremde Mikroorganismen, beziehungsweise infizierte Zellen zu bekämpfen. Eine weitere Aufgabe des Immunsystems ist der Schutz des Körpers vor der Entstehung von Tumoren. Dies geschieht dadurch, dass das Immunsystem nicht nur infizierte, sondern auch körpereigene entartete Zellen erkennt und zerstört(35).

Eine wichtige Aufgabe übernimmt das Blut- und Lymphsystem. Zum Beispiel unterstützen aktivierte Endothelzellen die im Blut zirkulierenden Leukozyten dadurch, dass sie ihnen helfen den Ort der Inflammation zu erreichen. Dies geschieht indem Endothelzellen vermehrt Adhäsionsmoleküle exprimieren. Dadurch können sich Leukozyten anheften und in weiterer Folge die Blutgefäße in Richtung der Inflammation verlassen. Zur Aufrechterhaltung einer chronischen Inflammation, werden neue Blutgefäße gebildet. Außerdem werden Antigene beziehungsweise Antigen-präsentierende Zellen über die Lymphgefäße zu den Lymphknoten transportiert, wo sie schließlich B- und T-Lymphozyten stimulieren. Diese werden dadurch aktiviert und leiten eine spezifische Immunantwort ein(42, 43).

Die aktivierten B-Lymphozyten vermehren sich schließlich und differenzieren zu Effektorzellen. Diese haben nun die Fähigkeit, ihren Rezeptor in Form von Immunglobulin (Ig) abzugeben. Diese Immunglobuline zeigen eine erhöhte Bindungsfähigkeit zu Antigenen. Man kann zwischen fünf verschiedenen Immunglobulinen unterscheiden. Zu diesen zählen IgM, IgG, IgA, IgE, IgD. Durch ihre Bindung mit den Antigenen können diese oft erst von anderen Immunzellen angegriffen werden. Neben diesen Effektorzellen werden auch noch Gedächtniszellen gebildet, die bei erneutem Antigenkontakt Immunglobuline mit hoher Affinität ausschütten können. Unterstützt in ihren Differenzierungs- und Proliferationsprozessen werden B-Zellen von den T-Helfer-Zellen, welche dafür eine Reihe von Zytokinen sezernieren(35).

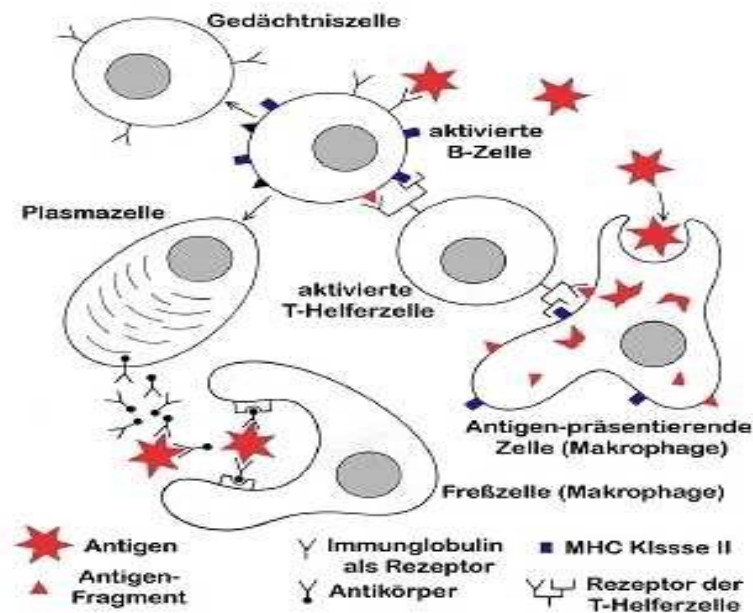


Abbildung 7: Spezifische Immunzellantwort (44)

1.2.3 Inflammation-Malignom Interaktion

Dass es zwischen Inflammationen und Malignomen Assoziationen gibt ist schon länger bekannt.

1.2.3.1 Chronische Inflammation und Malignome

Es ist bekannt, dass chronische Entzündungen die Tumorentstehung fördern (45-47).

Wie bereits erwähnt erhöht sich das Risiko an einem Kolorektalkarzinom zu erkranken, wenn man an einer Colitis Ulcerosa leidet. Die Höhe des Risikos hängt davon ab wie lange die Krankheit besteht. So haben PatientInnen nach 10 jährigen Krankheitsbestehen ein Risiko von ungefähr 2%, bei 20 jährigen ein Risiko von ungefähr 8% und bei 30 jährigen Krankheitsbestehen ein Risiko von zirka 18%. PatientInnen mit einem Kolorektalkarzinom basierend auf einer Colitis Ulcerosa sind im Durchschnitt jünger als PatientInnen mit Kolorektalkarzinom anderer Ursache.

Auch bei colitis-assoziierten Karzinomen spielt Chromosomeninstabilität, Mikrosatelliteninstabilität und Hypermethylierung eine Rolle(48-50). Assoziationen zwischen Inflammation und Malignomen sind auch bei anderen Tumorarten zu finden und so zeigt sich ein erhöhtes Risiko für Magenkarzinome beziehungsweise Lymphome der Magenschleimhaut bei Helicobacter pylori Infektionen, oder zum Beispiel auch ein erhöhtes Risiko an einem Prostatakarzinom zu erkranken bei vorbestehender Prostatitis(46, 49). Die Tatsache, dass inflammatorische Zellen beziehungsweise deren Mediatoren wie zum Beispiel Chemokine, Zytokine oder Prostaglandine im Gewebe von Tumoren gefunden werden können, gilt als das Kennzeichen der Inflammation-Malignom Interaktion(49).

1.2.3.2 Neutrophilen-Infiltration

Bei den in das Tumorgewebe infiltrierten Neutrophilen Granulozyten, auch Tumor-assoziierte-Neutrophile (TAN) genannt, kann zwischen zwei Aktivierungs-, beziehungsweise Differenzierungsstadien unterschieden werden. Dabei unterscheidet man zwischen einem anti-tumorösen Phänotyp oder N1-TAN und einem pro-tumorösen Phänotyp oder N2-TAN(51).

Die Differenzierung zum N2-Phänotyp erfolgt durch den Einfluss von TGF-beta (Transforming growth factor-beta). Diese protumorösen Zellen dienen dem Tumorwachstum, der Invasion von Tumorzellen, der Metastasierung und der Angiogenese. Ein weiterer wichtiger pro-tumoröser Effekt der N2-Zellen ist die Immunsupprimierung (35, 51, 52).

Im Gegenzug dazu, übernehmen N1-Zellen eine wichtige Rolle in der Bekämpfung von Tumorzellen. Dies geschieht unter anderem dadurch indem N1-Zellen anti-tumorös wirkende Mediatoren, wie zum Beispiel TNF-alpha oder IL-1 beta ausschütten. (51, 52).

1.2.3.3 Eosinophilen-Infiltration

Neben neutrophilen Granulozyten können in bestimmten malignen Tumoren auch eosinophile Granulozyten nachgewiesen werden.

Es konnte bei PatientInnen mit Ösophaguskarzinom gezeigt werden, dass die Anzahl Tumor-assozierter eosinophiler Granulozyten bei jenen höher ist, welche keine venöse Infiltration und keine Lymphknotenmetastasen aufweisen, sowie bei jenen PatientInnen, bei denen kein Rezidiv auftrat(53).

1.2.3.4 Mastzell-Infiltration

Mastzellen können im Tumorgewebe gefunden werden. Sie zeigen pro- und antitumoröse Effekte, indem sie einerseits Tumore bei ihrem Wachstum unterstützen. Andererseits übernehmen sie eine wichtige Rolle in der Bekämpfung von malignen Zellen (54, 55).

Ob nun Mastzellen Malignome bekämpfen hängt von ihrem Aktivierungsstatus und auch davon ab, welche Mediatoren ausgeschüttet werden. Die in das Tumorgewebe infiltrierten Mastzellen locken zum Beispiel andere Immunzellen an. Dazu zählen neben natürlichen Killerzellen auch T-Lymphozyten. Beide sind in der Lage Tumorzellen zu zerstören(56). In Melanomen konnte gezeigt werden, dass Mastzellen über die Ausschüttung von Interleukin 1 und 6, sowie TNF-alpha das Wachstum des Tumors senken(54, 57). Auch das Wachstum von Brustkrebs kann durch die von Mastzellen sezernierten Inhaltstoffe gehemmt werden, indem Interleukin 4 eine Apoptose der Tumorzellen einleitet(55, 58).

Wie bereits erwähnt können Mastzellen das Tumorstadium auch unterstützen. Dies geschieht unter anderem durch die Ausschüttung von Heparin, das mit seiner gerinnungshemmenden Wirkung Angiogenese und Metastasierung von Tumoren unterstützt. Mastzellen fördern außerdem das Tumorstadium durch das Sezernieren verschiedener Wachstumsfaktoren(59). Histamin, das vor allem bei der Allergie eine entscheidende Rolle spielt(35), ist auch für die Tumorentwicklung von Bedeutung. Hierbei fördert Histamin über den H1-Rezeptor das Tumorstadium und wirkt über den H2-Rezeptor immunsuppressiv, wodurch der Tumor weiter wachsen kann(54).

1.2.3.5 Natürliche Killerzellen-Infiltration

Mittels Ausschüttung von Zytokinen (allen voran Interferon-Gamma) übernehmen natürliche Killerzellen eine wichtige Funktion in der Bekämpfung von malignen Zellen. Interferon-Gamma erfüllt eine Reihe von wichtigen Funktionen, so hemmt es zum Beispiel neben dem Wachstum auch die Gefäßneubildung innerhalb des Tumors (60).

Neben den bis jetzt beschriebenen Zellen, spielen auch Lymphozyten und vor allem Makrophagen eine sehr wichtige Rolle im Tumorgewebe. Zur besseren Verständnis des Zusammenhanges der Lymphozyten-Monozyten-Ratio und Tumoren, werden im folgenden Teil diese zwei inflammatorischen Zellen besprochen.

1.2.3.6 Lymphozyten-Infiltration

Lymphozyten gelten als zelluläre Basis der körpereigenen Immunüberwachung. Die gleiche Rolle spielen diese Immunzellen auch beim Immunoediting. Dies besteht aus drei Phasen. In der Eliminationsphase versuchen das unspezifische sowie das spezifische Immunsystem maligne Zellen zu bekämpfen. Dies entspricht der oben beschriebenen Immunüberwachung. Jedoch kommt es vor, dass nicht immer alle Tumorzellen vom Immunsystem eliminiert werden, indem sich die Zellen in eine Phase der Immunlatenz begeben(61).

Beim Kolorektalkarzinom konnte gezeigt werden, dass die Infiltration von Lymphozyten in das Tumorgewebe mit einer besseren Prognose assoziiert ist. Somit dient das Immunsystem unter anderem auch der Vermeidung von Rezidiven(62).

Außerdem konnte gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen Lymphozyten und der frühen Phase von Metastasierungsprozessen bei PatientInnen mit Kolorektalkarzinom besteht. Zu diesen ersten Metastasierungsprozessen gehört die vaskuläre Invasion. Dabei zeigt sich, dass bei PatientInnen mit Kolorektalkarzinomen, welche keine Metastasierung zeigen, eine größere Anzahl an T-Lymphozyten zu finden sind. Neben den positiven

Einfluss von T-Lymphozyten in Bezug auf das Verhindern von frühzeitiger Metastasierung, zeigt sich auch ein positiver Effekt auf das Gesamtüberleben von PatientInnen (63).

1.2.3.7 Monozyten/Makrophagen-Infiltration

Von allen in das Tumorgewebe infiltrierende Immunzellen machen die Makrophagen den größten Anteil aus. Diese Makrophagen werden auch Tumor-assoziierte Makrophagen, kurz TAM, genannt(46, 49). TAMs entsprechen den alternativ aktivierten M2-Phänotypen(64). Tumor-assoziierte Makrophagen spielen in der Malignität von Tumoren eine wichtige Rolle. Unter dem Einfluss verschiedener Signale, gelangen Tumor-assoziierte Makrophagen in das Tumorgewebe. Als Signal zur Makrophagenrekrutierung dienen unter anderem Chemokine, Zytokine und Hypoxie. Daher befinden sich TAMs vorzugsweise in hypoxischen Arealen von Tumoren. Im Tumorgewebe erfüllen sie eine Reihe von pro-tumorösen Aufgaben, welche nun genauer besprochen werden(38).

Angiogenese gilt als eines der zentralen Ereignisse in Tumoren und ist für Tumorwachstum von großer Bedeutung(64). Der Zusammenhang von Tumor-assoziierten Makrophagen und Angiogenese konnte unter anderem beim Mamakarzinom gezeigt werden, indem in gefäßreicheren Mammakarzinomen mehr Makrophagen gefunden werden konnten als in gefäßärmeren (65). Die in das Tumorgewebe infiltrierten Makrophagen schütten eine Reihe von Mediatoren aus, welche nun die Vaskularisierung innerhalb des Tumors fördern. Dazu zählen Fibroblasten-Wachstumsfaktoren, Thimidinphosphorylase, Urokinase Type Plasminogen Aktivator und Adrenomedullin(38). Ein wichtiger Stimulus zur Gefäßneubildung innerhalb von Tumoren ist VEGF. Unter hypoxischen Bedingungen schütten Tumorzellen, aber auch Makrophagen VEGF aus. Da sich Makrophagen, wie bereits beschrieben, bevorzugt in hypoxischen Arealen des Tumorgewebes aufhalten, sezernieren sie im Tumorgewebe vermehrt VEGF(38, 66).

Tumor-assoziierte Makrophagen dienen unter anderem auch der Progression von Malignomen. Dies erfüllen sie indem sie eine Reihe von Mediatoren wie Interleukin 10, TNF-beta oder CCL22 sezernieren. Diese sezernierten Stoffe weisen immunsuppressive Wirkungen auf. Dadurch werden neben der Vermehrung und

Aktivierung von T-Lymphozyten unter anderem auch natürliche Killerzellen gehemmt, welche eine wichtige Rolle in der Immunüberwachung spielen(38). Neben den oben beschriebenen protumorösen Effekten unterstützen Makrophagen Tumore auch bei verschiedenen Metastasierungsprozessen(67). Die Entstehung von Metastasen kann in folgenden Schritten erklärt werden. Im ersten Schritt, der sogenannten Intravasation, durchbrechen Tumorzellen Gefäßwände und gelangen so in die Blut- beziehungsweise Lymphbahn. Im zweiten Schritt gelangen die Tumorzellen über die Blut und Lymphwege zu den verschiedenen Organen, wo sie sich schließlich im dritten Schritt an die Gefäßwände anheften. Im Zuge der Extravasation verlassen sie wieder das Gefäßsystem, um schließlich im jeweiligen Organsystem zu wachsen(68, 69). Es konnte gezeigt werden, dass Tumor-assoziierte Makrophagen durch die Synthese und Ausschüttung von EGF, einem Wachstumsfaktor, direkt an der Intravasation der Tumorzellen beteiligt sind(38, 67, 70). Neben der Ausschüttung von EGF unterstützen Makrophagen den Metastasierungsprozess von Tumorzellen mit der Bildung von SPARC. Hierbei handelt es sich um ein matrizelluläres Protein(71). Ein weiteres wichtiges Merkmal maligner Tumore ist, neben der oben beschriebenen Fähigkeit zu Metastasierung, die Fähigkeit des invasiven Wachstums innerhalb des umliegenden Gewebes. Auch hierbei werden die Malignome von den infiltrierten Makrophagen unterstützt. TAMs schütten eine Reihe von Proteasen aus. Dadurch kann die umliegende Basalmembran von den Tumorzellen durchbrochen werden (72).

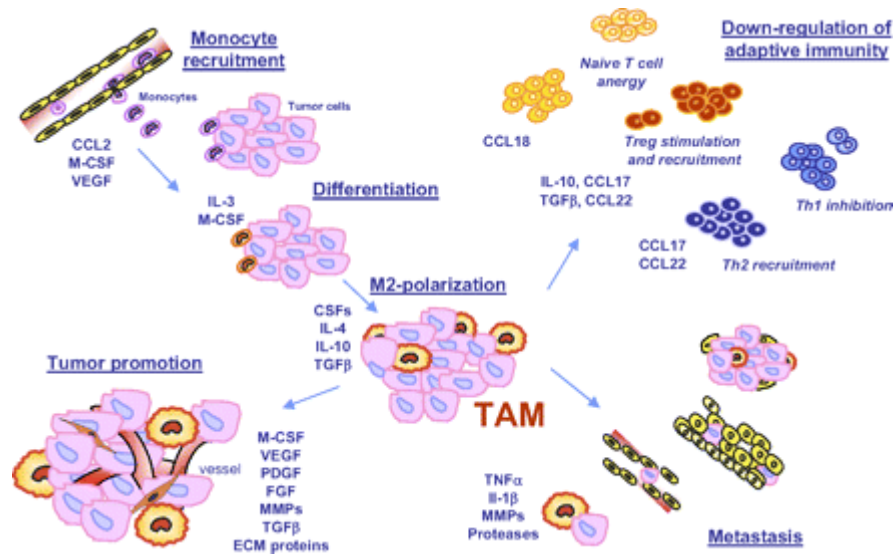


Abbildung 8: Tumor-assoziierte Makrophagen (73)

Wie auch bei anderen in das Tumorgewebe infiltrierten Immunzellen, zeigen auch Makrophagen anti-tumoröse Effekte. Zum Beispiel konnte gezeigt werden, dass Kupferzellen, die Makrophagen der Leber, Tumorzellen eliminieren und dadurch einen natürlichen Schutz vor einer Lebermetastasierung bilden(74).

Trotz der Tatsache, dass Makrophagen auch anti-tumoröse Effekte zeigen, ist das Vorhandensein von Makrophagen im Tumorgewebe mit einer schlechteren Prognose verbunden(38).

Somit könnte man vermuten, dass eine Lymphozytopenie, mit einer schwächeren Immunantwort des Körpers auf Tumore assoziiert ist. Gleichzeitig könnte eine erhöhte Anzahl von Monozyten dafür sprechen, dass vermehrt Makrophagen in das Tumorgewebe rekrutiert worden sind und dies somit für eine größere Tumormasse sprechen könnte.

1.3 Studienziel

Ziel der durchgeführten Studie war, die systemische Lymphozyten-Monozyten-Ratio als preoperativen prognostischen Marker für die Zeit bis zum Wiederauftreten des Tumors (TTR) und das Gesamtüberleben (OS) bei PatientInnen mit Kolonkarzinom zu untersuchen. Dafür wurde eine große Zahl an PatientInnen mit Kolonkarzinom im Stadium II und III analysiert.

2 Material und Methoden

2.1 Studienkollektiv

In die vorliegende retrospektive Studie wurden 372 PatientInnen mit histologisch verifiziertem Kolonkarzinom im Stadium II und III eingeschlossen. Alle PatientInnen wurden zwischen 1996 und 2011 an der Klinischen Abteilung für Onkologie der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz behandelt und in das Nachsorgeprogramm, entsprechend der geltenden Nachsorgerichtlinien(26), aufgenommen.

Die Nachsorgeuntersuchungen wurden dabei in folgenden Intervallen geplant:

- Alle 3 Monate in den Jahren 1-3
- Alle 6 Monate in den Jahren 4-5
- Alle 12 Monate in den Jahren 6-10

Die Nachsorgeuntersuchungen beinhalteten folgende Untersuchungen:

- Klinische Untersuchung
- Laborkontrollen und CEA
- Radiologische Untersuchungen
6 monatlich Thorax Röntgen und Abdomensonographie bzw. CT- und MR Untersuchung innerhalb der ersten 5 Jahre, anschließend jährlich
- Koloskopie alle 2 Jahre

Die klinischen Parameter sowie die histopathologischen Befunde wurden der Krankenakte der jeweiligen PatientInnen entnommen. Die Berechnung der LMR erfolgte aus präoperativen Blutbildern (Abstand zu Operation maximal 2 Wochen).

Die LMR wurde aus der absoluten Zahl der Lymphozyten dividiert durch die absolute Zahl der Monozyten berechnet.

Diese retrospektive Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz bewilligt (25-137 ex 12/13).

2.2 Statistische Auswertung

Der primäre Endpunkt der Studie war die rezidiv-freie Zeit (time to recurrence TTR), der sekundäre Endpunkt war das Gesamtüberleben (overall survival, OS). Die TTR wurde definiert, als Zeitspanne von Diagnose bis zum Wiederauftreten des Tumors (Lokalrezidiv oder Fernmetastasen). Lag bei den PatientInnen zum Zeitpunkt des Todes oder bei der letzten Nachuntersuchung kein Hinweis auf ein Rezidiv vor, wurden die Fälle statistisch zensiert.

Das OS wurde vom Zeitpunkt der Diagnose bis zum Tod der PatientInnen berechnet.

Der optimale Grenzwert, der sogenannte Cut-Off Level, für die LMR wurden durch Anwendung der Receiver Operating Curve (ROC)-Analyse bestimmt. Die LMR wurde mittels Chi-Quadrat- (χ^2) -Test mit den klinisch-pathologischen Eigenschaften korreliert. Die Assoziation zwischen den klinisch-pathologischen Eigenschaften und der LMR mit TTR und OS wurde mithilfe von Kaplan-Meier Kurven analysiert und durch den log-rank Test verglichen. In die multivariate Cox-Regressionsanalyse wurden klinisch-pathologische Faktoren eingeschlossen, welche in der univariaten Analyse signifikant mit TTR und OS assoziiert waren. Die durch Cox-Regressionsanalyse geschätzten Hazard Ratios (HRs) wurden als relative Risiken mit entsprechenden Konfidenzintervallen von 95% bewertet. Alle statistischen Analysen wurden mittels des Statistical Package for Social Sciences Version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt. Ein zweiseitiger p-Wert von <0.05 wurde als statistisch signifikant angenommen.

3 Ergebnisse

Die Charakteristika bzw. tumor-biologischen Faktoren des Pateintenkollektivs sind in Tabelle 1 dargestellt. Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung betrug 64 Jahre mit einer Spannweite von von 27 bis 95 Jahren. Die mittlere Nachsorgezeit der ProbandInnen betrug 68 Monate (1 bis 190 Monate).

Nach Anwendung der Receiver Operating Characteristic Kurve (ROC) konnten für das LMR folgende Cut-off-Levels bestimmt werden:

- TTR: 2.83
- OS: 2.14

Wie in Tabelle 1 dargestellt, konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Invasionstiefe des Tumors, der Lymphknotenbeteiligung sowie dem klinischen Stadium mit der TTR und dem OS gezeigt werden.

Tabelle 1: PatientInnencharakteristika und deren Assoziation mit TTR und OS in univariater Analyse

Parameter	n	%	TTR		OS	
			HR (95% CI)	p-Value	HR (95% CI)	p-Value
Geschlecht						
männlich	217	58.3	1 (Referenz)	0.417	1 (Referenz)	0.801
weiblich	155	41.7	1.19 (0.80-1.79)		1.06 (0.66-1.70)	
Lokalisation						
links	130	34.9	1 (Referenz)	0.781	1 (Referenz)	0.273
rechts	242	65.1	1.06 (0.69-1.63)		0.77 (0.48-1.23)	
Invasionstiefe						
T1	7	1.9	1 (Referenz)	0.010	Keine, aufgrund der niedrigen Anzahl an Ereignisse für T1 and T2 (T1-3 vs T4: 2.487 (1.53-4.04))	<0.001
T2	18	4.8	0.65 (0.06-7.17)			
T3	260	69.9	1.43 (0.20-10.34)			
T4	87	23.4	2.78 (0.38-20.36)			
Lymphknotenbeteiligung						
N0	156	41.9	1 (Referenz)	<0.001	1 (Referenz)	<0.001
N1	142	38.2	1.47 (0.87-2.48)		1.25 (0.69-2.26)	
N2	73	19.6	4.02 (2.42-6.69)		3.28 (1.85-5.83)	
Unbekannt	1	0.3				
Grading						
G1	23	6.2	1 (Referenz)	0.776	1 (Referenz)	0.092
G2	240	64.5	1.39 (0.51-3.83)		0.78 (0.28-2.20)	
G3	107	28.8	1.46 (0.51-4.16)		1.34 (0.47-3.83)	
Unbekannt	2	0.5				
Tumorstadium						
II	154	41.4	1 (Referenz)	<0.001	1 (Referenz)	0.017
III	217	58.3	2.36 (1.48-3.75)		1.86 (1.12-3.11)	
Unbekannt	1	0.3				
Adjuvante-Chemotherapie						
Nein	141	37.9	1 (Referenz)	0.605	1 (Referenz)	0.181
Ja	230	61.8	1.12 (0.73-1.72)		0.73 (0.73-1.72)	
Unbekannt	1	0.3				

In Tabelle 2 wird gezeigt, dass es zwischen der LMR und den klinisch-pathologischen Merkmalen keine Zusammenhänge gibt.

Tabelle 2: Zusammenhang zwischen LMR und klinisch-pathologischen Parametern

Parameter	LMR≤2.38	LMR>2.38	p-value
Tumorlokalisation links rechts	91 (72.8%) 158 (69%)	34 (27.2%) 71 (31%)	0.454
Tumortiefe T1 T2 T3 T4	5 (71.4%) 15 (83.3%) 177 (71.4%) 52 (64.2%)	2 (28.6%) 3 (16.7%) 71 (28.6%) 29 (35.8%)	0.384
Lymphknotenbeteiligung N0 N1 N2	108 (75.5%) 91 (65.5%) 49 (69%)	35 (24.5%) 48 (34.5%) 22 (31%)	0.176
Grading G1 G2 G3	14 (60.9%) 162 (72.3%) 71 (67.6%)	9 (39.1%) 62 (27.7%) 34 (32.4%)	0.412
Stadium II III	107 (75.9%) 141 (66.5%)	34 (24.2%) 71 (33.5%)	0.059

Von den 372 Kolonkarzinom-PatientInnen entwickelten 94 (25,3%) ein Rezidiv. 72 PatientInnen (19,4%) starben innerhalb des Nachsorgezeitraumes. Von den insgesamt 372 eingeschlossenen PatientInnen wurden 23 aus der Studie ausgeschlossen, da für diese keine gültigen Blutparameter vorlagen. Die weitere statistische Auswertung wurde mit den verbleibenden 349 PatientInnen durchgeführt. Von 215 PatientInnen mit einer LMR \leq 2.83 entwickelten 69 ein Rezidiv. Von den 134 PatientInnen mit einer LMR $>$ 2.83 erlitten 21 (15.7%) ein Tumorrezidiv ($p=0.001$). Von den 133 PatientInnen mit einem LMR \leq 2.14 verstarben 39 (29.3%), während von insgesamt 216 PatientInnen mit einem LMR $>$ 2.14 nur 28 (13%) verstarben ($p<0.001$).

In der univariaten Analyse konnte gezeigt werden, dass es zwischen erhöhter LMR ($>$ 2.83) und verlängerter TTR einen signifikanten Zusammenhang gibt. Dies ist in Abbildung 9 dargestellt (HR 0.47, 95%KI 0.29-0.76, $p=0.002$). Dieser Zusammenhang blieb auch in der multivariaten Analyse, die das klinische Stadium inkludierte, bestehen (HR 0.47, 95%KI 0.29-0.76, $p=0.002$; klinischen Stadium: HR 2.38, 95%KI= 1.47-3.85, $p<0.001$).

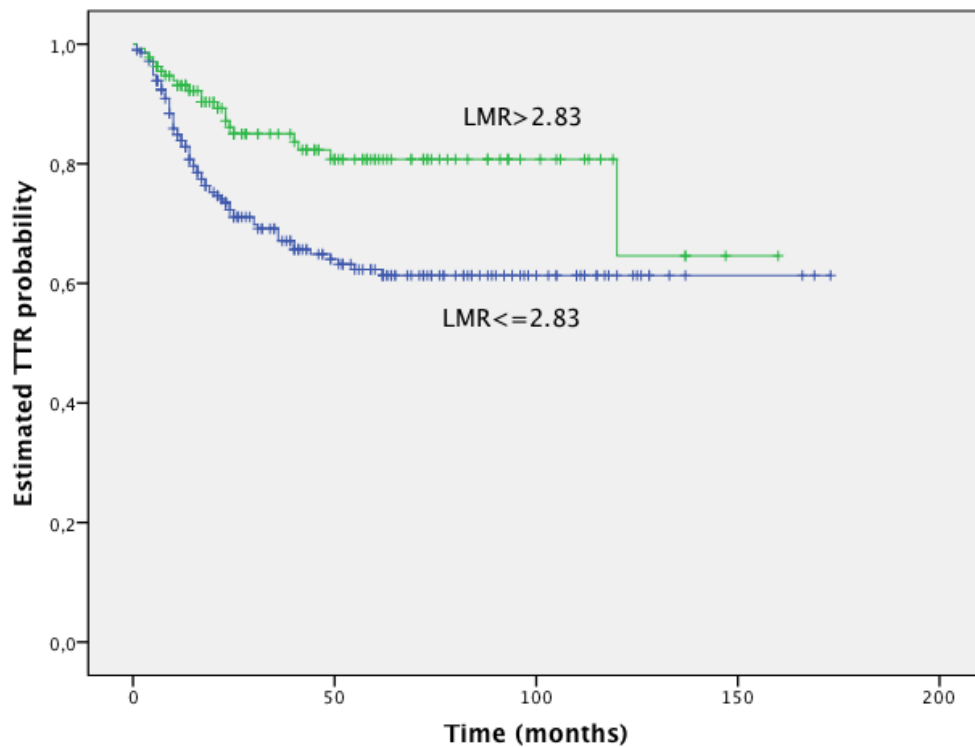


Abbildung 9: Die preoperative LMR in Assoziation mit TTR

PatientInnen mit einer $LMR > 2.83$ zeigten eine mittlere TTR von 127 Monaten. In Vergleich dazu zeigten PatientInnen mit einer $LMR \leq 2.83$ eine mittlere TTR von 114 Monaten.

Auch in Bezug auf das Gesamtüberleben konnte in einer univariaten Analyse gezeigt werden, dass es zwischen den höheren preoperativen LMR-Werten und dem OS einen signifikanten Zusammenhang gibt (HR 0.48, 95%KI 0.29-0.78, $p=0.003$). Diesen Zusammenhang stellt Abbildung 10 grafisch dar. In der multivariaten Analyse blieb der statistisch signifikante Zusammenhang bestehen (HR 0.51, 95% KI 0.31-0.83, $p=0.007$; Klinisches-Stadium: HR 2.03, 95%KI 1.16-3.53, $p=0.013$).

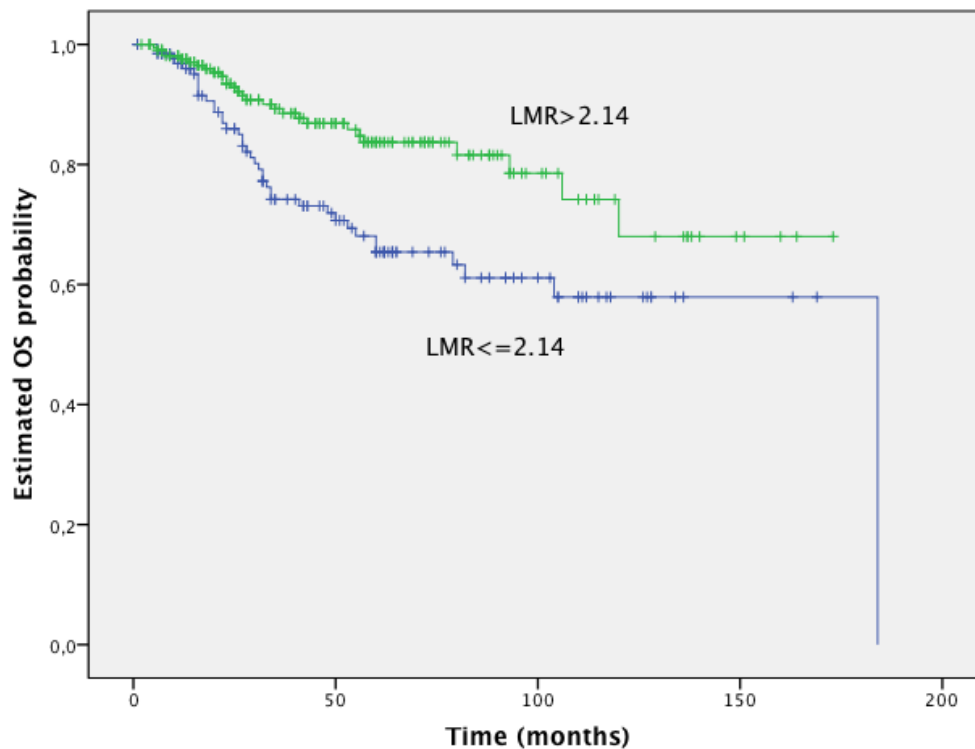


Abbildung 10: Die preoperative LMR in Assoziation mit OS

PatientInnen mit einer LMR > 2.14 zeigten ein mittleres OS von 139 Monaten, wobei PatientInnen mit einer LMR ≤ 2.14 ein mittleres OS von nur 124 Monaten aufwiesen.

In der Interaktionsanalyse für TTR gab es zwischen der LMR und dem klinischen Stadium einen signifikanten Zusammenhang ($p=0.005$). Daraufhin wurden PatientInnen im Stadium II und III getrennt voneinander auf die Assoziation von LMR mit TTR untersucht.

Dabei zeigte sich, dass es bei PatientInnen mit Kolonkarzinom im Stadium II keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem LMR > 2.83 und TTR gibt (HR 0.40, 95%KI 0.28-1.66, $p=0.397$). Dies ist in Abbildung 11 grafisch dargestellt.

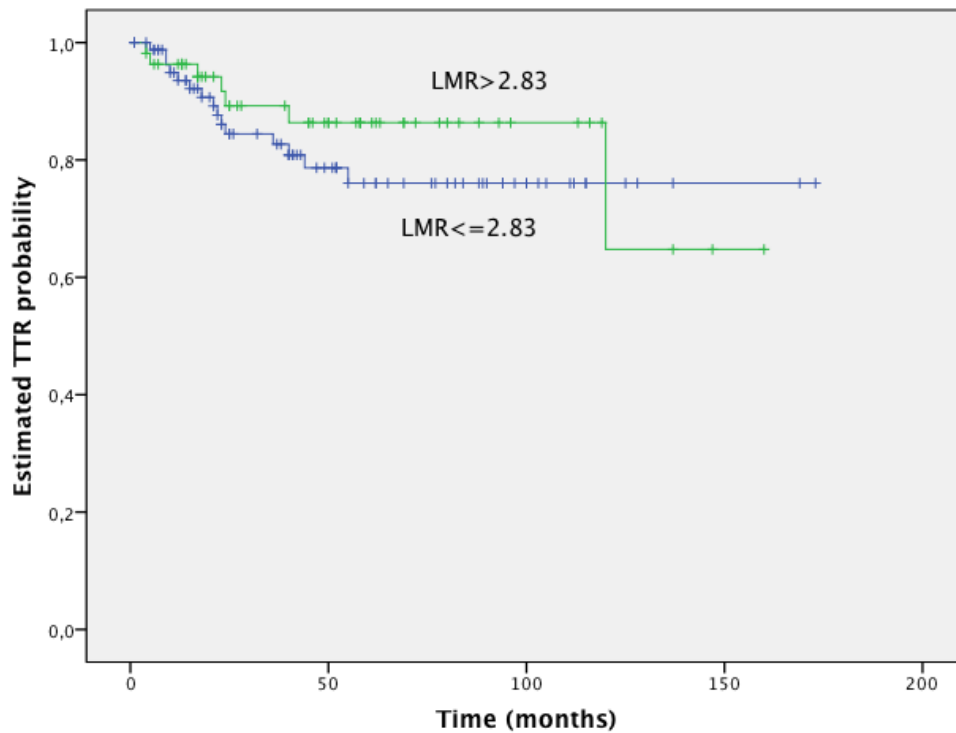


Abbildung 11: Zusammenhang zwischen LMR und TTR bei Kolonkarzinom-PatientInnen im Stadium II

Im Gegensatz dazu ist bei Kolonkarzinom-PatientInnen im Stadium III ein signifikanter Zusammenhang zwischen LMR >2.83 und TTR (HR 0.40, 95% KI 0.22-0.72, p=0.002) gegeben (siehe Abbildung 12).

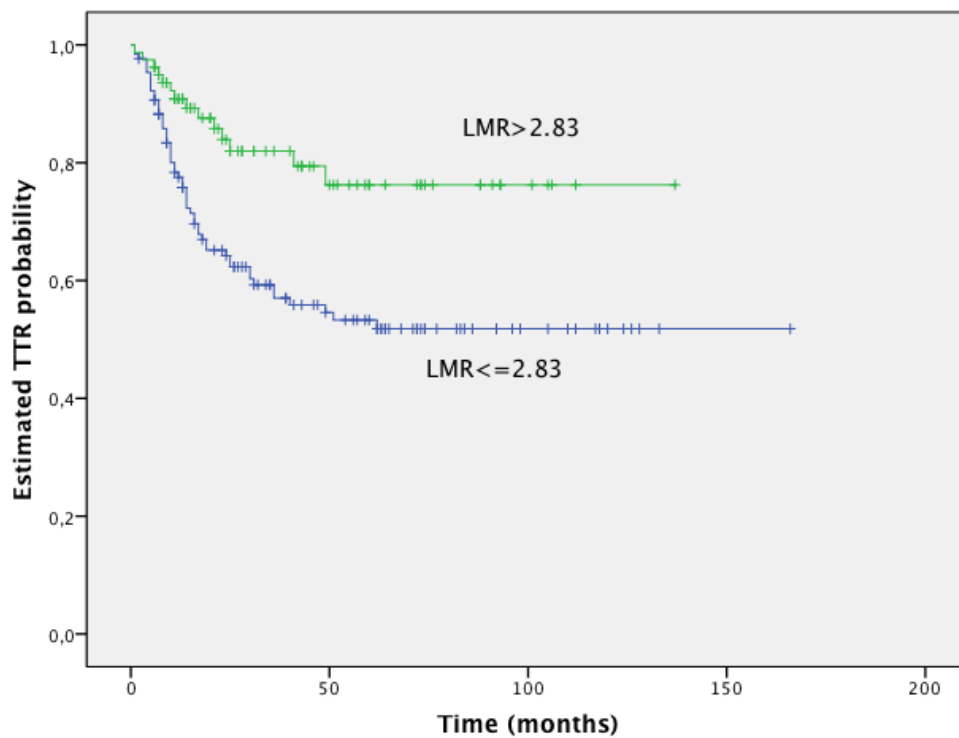


Abbildung 12: Zusammenhang zwischen LMR und TTR bei Kolonkarzinom-PatientInnen im Stadium III

Um zu untersuchen, ob ‚Hochrisiko-PatientInnen‘ basierend auf $LMR \leq 2,83$ von einer adjuvanten Chemotherapie nach Operation profitieren, wurde eine Kaplan-Meier-Analyse bzw. ein Logrank-Test durchgeführt.

Wie in Abbildung 13 grafisch dargestellt wird, zeigt sich bei diesen PatientInnen jedoch kein Benefit durch die adjuvante Chemotherapie (HR 0.99; 95%KI 0.60-1.63; $p=0.953$).

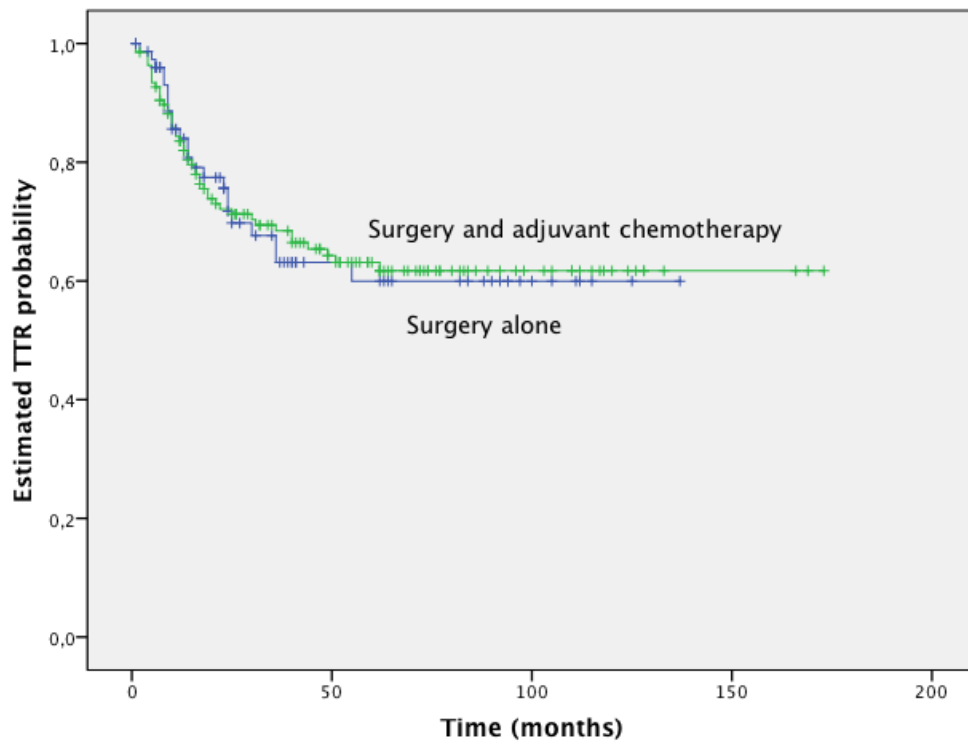


Abbildung 13: Zusammenhang zwischen adjuvanter Chemotherapie oder alleiniger Operation mit TTR in "Hochrisiko"-PatientInnen basierend auf $LMR \leq 2.83$

4 Diskussion

Kolonkarzinome zählen weltweit zu häufigen Malignomen (2).

Bei PatientInnen mit Kolonkarzinom im Stadium II (Hochrisiko) und III ist eine Chemotherapie mit 5-Fluorouracil und Oxaliplatin nach erfolgter Operation die empfohlene Therapiestrategie (33). Jedoch profitieren nicht alle PatientInnen von dieser adjuvanten Chemotherapie. Einige PatientInnen mit Kolonkarzinom sind bereits durch die operative Resektion des Tumors geheilt und somit wäre eine adjuvante Chemotherapie nicht notwendig gewesen. Aufgrund dessen sind prognostische Biomarker von sehr großem Interesse.

Prognostische Biomarker sind für das Kolonkarzinom bereits vorhanden jedoch nicht entsprechend validiert. Auch aufgrund hoher Analyse Kosten werden diese Marker noch nicht im klinischen Alltag eingesetzt (75, 76).

In dieser retrospektiven Studie wurden 372 PatientInnen mit histologisch bestätigtem Kolonkarzinom im Stadium II und III eingeschlossen und auf einen möglichen Zusammenhang zwischen der rezidiv-freien Zeit (TTR) und dem Gesamtüberleben (OS) mit dem Verhältnis von Lymphozyten zu Monozyten (LMR) untersucht.

Dabei konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen LMR und TTR sowie LMR und OS gefunden werden: Ein erhöhter LMR-Wert war mit einer längeren Zeit bis zum Wiederauftreten des Tumors sowie einem höheren Gesamtüberleben assoziiert.

Im Speziellen konnte für die TTR gezeigt werden, dass der Zusammenhang auf PatientInnen mit Kolonkarzinom im Stadium III beschränkt zu sein scheint.

Außerdem gibt diese Studie einen Hinweis, dass ‚Hochrisiko‘ PatientInnen basierend auf einer $LMR \leq 2.83$ möglicherweise nicht von einer adjuvanten Chemotherapie profitieren.

Da es sich um eine retrospektive Studie handelt, kann ein Selektionsbias jedoch nicht ausgeschlossen werden. Darüber hinaus haben wir wegen des explorativen Charakters dieser Studie optimierte LMR Cut-off Level für TTR und OS mittels ROC-Analyse verwendet. Die Stärke dieser Studie ist einerseits die große

PatientInnenzahl, andererseits die lange Beobachtungszeit. Außerdem konnte mit der LMR ein Biomarker identifiziert werden, welcher leicht verfügbar und mit wenig Kosten verbunden ist.

Eine erhöhte Anzahl von Monozyten könnte dafür sprechen, dass vermehrt Makrophagen in das Tumorgewebe rekrutiert worden sind und dies für eine größere Tumormasse spricht. Im Gegensatz dazu spielen Lymphozyten in der Bekämpfung von malignen Zellen eine Rolle. Lymphozyten gelten als die zelluläre Basis der Immunüberwachung(35, 61). Somit kann vermutet werden, dass eine niedrige Lymphozytenzahl mit einer schwächeren Immunantwort des Körpers assoziiert ist.

Dies würde den Zusammenhang zwischen LMR und TTR/ OS erklären da ein erhöhter LMR-Wert einer niedrigen Monozytenzahl und einer hohen Lymphozytenzahl entspricht.

Ähnliche Ergebnisse wurden in einer Studie von Li et al. gefunden. Hier wurden 438 PatientInnen mit einem diffusem B-Zell Lymphom, die mit einer R-CHOP basierenden Chemotherapie behandelt wurden, retrospektiv untersucht. Dabei konnte die LMR als prognostischer Marker für das Gesamtüberleben gezeigt werden, indem ein niedriger LMR-Wert mit einer schlechteren Prognose assoziiert war(77).

Vergleichend dazu konnte Porrata et al. in einer Studie zeigen, dass die LMR auch bei PatientInnen mit klassischem Hodgkin Lymphom einen prognostischen Marker darstellt(78).

In einer weiteren Studie von Porrata et al. wird die LMR auch als prognostischer Marker für PatientInnen mit nodulärem lymphozyten-prädominantem Hodgkin Lymphom beschrieben (79).

Schlussfolgerung:

In dieser Studie wurde erstmals der Zusammenhang zwischen der LMR und dem TTR und OS bei PatientInnen mit operiertem Kolonkarzinom untersucht.

Das Ergebnis dieser Studie zeigt, dass eine niedrige LMR ein negativer prognostischer Marker für PatientInnen mit Kolonkarzinom vor allem im Stadium III darstellt.

5 Literaturverzeichnis

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2011;61(2):69-90.
2. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2010;127(12):2893-917.
3. Arastéh K, Baenkler HW, Bieber C, Brandt R, Chatterjee T. *Duale Reihe Innere Medizin*: Thieme; 2012. 541-64 p.
4. Van Cutsem E, Nordlinger B, Cervantes A. Advanced colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for treatment. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2010;21 Suppl 5:v93-7.
5. A. Available from:
http://www.statistik.at/web_de/static/dickdarm_und_enddarm_c18-c21_-_krebsinzidenz_neuerkrankungen_pro_jahr_oest_021701.pdf.
6. Fritsch H, Platzer W, Kühnel W, Leonhardt H. *Taschenatlas Anatomie: Innere Organe / Helga Fritsch ; Wolfgang Kühnel. Begr. von Helmut Leonhardt. Zeichn. von Gerhard Spitzer und Holger Vanselow*: Thieme; 2009. 202-11 p.
7. Schünke M, Schulte E, Schumacher U. *Prometheus - Lernatlas der Anatomie: Hals und Innere Organe ; 78 Tabellen*: Thieme; 2005. 150-322 p.
8. Schiebler TH. *Anatomie*: Springer; 2005. 530-649 p.
9. B. Available from:
http://www.stuhlinkontinenzkontrolle.de/wcm/groups/mdtcom_sg/@mdt/@eu/documents/images/de-colon.gif.
10. Heinzeller T, Büsing CM. *Histologie, Histopathologie und Zytologie für den Einstieg*: Thieme; 2001.
11. Stein E. *Anorectal and Colon Diseases: Textbook and Color Atlas of Proctology ; with 54 Tables*: Springer; 2003. 223-36 p.
12. C. Available from: <http://www.webmd.com/colorectal-cancer/colon-polyp>.
13. Herold G. *Innere Medizin 2011: eine vorlesungsorientierte Darstellung ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die ärztliche Prüfung ; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis*: Selbstverl.; 2011. 417-558 p.
14. Levine JS, Ahnen DJ. Adenomatous polyps of the colon. *New England Journal of Medicine*. 2006;355(24):2551-7.
15. Bond JH. Polyp Guideline: Diagnosis, Treatment, and Surveillance for Patients with Nonfamilial Colorectal Polyps*. *Annals of internal medicine*. 1993;119(8):836-43.
16. Böcker D, Heitz, Moch. *Pathologie, 4.Auflage 2008* © Elsevier GmbH, Urban & Fischer, München. 760.
17. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *Journal of the National Cancer Institute*. 1999;91(11):916-32.
18. Lynch HT, Smyrk T, Lynch J. An update of HNPCC (Lynch syndrome). *Cancer genetics and cytogenetics*. 1997;93(1):84-99.
19. Kim E, Coelho D, Blachier F. Review of the association between meat consumption and risk of colorectal cancer. *Nutrition research (New York, NY)*. 2013;33(12):983-94.

20. Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, et al. Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. *PLoS one*. 2011;6(6):1-11.
21. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, Islami F, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Annals of oncology*. 2011;22(9):1958-72.
22. Hiddemann W, Bartram CR. *Die Onkologie*: Springer; 2010. 848-97 p.
23. Geißler M, Graeven U. *Das kolorektale Karzinom: evidenzbasierte Leitlinien ; 27 Tabellen*: Thieme; 2005. 7-11 p.
24. Liang PS, Chen TY, Giovannucci E. Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis. *International Journal of cancer*. 2009;124(10):2406-15.
25. O'Byrne KJ, Dalglish AG, Browning MJ, Steward WP, Harris AL. The relationship between angiogenesis and the immune response in carcinogenesis and the progression of malignant disease. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2000;36(2):151-69.
26. Labianca R, Nordlinger B, Beretta GD, Mosconi S, Mandala M, Cervantes A, et al. Early colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2013;24 Suppl 6:vi64-72.
27. Dains JE, Baumann LC, Scheibel P. *Advanced Health Assessment & Clinical Diagnosis in Primary Care*: Elsevier Health Sciences; 2012. 321-34 p.
28. Cassidy J, Johnston P, Van Cutsem E. *Colorectal Cancer*: Taylor & Francis; 2006. 103-25 p.
29. Willett CG, Society AC. *Cancer of the Lower Gastrointestinal Tract*: B.C. Decker; 2001. 53-81 p.
30. Jauch KW, Mutschler W, Hoffmann JN, Kanz KG. *Chirurgie Basisweiterbildung: In 99 Schritten Durch Den Common Trunk*: Springer; 2012. 793-807 p.
31. E. Available from: <https://www.dgho-onkopedia.de/de/onkopedia/leitlinien/kolonkarzinom>.
32. Steinbeck G, Paumgartner G, Brandt T. *Therapie Innerer Krankheiten: [Therapie Evidenz-basiert]*: Springer; 2005. 426-759 p.
33. Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein A, Valentini V, Glimelius B, Haustermans K, et al. ESMO Consensus Guidelines for management of patients with colon and rectal cancer. a personalized approach to clinical decision making. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2012;23(10):2479-516.
34. Quackenbush J. Microarray analysis and tumor classification. *New England Journal of Medicine*. 2006;354(23):2463-72.
35. Lüllmann-Rauch R. *Taschenlehrbuch Histologie: 10 Tabellen*: Thieme; 2006. 260-324 p.
36. Rintelen H, Speckmann EJ, Hescheler J, Köhling R. *Physiologie*: Elsevier Health Sciences Germany; 2008. 305-89 p.
37. Hof H, Dörries R. *Medizinische Mikrobiologie*: Thieme; 2014. 61-146 p.
38. Chanmee T, Ontong P, Konno K, Itano N. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers*. 2014;6(3):1670-90.
39. Suerbaum S, Hahn H, Burchard GD, Kaufmann SHE, Schulz TF. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*: Springer Berlin Heidelberg; 2012. 35-118 p.
40. F. Available from: <http://www.jleukbio.org/content/86/5/1065/F1.expansion.html>.

41. G. Available from: <http://www.krebsinformationsdienst.de/grundlagen/immunsystem.php>.
42. Behrends JC. Physiologie: 93 Tabellen: Thieme; 2010. 193-225 p.
43. Ruegg C. Leukocytes, inflammation, and angiogenesis in cancer: fatal attractions. *Journal of leukocyte biology*. 2006;80(4):682-4.
44. H. Available from: http://www.regiomed.net/DAH/themen/immsys_2.html.
45. Aggarwal BB, Shishodia S, Sandur SK, Pandey MK, Sethi G. Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochemical pharmacology*. 2006;72(11):1605-21.
46. Allavena P, Garlanda C, Borrello MG, Sica A, Mantovani A. Pathways connecting inflammation and cancer. *Current opinion in genetics & development*. 2008;18(1):3-10.
47. Mantovani A. Cancer: inflammation by remote control. *Nature*. 2005;435(7043):752-3.
48. Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut*. 2001;48(4):526-35.
49. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008;454(7203):436-44.
50. Xie J, Itzkowitz SH. Cancer in inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2008;14(3):378.
51. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer cell*. 2009;16(3):183-94.
52. Piccard H, Muschel R, Opdenakker G. On the dual roles and polarized phenotypes of neutrophils in tumor development and progression. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2012;82(3):296-309.
53. Ishibashi S, Ohashi Y, Suzuki T, Miyazaki S, Moriya T, Satomi S, et al. Tumor-associated tissue eosinophilia in human esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer research*. 2006;26(2b):1419-24.
54. Dyduch G, Kaczmarczyk K, Okoń K. Mast cells and cancer: enemies or allies. *Pol J Pathol*. 2012;63(1):1-7.
55. Theoharides TC, Conti P. Mast cells: the Jekyll and Hyde of tumor growth. *Trends in immunology*. 2004;25(5):235-41.
56. Oldford SA, Haidl ID, Howatt MA, Leiva CA, Johnston B, Marshall JS. A critical role for mast cells and mast cell-derived IL-6 in TLR2-mediated inhibition of tumor growth. *The Journal of Immunology*. 2010;185(11):7067-76.
57. Ch'ng S, Wallis RA, Yuan L, Davis PF, Tan ST. Mast cells and cutaneous malignancies. *Modern pathology*. 2005;19(1):149-59.
58. Gooch JL, Lee AV, Yee D. Interleukin 4 inhibits growth and induces apoptosis in human breast cancer cells. *Cancer research*. 1998;58(18):4199-205.
59. Conti P, Castellani ML, Kempuraj D, Salini V, Vecchiet J, Tetè S, et al. Role of mast cells in tumor growth. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 2007;37(4):315-22.
60. Lotze MT, Thomson AW. *Natural Killer Cells: Basic Science and Clinical Application*: Elsevier Science; 2009. 3-311 p.
61. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*. 2004;21(2):137-48.
62. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pages C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*. 2006;313(5795):1960-4.

63. Pagès F, Berger A, Camus M, Sanchez-Cabo F, Costes A, Molidor R, et al. Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer. *New England journal of medicine*. 2005;353(25):2654-66.
64. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends in immunology*. 2002;23(11):549-55.
65. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, Greenall M, Clarke J, Harris AL. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer research*. 1996;56(20):4625-9.
66. Lewis J, Landers R, Underwood J, Harris A, Lewis C. Expression of vascular endothelial growth factor by macrophages is up-regulated in poorly vascularized areas of breast carcinomas. *The Journal of pathology*. 2000;192(2):150-8.
67. Condeelis J, Pollard JW. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell*. 2006;124(2):263-6.
68. Bäumer R. *Onkologische Pflege*: Thieme; 2008. 90-150 p.
69. Hiddemann W, Bartram CR, Huber H. *Die Onkologie: Teil 1: Epidemiologie - Pathogenese - Grundprinzipien der Therapie; Teil 2: Solide Tumoren - Lymphome - Leukämien*: Springer Berlin Heidelberg; 2013. 326-9 p.
70. Qian B-Z, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010;141(1):39-51.
71. Sangaletti S, Di Carlo E, Gariboldi S, Miotti S, Cappetti B, Parenza M, et al. Macrophage-derived SPARC bridges tumor cell-extracellular matrix interactions toward metastasis. *Cancer research*. 2008;68(21):9050-9.
72. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer research*. 2006;66(2):605-12.
73. I. Available from: <http://www.jleukbio.org/content/86/5/1065/F2.expansion.html>.
74. Bayon LG, Izquierdo MA, Sirovich I, Beelen R, Meijer S. Role of Kupffer cells in arresting circulating tumor cells and controlling metastatic growth in the liver. *Hepatology*. 1996;23(5):1224-31.
75. Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, et al. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28(3):466-74.
76. Salazar R, Roepman P, Capella G, Moreno V, Simon I, Dreezen C, et al. Gene expression signature to improve prognosis prediction of stage II and III colorectal cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29(1):17-24.
77. Li Z-M, Huang J-J, Xia Y, Sun J, Huang Y, Wang Y, et al. Blood lymphocyte-to-monocyte ratio identifies high-risk patients in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *PloS one*. 2012;7(7):e41658.
78. Porrata LF, Ristow K, Colgan J, Habermann T, Witzig T, Thompson C, et al. Peripheral blood lymphocyte/monocyte ratio at diagnosis and survival in classical Hodgkin lymphoma. *Haematologica*. 2011;haematol. 2011.050138.
79. Porrata LF, Ristow K, Habermann TM, Witzig TE, Colgan JP, Inwards DJ, et al. Peripheral blood lymphocyte/monocyte ratio at diagnosis and survival in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. *British journal of haematology*. 2012;157(3):321-30.