

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Expression der Glyoxalase 1 und von Argpyrimidin im ösophagealen
Plattenepithelkarzinom in einem Patient:innenkollektiv der Universitätsmedizin Mainz

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Verena Feller
aus Schwetzingen

Mainz, 2026

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. Philipp Drees

1. Gutachter: Prof. Dr. Markus Möhler

Tag der Promotion: 28.07.2026

Nachnutzungslizenz: Namensnennung (CC-BY-4.0)

Für meine Familie, meinen Partner und meine Freunde und Freundinnen

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	VI
1. Einleitung / Ziel der Dissertation	1
2. Literaturdiskussion	3
2.1. Ösophaguskarzinom	3
2.1.1. Einteilung	3
2.1.2. Epidemiologie	6
2.1.3. Ätiologie	8
2.1.4. Diagnostik	10
2.1.5. Prognosefaktoren	17
2.1.6. Kurative Therapie	17
2.1.7. Palliative Therapie	25
2.2. Advanced Glycation End Products und Glyoxalase-System	28
2.2.1. Biochemische Grundlagen	28
2.2.2. Die Rolle des Glyoxalase-Systems und von Methylglyoxal bei Übergewicht und Diabetes mellitus	29
2.2.3. Die Rolle des Glyoxalase-Systems und von Methylglyoxal bei malignen Erkrankungen	30
2.2.4. GLO-Inhibitoren	32
2.2.5. Das Glyoxalase-System in spezifischen Tumorentitäten	33
3. Material und Methoden	35
3.1. Material	35
3.2. Methoden	36
3.2.1. Vorbereitung der Probe	36
3.2.2. Immunhistochemische Färbung	37
3.2.3. Mikroskopische Auswertung	37
3.2.4. Statistische Auswertung	38
4. Ergebnisse	41
4.1. Deskription des Patient:innenkollektivs	41
4.1.1. Patient:innendaten	41
4.1.2. Risikofaktoren	41
4.1.3. Tumordaten	42
4.1.4. Therapiealgorithmus	44
4.2. Deskription der IHC-Ergebnisse	47
4.2.1. Art der Probenahme	47
4.2.2. Glyoxalase-1-Färbeergebnisse	48
4.2.3. Argpyrimidin (MAGE) – Färbeergebnisse	49

4.3.	Zusammenhänge zwischen den IHC-Färbeergebnissen und den erhobenen Variablen.....	51
4.3.1.	Zusammenhang zwischen den Färbeergebnissen und den Patient:innendaten	51
4.3.2.	Zusammenhang zwischen den Färbeergebnissen und den Risikofaktoren ...	51
4.3.3.	Zusammenhang zwischen den Färbeergebnissen und den Tumordaten.....	52
4.3.4.	Zusammenhang zwischen den Färbeergebnissen und der Art der Probenahme	53
4.3.5.	Übersicht: Statistische Zusammenhänge mit einem p-Wert<0,2	54
4.3.6.	Zusammenhang zwischen den beiden Färbungen	55
4.3.7.	Multivariate Analyse	56
4.4.	Überlebenszeitanalysen.....	59
4.4.1.	Überlebenszeitanalyse im Gesamtkollektiv.....	59
4.4.2.	Überlebenszeitanalyse in den Behandlungsarmen.....	60
4.4.3.	Überlebenszeitanalyse hinsichtlich der Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten	61
4.4.4.	Überlebenszeitanalyse hinsichtlich der Färbungen im Gesamtkollektiv (prognostischer Wert)	62
4.4.5.	Überlebenszeitanalysen hinsichtlich der Färbungen in den Behandlungsarmen (prädiktiver Wert)	64
4.4.6.	Multivariate Überlebenszeitanalyse	68
5.	Diskussion	72
5.1.	Vergleich der Zusammensetzung des Gesamtkollektivs mit der aktuellen Datenlage	72
5.1.1.	Limitationen der Datenerfassung	72
5.1.2.	Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten.....	72
5.1.3.	Therapiealgorithmus	73
5.2.	Diskussion der Färbemethode und Färbeergebnisse	74
5.2.1.	Limitationen der immunhistochemischen Färbung.....	74
5.2.2.	Vergleich der Färbungsergebnisse mit ähnlichen Studien.....	75
5.3.	Einfluss der erhobenen Variablen auf die GLO- und Argpyrimidin-Färbung.....	78
5.3.1.	Geschlecht und Alter.....	79
5.3.2.	Nikotinkonsum.....	79
5.3.3.	Gewicht	79
5.3.4.	Tumordaten.....	80
5.3.5.	Art der Probenahme.....	81
5.4.	Diskussion Überlebensanalysen.....	82
5.4.1.	Überleben im Gesamtkollektiv	82
5.4.2.	Einfluss der erhobenen Variablen auf das Gesamtüberleben	82
5.4.3.	Die Rolle der Glyoxalase 1 und von Argpyrimidin als mögliche prognostische Marker	83
5.4.4.	Die Rolle der Glyoxalase 1 und von Argpyrimidin als mögliche prädiktive Marker	85

6.	Zusammenfassung	88
7.	Anhang	91
8.	Danksagung.....	103
9.	Literaturverzeichnis.....	104

Abkürzungsverzeichnis

5-FU	5-Fluorouracil
A. dest.	Aqua destillata
a-GLO/MAGE	Antikörper gegen GLO/MAGE
Abk.	Abkürzung
AdipoR1/R2	Adiponektinrezeptor 1/2
adj.	adjuvant
AEG	Adenocarcinoma of esophagogastric junction (Adenokarzinom des gastroösophagealen Übergangs)
AGE	Advanced glycation end product
AKR	Aldoketoreduktase
al.	alia (andere)
ALDH	Aldehyddehydrogenase
APC	Argon-Plasma-Koagulation
ARE	Antioxidant response element
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
CEUS	contrast-enhanced ultrasound
CML	N-(Carboxymethyl)-Lysin
CPS	combined positive score
CT	Computertomographie Chemotherapie
cTNM	Klinisches TNM-Stadium
DAB	Diaminobenzidin
dMMR	Mismatch Reparatur Defizienz
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSS	Disease specific survival
EAC	Esophageal adenocarcinoma (ösophageales Adenokarzinom)
EMR	Endoskopische Mukosaresektion
ESCC	Esophageal squamous cell carcinoma (ösophageales Plattenepithelkarzinom)
ESD	Endoskopische Submukosadisektion
EUS	Endoskopischer Ultraschall/Endosonographie
FDG-PET	18F-Fluordesoxyglucose-Positronenemissionstomographie
FLOT	Chemotherapie-Protokoll bestehend aus 5-Fluorouracil (5-FU), Folinsäure, Oxaliplatin, Docetaxel

FNP	Feinnadelpunktion
FOLFOX	Chemotherapie-Protokoll bestehend aus Oxaliplatin, Folinsäure, 5-FU
G+/-	positive/negative GLO-Färbung
GERD	gastro-esophageal reflux disease
GLO	Glyoxalase
GSH	Glutathion
HCC	Hepatocellular carcinoma (hepatozelluläres Karzinom)
Her2neu	Human epidermal growth factor receptor 2
HGIEN	Hochgradige intraepitheliale Neoplasie
HP	Helicobacter pylori
HPV	Humanes Papillomavirus
HR	Hazard Ratio
HRP	Horseradish peroxidase
H-Score	Histoscore
IEN	Intraepitheliale Neoplasie
IHC	Immunhistochemie
IRS	Immunreaktiver Score
i.v.	intravenös
KAT2B	K-Acetyltransferase 2B
KI	Konfidenzintervall
KWT	Kruskal-Wallis-Test
LGIEN	Leichtgradige intraepitheliale Neoplasie
LK	Lymphknoten
lncRNA	long non-coding Ribonukleinsäure
M+/-	Positive/negative MAGE-Färbung Mit/ohne Fernmetastasen
MAGE	Methylated advanced glycation end product (hier: Argpyrimidin)
MDCT	Multidetektor-Computertomographie
MDR	Multi drug resistance (Multiple Medikamenten-Resistenz)
MG	Methylglyoxal
mRNA	Messenger RNA
MRT	Magnetresonanztomographie
MSI	Mirkosatelliteninstabilität
MWUT	Mann-Whitney-U-Test
NBI	Narrow band imaging
NSCLC	non-small-cell lung cancer

nuc	nukleär
ÖGD	Ösophagogastroduodenoskopie
OR	Odds Ratio
OS	Overall survival
PCR	Polymerasekettenreaktion
PD-L1	Programmed cell death ligand 1
PEG	Perkutane endoskopische Gastrostomie
PFS	Progression free survival
pTNM	Pathologisches TNM-Stadium
PY	Pack years
qRT-PCR	Quantitative Echtzeit- Polymerasekettenreaktion
Rad	Radiatio
RAGE	receptor for advanced glycation end products
RCS	Reactive carbonyl species
RCT	Radiochemotherapie Randomized controlled trial
Ref.	Referenzkategorie
RFA	Radiofrequenzablation
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure
R-Status	Resektionsstatus
SD	Standardabweichung
SEMS	Selbstexpandierende Metallstents
Sign.	Signifikanz
siRNA	Small interfering RNA
sRAGE	Soluble receptor for advanced glycation end products (lösliche Form)
TAE	Thorakoabdominelle Ösophagektomie
TEG	Transhiatal erweiterte Gastrektomie
TNM-Stadium	Einteilung von Tumoren nach Ausdehnung des Primärtumors (T), Lymphknotenbefall (N) und des Auftretens von Metastasen (M)
TPS	tumor proportion score
TT	Targeted therapy
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
VEGFR	Vascular endothelial growth factor receptor
WHO	World Health Organization

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2020 (1).....	1
Abbildung 2 Verteilung der UICC-Stadien des Ösophaguskarzinoms bei Erstdiagnose nach Geschlecht (1).....	7
Abbildung 3 Relatives 5-Jahres-Überleben beim Ösophaguskarzinom nach UICC-Stadium und Geschlecht (3).....	7
Abbildung 4 Risikofaktoren für die Entstehung eines Ösophaguskarzinoms (2)	10
Abbildung 5 Staging beim Ösophaguskarzinom (2).....	13
Abbildung 6 Kurativer Therapiealgorithmus für das Adenokarzinom des Ösophagus und des gastroösophagealen Übergangs (2).....	24
Abbildung 7 Kurativer Therapiealgorithmus für das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus (2)	24
Abbildung 8 Palliativer Therapiealgorithmus für das Adenokarzinoms des Ösophagus und des gastroösophagealen Übergangs (2).....	26
Abbildung 9 Palliativer Therapiealgorithmus für das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus (2).....	27
Abbildung 10 Übersicht über die Entstehung von Methylglyoxal und Advanced Glycation End Products, die damit assoziierten Folgeerkrankungen und Abbaumechanismen (8).....	29
Abbildung 11 Häufigkeitsverteilung der IRS-Scores der GLO- und MAGE-Färbung	40
Abbildung 12 Aufteilung des Kollektivs auf die unterschiedlichen Therapiearme (CT - Chemotherapie, Rad. - Radiatio, RCT - Radiochemotherapie, TT - targeted therapy).....	44
Abbildung 13 Ausschnitte aus Präparaten der Gruppen negativ, schwach, moderat und positiv in der GLO1-Färbung (200x Vergrößerung).....	49
Abbildung 14 Ausschnitte aus Präparaten der Gruppen negativ, schwach, moderat und positiv in der MAGE-Färbung (200x Vergrößerung).....	50
Abbildung 15 Mittelwert des Erstdiagnose-Alters aufgeteilt nach MAGE-Färbungsgruppen .	51
Abbildung 16 Verteilung der GLO-negativen und GLO-positiven Gruppe hinsichtlich des Gewichts.....	52
Abbildung 17 Verteilung der GLO-negativen und GLO-positiven Gruppe hinsichtlich der Tumorlokalisation	53
Abbildung 18 Verteilung der MAGE-negativen und MAGE-positiven Gruppe hinsichtlich des Zeitpunkts der Probenahme	54
Abbildung 19 Kaplan-Meier-Kurve für das Überleben im Gesamtkollektiv.....	59
Abbildung 20 Kaplan-Meier-Kurven für die einzelnen Therapiearme	60
Abbildung 21 Kaplan-Meier-Kurven für unterschiedliche Gewichtsgruppen	61
Abbildung 22 Kaplan-Meier-Kurven für einen unterschiedlichen R-Status	62
Abbildung 23 Kaplan-Meier-Kurven für unterschiedliche GLO- und MAGE-Färbungen	63
Abbildung 24 Kaplan-Meier-Kurven für unterschiedliche Färbungskombinationen	64
Abbildung 25 Kaplan-Meier-Kurven für die verschiedenen MAGE-Färbungen in den einzelnen Therapiearmen (therapienaive Präparate)	66
Abbildung 26 Kaplan-Meier-Kurven für die verschiedenen GLO-Färbungen in den einzelnen Therapiearmen (therapienaive Präparate)	68
Abbildung 27 Erstdiagnosealter im ausgewerteten Kollektiv	93
Abbildung 28 Geschlechterverteilung im ausgewerteten Kollektiv.....	93
Abbildung 29 BMI-Verteilung im ausgewerteten Kollektiv.....	93
Abbildung 30 Verteilung der Risikofaktoren im ausgewerteten Kollektiv	93
Abbildung 31 Verteilung auf die BMI-Gruppen im ausgewerteten Kollektiv	94
Abbildung 32 Metastasenort im ausgewerteten Kollektiv.....	94
Abbildung 33 Grading im ausgewerteten Kollektiv.....	94
Abbildung 34 Tumorlokalisation im ausgewerteten Kollektiv	94
Abbildung 35 T-Stadium im ausgewerteten Kollektiv	94
Abbildung 36 M-Stadium im ausgewerteten Kollektiv	95
Abbildung 37 N-Stadium im ausgewerteten Kollektiv.....	95
Abbildung 38 Verteilung auf die Therapiearme	95

Abbildung 39 Art der definitiven Systemtherapie	95
Abbildung 40 Zeitpunkt der Probenahme.....	96
Abbildung 41 Verteilung in die Gruppen negativ, schwach, moderat und stark für die GLO-Färbung	96
Abbildung 42 Verteilung in die Gruppen negativ und positiv für die GLO-Färbung	96
Abbildung 43 Verteilung in die Gruppen negativ und positiv für die MAGE-Färbung	97
Abbildung 44 Verteilung in die Gruppen negativ, schwach, moderat und stark für die MAGE-Färbung	97

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Einteilung der Abschnitte des Ösophagus	3
Tabelle 2 T-Status des Ösophaguskarzinoms nach TNM-Klassifikation.....	4
Tabelle 3 N-Status des Ösophaguskarzinoms nach TNM-Klassifikation	5
Tabelle 4 M-Status des Ösophaguskarzinoms nach TNM-Klassifikation.....	5
Tabelle 5 UICC-Stadien des Ösophaguskarzinoms nach klinisch und pathologisch erhobenen TNM-Stadien	5
Tabelle 6 Sensitivität und Spezifität verschiedener Untersuchungsmethoden für die Detektion des N-Stadiums eines Ösophaguskarzinoms	14
Tabelle 7 Verwendete Materialien.....	35
Tabelle 8 Berechnung des IRS-Scores und Gruppeneinteilung der GLO- und MAGE-Färbung	38
Tabelle 9 Deskription der Patient:innendaten im ausgewerteten Kollektiv	41
Tabelle 10 Deskription der Risikofaktoren im ausgewerteten Kollektiv	42
Tabelle 11 Deskription der Tumordaten im ausgewerteten Kollektiv	43
Tabelle 12 Aufteilung des Kollektivs in die verschiedenen Therapiearme und in Untergruppen innerhalb dieser Therapiearme	45
Tabelle 13 Verteilung des Kollektivs hinsichtlich der Art der Probenahme	47
Tabelle 14 Verteilung der vorthera-pierten Präparate hinsichtlich der Art der Vorbehandlung.....	47
Tabelle 15 Verteilung der Präparate nach Intensität und Anteil der GLO-Färbung	48
Tabelle 16 Verteilung der Präparate nach GLO-IRS-Score	48
Tabelle 17 Verteilung der Präparate nach Intensität und Anteil der MAGE-Färbung	49
Tabelle 18 Verteilung der Präparate nach MAGE-IRS-Score	50
Tabelle 19 Übersicht der Ergebnisse mit einem $p < 0,2$ für die GLO-Färbung	54
Tabelle 20 Übersicht der Ergebnisse mit einem $p < 0,2$ für die MAGE-Färbung	55
Tabelle 21 Kreuztabelle für die MAGE- und GLO-Färbung.....	55
Tabelle 22 Logistische Regression für die Zielgröße GLO-Färbung positiv oder negativ	56
Tabelle 23 Logistische Regression für die Zielgröße MAGE-Färbung positiv oder negativ ...	57
Tabelle 24 Überleben im Gesamtkollektiv.....	59
Tabelle 25 Überleben in den einzelnen Therapiearmen	60
Tabelle 26 Überleben hinsichtlich BMI, R-, T-, N- und M-Status.....	61
Tabelle 27 Überleben hinsichtlich der GLO- und MAGE-Färbungen	62
Tabelle 28 Überleben in der therapienaiven und vorbehandelten Gruppe hinsichtlich der MAGE-Färbung	64
Tabelle 29 Überleben (Überl.) hinsichtlich der MAGE-Färbung in den einzelnen Therapiearmen (therapienaive Präparate) (1-Vergleich innerhalb der Therapiearme, 2-Vergleich innerhalb der Färbungsgruppe).....	65
Tabelle 30 Überleben in der therapienaiven und vorbehandelten Gruppe hinsichtlich der GLO-Färbung	67
Tabelle 31 Überleben (Überl.) hinsichtlich der GLO-Färbung in den einzelnen Therapiearmen (therapienaive Präparate) (1-Vergleich innerhalb der Therapiearme, 2-Vergleich innerhalb der Färbungsgruppe).....	67
Tabelle 32 Cox-Regression mit der GLO- und MAGE-Färbung als getrennte Variablen.....	69
Tabelle 33 Cox-Regression mit der Koexpression als Variable	70
Tabelle 34 Deskription des gesamten IHC-Kollektivs und des ausgewerteten Kollektivs.....	91
Tabelle 35 Kreuztabellen für die GLO- und MAGE-Färbung hinsichtlich des Geschlechts ...	97
Tabelle 36 Zusammenhänge zwischen dem Geschlecht und dem GLO- und MAGE-IRS-Score	97
Tabelle 37 Korrelation zwischen dem Alter und dem GLO- und MAGE-IRS-Score.....	98
Tabelle 38 Kreuztabellen für die GLO- und MAGE-Färbung hinsichtlich der Risikofaktoren	98
Tabelle 39 Zusammenhänge zwischen dem GLO- und MAGE-IRS-Score und dem Vorkommen von Risikofaktoren	99
Tabelle 40 Korrelationen zwischen dem GLO- und MAGE-IRS-Score und dem BMI bzw. den pack years	99
Tabelle 41 Kreuztabellen für die GLO- und MAGE-Färbung hinsichtlich der Tumordaten	99

Tabelle 42 Zusammenhänge zwischen dem GLO- und MAGE-IRS-Score und den Tumordaten	100
Tabelle 43 Kreuztabellen für die GLO- und MAGE-Färbung hinsichtlich der Art der Probenahme.....	101
Tabelle 44 Zusammenhänge zwischen dem GLO- und MAGE-IRS-Score und der Art der Probenahme.....	101
Tabelle 45 Überleben hinsichtlich der Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten	102

1. Einleitung / Ziel der Dissertation

Das Ösophaguskarzinom zählt mit einem prozentualen Anteil von 0,7% bei Frauen und 2,2% bei Männern an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland zwar nicht zu den häufigsten, dafür aber mit einem relativen 5-Jahres-Überleben von 24-25% zu den prognostisch ungünstigsten Krebsentitäten. Allgemein unterscheidet man zwischen Adeno- und Plattenepithelkarzinomen. Diese Arbeit beschäftigt sich mit den Plattenepithelkarzinomen, die ca. 41% aller Ösophaguskarzinome ausmachen. (1) Klassische Risikofaktoren sind hierbei das Rauchen und der Alkoholkonsum (4).

Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2020 (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs, C44)

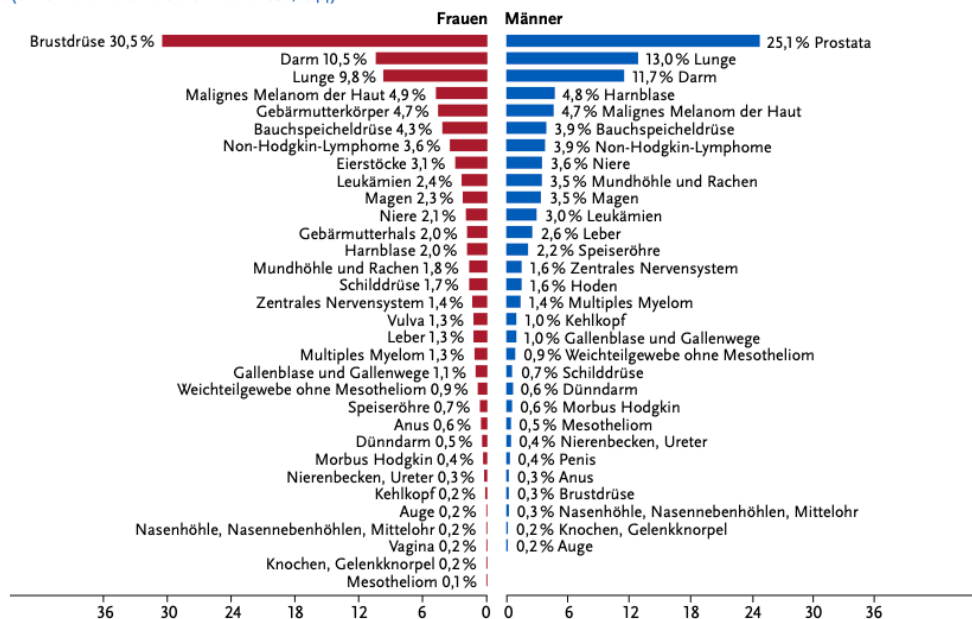


Abbildung 1 Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2020 (1)

Das Therapiespektrum richtet sich nach dem Stadium des Befundes und reicht von endoskopischer (T1) oder chirurgischer Resektion (T2), über neoadjuvante Radiochemotherapien (T3, T4, N+) mit anschließender Operation bis hin zu definitiven Systemtherapien (T3, T4, N+, M+) (2). Da zwei Drittel der Tumoren aber aufgrund der spät auftretenden Symptome erst in einem fortgeschrittenen Stadium (UICC 3 oder 4) diagnostiziert werden (1, 5), ist die Prognose häufig schlecht. Daher besteht ein großes Interesse der Forschung darin, neue Therapiestrategien für diese Tumorentität zu entwickeln.

Hierfür wird in dieser Arbeit der Fokus auf einen bestimmten Schritt im Zuckerstoffwechsel gelegt:

Um ihren hohen Energiebedarf zu decken, aktiviert die Tumorzelle verstärkt ihre anaerobe Glykolyse (Warburg-Effekt), wodurch vermehrt das Nebenprodukt Methylglyoxal anfällt (6). Methylglyoxal selbst reagiert mit Bestandteilen der DNA und mit Proteinen zu den

sogenannten „Advanced Glycation End Products“ (AGE). Dazu zählt auch das hier untersuchte Argpyrimidin, welches durch die Reaktion von Methylglyoxal mit Arginin entsteht. AGEs sind schädlich für die Zelle und assoziiert mit altersbedingten Erkrankungen wie Krebs, neurodegenerativen Erkrankungen und Diabetes (7). Um dem vermehrten Anfall dieser schädlichen Produkte entgegenzuwirken, gibt es ein Abbausystem, welches in Krebszellen einiger Tumorentitäten hochreguliert zu sein scheint: das Glyoxalase-System. Die Glyoxalase 1 (GLO1), welche ebenfalls in dieser Dissertation untersucht wird, katalysiert den Abbau des an Glutathion gebundenen Methylglyoxals. In einer zweiten Reaktion reagiert es über die Glyoxalase 2 schließlich zu D-Lactat. Dadurch kann das reaktive Methylglyoxal abgebaut und die Entstehung der schädlichen AGEs vermieden werden, was der Krebszelle einen Überlebensvorteil verschafft. (8)

In einigen Studien konnte bereits gezeigt werden, dass eine erhöhte GLO1-Expression mit einem verstärkten Tumorwachstum und einer Resistenz gegenüber Radio- und Chemotherapie korreliert. GLO1-Inhibitoren könnten daher einen interessanten Therapieansatz für multiresistente Tumoren darstellen (9).

Im Rahmen dieser Dissertation wird die Rolle der Expression von Argpyrimidin (als Vertreter der AGEs) und der Expression der Glyoxalase 1 im ösophagealen Plattenepithelkarzinom analysiert werden. Hierzu werden diese beiden Marker in Tumorproben eines Patient:innenkollektivs der Universitätsmedizin Mainz immunhistochemisch angefärbt und ausgewertet. Im Anschluss werden anhand einer retrospektiv erhobenen Datenbank die Färbeergebnisse mit den Patient:innendaten, Risikofaktoren, Tumordaten, den angewendeten Therapien und dem Überleben korreliert. Ziel ist es zu erfassen, ob sich die beiden als prognostische oder prädiktive Marker eignen und eventuell Zielstrukturen für neue Therapiestrategien darstellen könnten.

2. Literaturdiskussion

2.1. Ösophaguskarzinom

2.1.1. Einteilung

2.1.1.1. Nach histologischen Subtypen

Beim Ösophaguskarzinom werden die beiden Haupttypen Plattenepithelkarzinom (ESCC=esophageal squamous cell carcinoma) und Adenokarzinom (EAC=esophageal adenocarcinoma) unterschieden, die über 90% aller Tumoren der Speiseröhre ausmachen. Seltener können auch Melanome, Leiomyosarkome, neuroendokrine Tumore und Lymphome auftreten (10). Die beiden Haupttypen unterscheiden sich nicht nur in der Histologie, sondern auch in Epidemiologie, Ätiologie und Therapieoptionen. Während Plattenepithelkarzinome eher im oberen und mittleren Drittel des Ösophagus vorkommen, sind Adenokarzinome vor allem im unteren Drittel im Bereich des gastroösophagealen Übergangs lokalisiert (11). Da die beiden beschriebenen Marker in dieser Arbeit nur in Proben von Patient:innen mit ösophagealem Plattenepithelkarzinom untersucht wurden, wird der Fokus im folgenden Teil auf diese Entität gelegt.

2.1.1.2. Nach Lokalisation des Tumors

Der Ösophagus kann in verschiedene Abschnitte gegliedert werden, was auch bei der Beschreibung der Lokalisation von Karzinomen Anwendung findet (12) (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1 Einteilung der Abschnitte des Ösophagus

Abschnitt	Unterteilung	Beginn	Ende	Abstand von Zahnreihe
Zervikaler Ösophagus		Unterrand des Krikoids	Eintritt in den Thorax	Bis 18cm
Intrathorakaler Ösophagus	Oberes Drittel	Eintritt des Ösophagus in den Thorax	Trachealbifurkation	18-24cm
	Mittleres Drittel	Trachealbifurkation	Hälfte des Abschnitts bis zum gastroösophagealen Übergang	24-32cm
	Unteres Drittel	Hälfte des Abschnitts bis zum gastroösophagealen Übergang	Gastroösophagealer Übergang	32-40cm
Ösophago-gastraler Übergang		2cm oberhalb der Z-Linie	2cm unterhalb der Z-Linie	

Bei Tumoren des ösophagogastralen Übergangs (adenocarcinoma of the esophagogastric junction = AEG) kann die Trennung zwischen Ösophagus- und Magenkarzinomen schwierig

sein. Für die pathologische Auswertung ist die Z-Linie als makroskopisch und mikroskopisch sichtbare Linie zwischen dem mehrschichtigen Plattenepithel des Ösophagus und dem einschichtigen Zylinderepithel des Magens die nützlichste Leitstruktur. Tumoren, deren Zentrum innerhalb von 2cm oberhalb und 2cm unterhalb der Z-Linie liegen und den gastroösophagealen Übergang miteinschließen, gelten als Ösophaguskarzinome. Sie werden auch als Siewert-Typen I und II bezeichnet. Der Siewert-Typ III (Zentrum zwischen 2-5cm unterhalb der Z-Linie) zählt bereits zu den Magenkarzinomen. Das Problem ist jedoch, dass die Z-Linie häufig selbst vom Tumor betroffen und daher nicht mehr erkennbar ist (2).

2.1.1.3. Nach TNM-Klassifikation

Die TNM-Klassifikation beurteilt einen Tumor nach seiner lokalen Infiltrationstiefe/Ausbreitung (T-Stadium), den betroffenen regionären Lymphknoten (N-Stadium) und dem Vorhandensein von Fernmetastasen (M-Stadium).

Der T-Status wird ähnlich wie bei anderen gastrointestinalen Tumoren eingeteilt: Ab einer Infiltration der Muscularis propria spricht man von einem T2-Tumor, zuvor von einem T1-Tumor (bzw einem Carcinoma in situ/Tis, falls die Basalmembran noch nicht durchbrochen ist). Ein T3-Tumor dringt als nächste Stufe in die Adventitia vor. Sobald Nachbarstrukturen des Ösophagus betroffen sind, spricht man von einem T4-Tumor (siehe Tabelle 2). (13)

Tabelle 2 T-Status des Ösophaguskarzinoms nach TNM-Klassifikation

T – Primärtumor	
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor infiltriert Lamina propria, Muscularis mucosae oder Submukosa
T1a	Tumor infiltriert Lamina propria oder Muscularis mucosae
T1b	Tumor infiltriert Submukosa
T2	Tumor infiltriert Muscularis propria
T3	Tumor infiltriert Adventitia
T4	Tumor infiltriert Nachbarstrukturen
T4a	Tumor infiltriert Pleura, Perikard, Vena azygos, Zwerchfell oder Peritoneum
T4b	Tumor infiltriert andere Nachbarstrukturen wie Aorta, Wirbelkörper oder Trachea

Der N-Status richtet sich nach der Anzahl der befallenen regionären Lymphknoten (siehe Tabelle 3). Regionär heißt dabei, dass sich die Lymphknoten im direkten lymphatischen

Abflussgebiet des Ösophagus befinden. Eingeschlossen sind hier zöliakale und paraöophageale Lymphknoten, aber nicht die supraklavikulären Lymphknoten. (13)

Tabelle 3 N-Status des Ösophaguskarzinoms nach TNM-Klassifikation

N – regionäre Lymphknoten (LK)	
NX	Regionäre LK können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären LK-Metastasen
N1	Metastasen in 1-2 LK
N2	Metastasen in 3-6 LK
N3	Metastasen in mind. 7 LK

Der M-Status gibt lediglich an, ob Fernmetastasen vorliegen oder nicht (siehe Tabelle 4) (13).

Tabelle 4 M-Status des Ösophaguskarzinoms nach TNM-Klassifikation

M – Fernmetastasen	
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

2.1.1.4. Nach UICC-Stadien (Plattenepithelkarzinom)

Die UICC-Stadien kombinieren den T-, N- und M-Status und leiten daraus eine Stadieneinteilung ab, die mit der Prognose korreliert (10) und aus der Therapieempfehlungen abgeleitet werden können. Hier gibt es verschiedene Einteilungen, je nachdem ob der klinisch oder der pathologisch erhobene TNM-Status betrachtet wird und abhängig davon, ob es sich um ein Plattenepithel- oder Adenokarzinom handelt. Die folgende Tabelle 5 bezieht sich auf das Plattenepithelkarzinom (13).

Tabelle 5 UICC-Stadien des Ösophaguskarzinoms nach klinisch und pathologisch erhobenen TNM-Stadien

Klinisches Stadium	T-Status	N-Status	M-Status
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0,N1	M0
Stadium II	T2	N0,N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium III	T1,2	N2	M0
	T3	N1,N2	M0
Stadium IVa	T4a, T4b	Jedes N	M0
	Jedes T	N3	M0
Stadium IVb	Jedes T	Jedes N	M1

Pathologisches Stadium	T-Status	N-Status	M-Status
Stadium 0	pTis	pN0	M0
Stadium IA	pT1a	pN0	M0
Stadium IB	pT1b	pN0	M0
	pT2	pN0	M0
Stadium IIA	pT2	pN0	M0
Stadium IIB	pT1	pN1	M0
	pT3	pN0	M0
Stadium IIIA	pT1	pN2	M0
	pT2	pN1	M0
Stadium IIIB	pT2	pN2	M0
	pT3	pN1, pN2	M0
	pT4a	pN0, pN1	M0
Stadium IVA	pT4a	pN2	M0
	pT4b	Jedes pN	M0
	Jedes pT	pN3	M0
Stadium IVB	Jedes pT	Jedes pN	M1

2.1.2. Epidemiologie

In Deutschland gehört das Ösophaguskarzinom zwar mit 1720 Neuerkrankungen bei den Frauen und 5660 bei den Männern im Jahr 2020 zu den eher selteneren Tumorerkrankungen (1), global gesehen spielt es jedoch eine weitaus größere Rolle: Weltweit zeigt es die siebt-höchste Inzidenz und die sechst-höchste Mortalität unter allen Krebsentitäten (14).

Doch auch in Deutschland stellt das Ösophaguskarzinom ein ernst zu nehmendes Gesundheitsproblem dar: Zwei Drittel der Tumoren werden erst in einem späten Stadium (UICC III oder IV) entdeckt (siehe Abbildung 2), weshalb die Prognose insgesamt eher schlecht ist (1). Während beispielsweise bei einem UICC I-Stadium noch 70% der Männer und 48% der Frauen 5 Jahre überleben, liegt diese Wahrscheinlichkeit im Stadium IV nur noch bei 3 bzw. 2% (siehe Abbildung 3). (3)

Verteilung der UICC-Stadien bei Erstdiagnose nach Geschlecht, ICD-10 C15, Deutschland 2019 – 2020
(oben: inkl. fehlender Angaben und DCO Fälle; unten: nur gültige Werte)

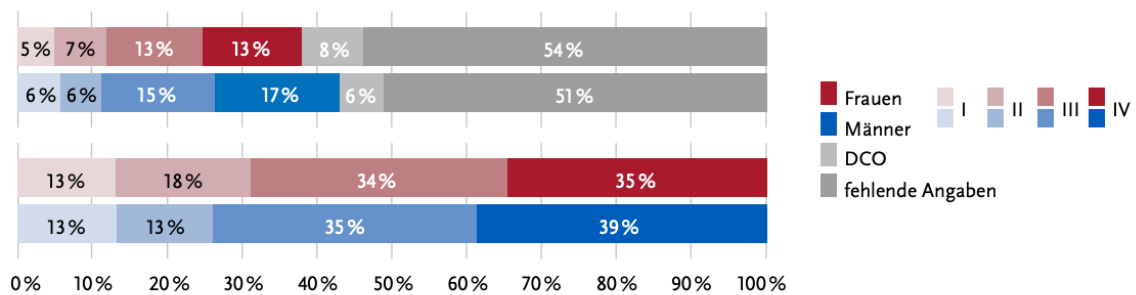


Abbildung 2 Verteilung der UICC-Stadien des Ösophaguskarzinoms bei Erstdiagnose nach Geschlecht (1)

Relatives 5-Jahres-Überleben nach UICC-Stadium
(7. Auflage TNM) und Geschlecht, ICD-10 C15,
Deutschland 2016–2018

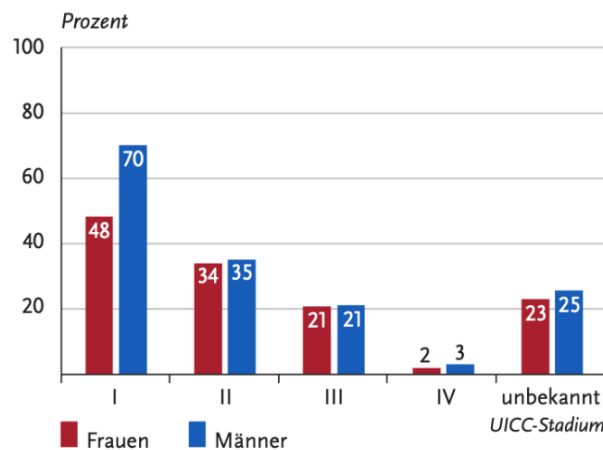


Abbildung 3 Relatives 5-Jahres-Überleben beim Ösophaguskarzinom nach UICC-Stadium und Geschlecht (3)

Männer erkranken etwa drei Mal so oft an einem Ösophaguskarzinom als Frauen. Ihr mittleres Erkrankungsalter liegt mit 68 Jahren etwas tiefer als bei den weiblichen Patientinnen mit 72 Jahren. Für beide Geschlechter kann beobachtet werden, dass die Erkrankungsraten für Personen unter 60 Jahren eher rückläufig, bei den über 60-Jährigen hingegen eher zunehmend sind. Dabei werden Adenokarzinome, die 2020 47% aller Ösophaguskarzinome ausmachten, eher häufiger, während der Anteil an Plattenepithelkarzinomen (2020 bei 41%) abnimmt. (1) Diese Entwicklung ist vor allem in den westlichen Ländern zu beobachten, wo die Hauptrisikofaktoren für das Plattenepithelkarzinom, Nikotin- und Alkoholkonsum, eher rückläufig sind. Währenddessen sind jedoch immer mehr Patient:innen von Übergewicht und gastroösophagealem Reflux betroffen, welche wiederum Risikofaktoren für das Adenokarzinom darstellen (15).

Trotzdem ist das ösophageale Plattenepithelkarzinom mit einem Anteil von 85% global gesehen noch immer das häufigste Karzinom der Speiseröhre (16). Die Inzidenz und Sterberate ist am höchsten in Ostasien, gefolgt von Südafrika (14). Dabei scheinen die Hauptrisikofaktoren

für das Plattenepithelkarzinom in Ländern mit geringerem Einkommen jedoch eher Ernährungskomponenten zu sein (17). Außerdem erkranken in den USA Afroamerikaner:innen eher an ösophagealen Plattenepithelkarzinomen, Menschen mit hellerer Hautfarbe hingegen eher an Adenokarzinomen, was ebenfalls auf einen Einfluss der Ethnie hinweist (18).

2.1.3. Ätiologie

Die Entstehung eines ösophagealen Plattenepithelkarzinoms wird begünstigt durch eine mechanische und/oder chemische Schädigung der Schleimhaut durch die im Folgenden benannten Komponenten. In Studien zeigen sich dabei mehrere mögliche pathogenetische Mutationen, am häufigsten wird hierbei die TP-53-Mutation genannt (19).

Die Risikofaktoren unterscheiden sich sowohl bei den Subtypen des Ösophaguskarzinoms als auch bei verschiedenen Populationen (18).

In der westlichen Welt könnte man das Plattenepithelkarzinom eher als „Lifestyle-Karzinom“ (20) bezeichnen, da es überwiegend durch Nikotin- und Alkoholabusus verursacht wird. In einer prospektiven Kohortenstudie aus den Niederlanden wurde beispielsweise für einen Ethanol-Konsum von über 30g pro Tag ein 4,6-fach erhöhtes Risiko und bei Raucher:innen ein 2,6-fach erhöhtes Risiko für die Entstehung eines ösophagealen Plattenepithelkarzinoms gegenüber Abstinente festgelegt. Bei Studienteilnehmenden, die sowohl rauchten als auch mehr als 15g Ethanol pro Tag zu sich nahmen, bestand sogar ein 8-fach erhöhtes Risiko, was auf einen synergistischen Effekt der beiden Risikofaktoren hindeutet. (21)

Die pathogenetischen Faktoren in Zigaretten sind vermutlich Nitrosamine (22) und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (23). Dabei scheint ein geringerer Konsum über längere Zeit gefährlicher zu sein als ein stärkerer Konsum über kurze Zeit (24). Für Alkohol lässt sich in einer Metaanalyse von Islami et al. in allen Subgruppen bei einem moderaten und hohen Konsum ein Zusammenhang zum Plattenepithelkarzinom feststellen, bei einem niedrigen Alkoholkonsum jedoch nur in Asien (25). Dies könnte durch folgenden Pathomechanismus erklärt werden: Ethanol wirkt kanzerogen über sein Abbauprodukt Acetaldehyd (26), welches durch das Enzym ALDH2 abgebaut werden kann. In Asien besteht häufig eine Mutation dieses Enzyms, die auch in einen Zusammenhang mit dem erhöhten Risiko für ösophageale Plattenepithelkarzinome in dieser Region stehen könnte (27).

Weitere bekannte Risikofaktoren sind die Achalasie (28) und Ösophagusstenosen nach Säure- und Laugenverletzungen (29). Bei einem Kollektiv aus Mamma-Karzinom-Patientinnen mit post-Mastektomie-Bestrahlung konnte zudem ein 2,8-fach erhöhtes Risiko festgestellt werden, nach mindestens 5 Jahren ein Plattenepithelkarzinom zu entwickeln (30). Eine frühere Strahlentherapie im Hals-Thorax-Bereich stellt also ebenso einen Risikofaktor dar.

Außerdem scheint ein Zusammenhang zu anderen Kopf-Hals-Tumoren zu bestehen: 5-14% der Patient:innen, die bereits an anderen Kopf-Hals-Tumoren erkrankt sind, entwickeln ein Ösophaguszweitkarzinom. Umgekehrt erkranken 9-11% der Patient:innen mit ösophagealem Plattenepithelkarzinom an einer oropharyngealen Zweitneoplasie (31). Da für oropharyngeale Tumoren HPV-Viren einen bekannten Risikofaktor darstellen (32), wurde dies auch für das ösophageale Plattenepithelkarzinom vermutet. In Metaanalysen zeigt sich jedoch, dass die Prävalenz von HPV bei ESCC-Patient:innen sehr variabel ist (33). Auch in Studien, die DNA-Sequenzierungen von ösophagealen Plattenepithelkarzinom-Proben durchführten, konnte kein signifikanter Zusammenhang zu einer HPV- Infektion nachgewiesen werden (34).

Ebenso werden genetische Faktoren diskutiert: In einer Studie mit 775 Patient:innen in China konnte eine Odds Ratio für die Erkrankung an einem ösophagealen Plattenepithelkarzinom von 1,85 (95%-KI: 1,42-2,41) für erstgradig Verwandte von Plattenepithelkarzinom-Patient:innen festgestellt werden (35). Außerdem zeigte sich ein Zusammenhang zwischen dem ösophagealen Plattenepithelkarzinom und den genetischen Erkrankungen der kongenitalen Tylosis (36) und der Fanconi-Anämie (37).

Etwas anders sieht die Situation hingegen in Ländern mit geringerem Einkommen aus: Hier stellen das Kauen von Betelnuss (38), der Konsum von eingelegtem Gemüse (39) und der Verzehr von sehr heißem Essen und Getränken (40) wichtige Risikofaktoren dar. Dahingegen soll der Verzehr von Obst und Gemüse protektiv gegen das ösophageale Plattenepithelkarzinom wirken (41).

Beim Adenokarzinom hingegen spielt ein anderer Pathomechanismus eine große Rolle: Durch gastroösophagealen Reflux, welcher den Hauptrisikofaktor darstellt (42), kommt es zu einer Umwandlung des Plattenepithels des Ösophagus in ein Zylinderepithel, was man als Barrett-Ösophagus bezeichnet. Dieser kann in ein Adenokarzinom übergehen (43). Außerdem stellt hier auch Übergewicht (44) einen Risikofaktor dar, was mit der GERD (gastro-esophageal reflux disease) zusammenhängt.

Die folgende Abbildung 4 aus der S3-Leitlinie zum Ösophaguskarzinom gibt einen Überblick über die unterschiedlichen und gemeinsamen Risikofaktoren beim Platten- und Adenokarzinom:

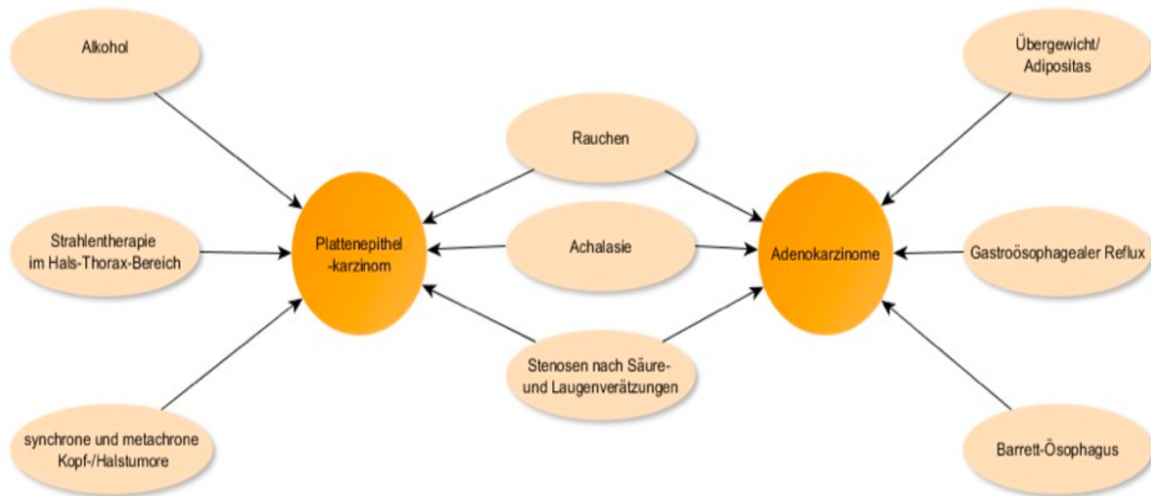


Abbildung 4 Risikofaktoren für die Entstehung eines Ösophaguskarzinoms (2)

2.1.4. Diagnostik

2.1.4.1. Primärdiagnostik

Wie bei jeder anderen Erkrankung erfolgt als erster Schritt in der Diagnostik die ausführliche Anamnese und körperliche Untersuchung. Laut der S3-Leitlinie „Diagnostik und Therapie der Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome des Ösophagus“ (Version 4.0 von 2023) sollte man vor allem bei Patient:innen mit „neu aufgetretener Dysphagie, gastrointestinaler Blutung, rezidivierender Aspiration, rezidivierendem Erbrechen, Dyspepsie, Gewichtsverlust und/oder Inappetenz“ (2) an ein Ösophaguskarzinom denken. Leider sind diese Symptome aber nicht spezifisch für diese Erkrankung und treten meist erst in einem fortgeschrittenen Stadium auf. So zeigt sich das Leitsymptom der Dysphagie beispielsweise erst bei einer Lumenokklusion von 50% (45) und ist häufiger durch eine nicht-tumoröse Ursache bedingt. Eine retrospektive Studie aus Chicago von Kidambi et al. (2012) zeigte, dass die häufigsten Ursachen einer Dysphagie eine gastroösophageale Refluxerkrankung und eine eosinophile Ösophagitis sind. Ein Ösophaguskarzinom wurde hier nur bei 2,2% der Patient:innen nachgewiesen. (46) Bei der körperlichen Untersuchung sollte der Mundraum auf mögliche Infektionen oder Tumore, der Lymphknotenstatus und der Ernährungszustand untersucht werden (47).

Aufgrund der schlechten Prognose ist es umso wichtiger, ein Ösophaguskarzinom trotz unspezifischer Symptomatik möglichst frühzeitig zu erkennen. Als Goldstandard hat sich hier die hochauflösende Video-Ösophago-gastro-duodenoskopie (ÖGD) etabliert. Hiermit können suspekte Befunde sowohl visualisiert und lokalisiert als auch Biopsien zur histopathologischen Bewertung entnommen werden. Dabei sollte auch der Abstand der Tumorränder von den

Schneidezähnen angegeben werden. (2) Die ÖGD kann sowohl in Sedierung als auch im wachen Zustand mit Rachenanästhesie durchgeführt werden. Dabei sollte der gesamte obere Gastrointestinaltrakt vom oberen Ösophagussphinkter bis zur Pars descendens des Duodenum mit Beurteilung des Magenfundus in Inversion dargestellt werden. (47, 48) Typische Zeichen einer Dysplasie bei der Endoskopie sind Farbveränderungen, eine feine Körnung der Oberfläche („orange peel effect“), untypische Erhebungen und Senkungen, eine Landkarten-ähnliche Zeichnung und Erosionen (49). Bei hochgradigen Stenosen sollte die Passage zunächst mit einem dünnkalibrigen Spezialendoskop mit 4-5 mm Durchmesser probiert werden. Wenn auch dies nicht möglich ist, sollte eine Zungenbiopsie vom proximalen Tumor und eventuell eine Bürstenzytologie entnommen werden. (2) Die Komplikationsrate der ÖGD ist extrem gering: Die meisten Ereignisse sind Folge der Sedierung, das Risiko für Perforationen und Blutungen liegt bei jeweils nur 0,03% (50, 51).

Trotz der hochauflösenden Weißlicht-Endoskopie kann es immer noch schwierig sein, vor allem frühe Stadien und Vorstufen des Ösophaguskarzinoms zu erkennen. Daher haben sich zur Detektion von Dysplasien und Frühkarzinomen auch Verfahren der Chromoendoskopie etabliert (2). Hierbei wird die Oberfläche auf verschiedene Arten kontrastiert und die Läsionen so besser abgegrenzt. Ein systematisches Review von Qumseya et al. (2013) zeigte, dass diese optischen Verbesserungsverfahren die Detektionsrate von high grade intraepithelialen Neoplasien und Frühkarzinomen um 34% (KI 20-56%, $p < 0,0001$) gegenüber der Weißlicht-Endoskopie erhöhen (52). Man unterscheidet zwei Arten der Chromoendoskopie: Die Färbe-Spray-Chromoendoskopie, bei der die Tumorareale mit speziellen Reagenzien angefärbt werden und die virtuelle Chromoendoskopie, die durch eine digitale Änderung des Farbspektrums die Tumorareale hervorhebt.

Bei der Färbe-Spray-Chromoendoskopie haben sich vor allem 2 Verfahren etabliert: Das Anfärben mit 1,5-2,5%-iger Essigsäure für Barrett-Vorstufen und Adenokarzinome und mit 1%-iger Lugol'scher Lösung für Plattenepithelkarzinome. Essig färbt neoplastische Areale weiß durch eine kurzzeitige Veränderung der Oberflächenproteine. Bei dem Anfärben mit Lugol'scher Lösung (Iod-Kaliumiodid-Lösung) hingegen erscheinen gesunde Areale gelbbraun, während neoplastische Areale ungefärbt bleiben, da sie weniger Glykogen enthalten, in das sich das Iod einlagern kann. (53) Diese Methode ist vor allem für Risikopatient:innen empfohlen, die anamnetisch bereits ein Plattenepithelkarzinom des Mund-Nasen-Rachen-Raums und des Ösophagus aufweisen (2) oder starke Raucher:innen oder Alkoholiker:innen sind. Diese weisen nämlich vor allem dann ein erhöhtes Risiko für ein Zweitkarzinom auf, wenn sich die Areale mit der Lugol'schen Lösung nicht anfärben lassen (54, 55). Allerdings muss dabei die geringe Spezifität der Iod-Probe berücksichtigt werden, da auch entzündliche veränderte Areale ungefärbt bleiben (2).

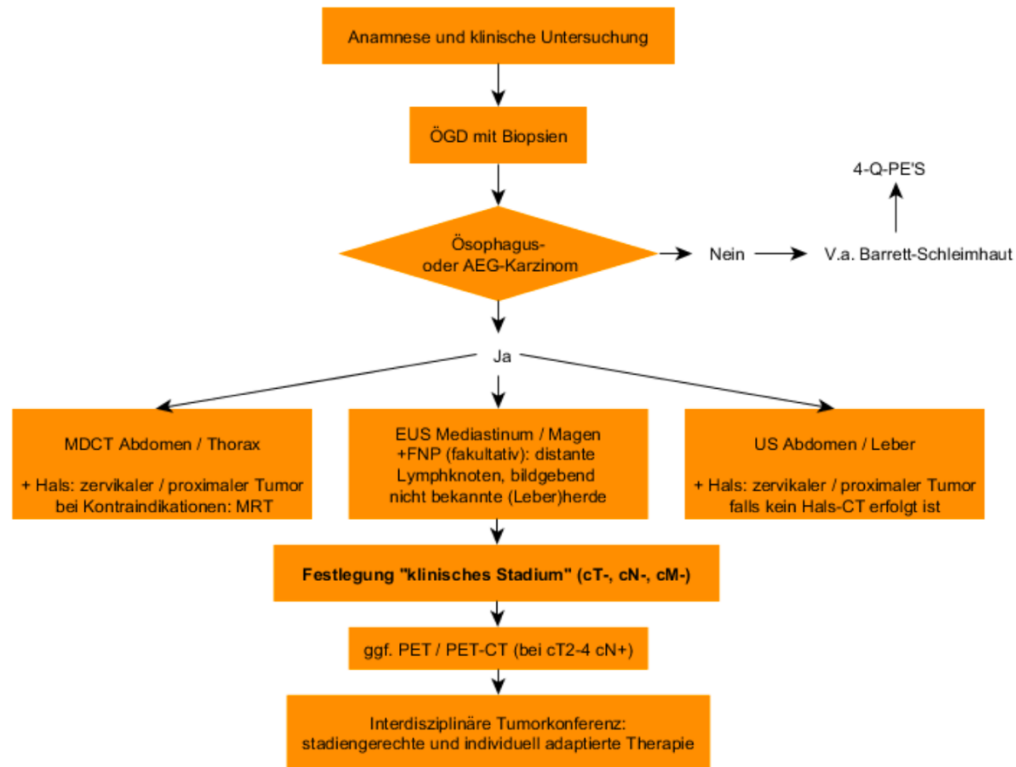
Die virtuelle Chromoendoskopie hingegen arbeitet mit einer digitalen Änderung des Farbspektrums in Richtung grün und blau, wodurch oberflächliche Kapillargefäße besser dargestellt werden können. Hierdurch können Prozesse der Neovaskularisierung sichtbar gemacht werden, die typisch für ein neoplastisches Geschehen sind. Hierzu gehört beispielsweise das Verfahren des narrow band imaging (NBI), dessen Nutzen bereits in einigen Studien gezeigt werden konnte (56, 57). Eine RCT-Crossover-Studie von Sharma et al. (2013), die NBI gegen HD-Weißlicht-Endoskopie zur Detektion von intestinalen Metaplasien beim Barrett-Ösophagus untersucht hat, konnte zeigen, dass mit NBI weniger gezielte Biopsien zur Diagnosestellung notwendig sind (57).

In der bereits erwähnten systematischen Review von Qumseya et al. (2013) konnte allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen der Färbe-Spray-Chromoendoskopie und der virtuellen Chromoendoskopie festgestellt werden (52).

Auch neuere diagnostische Methoden, bei denen während der Endoskopie Auflösungen vergleichbar mit einer histopathologischen Bewertung unter dem Mikroskop erreicht werden können, sind Gegenstand der aktuellen Forschung. Verfahren, wie die Endozytoskopie (58), die Endomikroskopie (59), die konfokale Laser-Mikroskopie (60) und die optische Kohärenztomographie (61) zeigen in einigen Studien zwar höhere Detektionsraten, sind aber aufgrund der hohen Kosten und aufwendigem Training noch nicht in der Praxis angekommen. Aktuell wird auch der Einsatz künstlicher Intelligenz zur Erkennung dysplastischer Areale erforscht (62).

2.1.4.2. Staging

Die Aufgabe des Stagings besteht darin, die Ausbreitung des Tumors darzustellen. Bei Ösophaguskarzinomen hat dies einen hohen Stellenwert, da diese Tumorentität früh lymphogen metastasiert. So zeigte sich in einer Studie von Stiles et al. (2011), dass mehr als die Hälfte der zuvor klinisch als cT2-3 N0 M0 eingeordneten Tumoren in der OP doch Lymphknotenmetastasen zeigten (63). Die Abbildung 5 zeigt einen Überblick über die verschiedenen diagnostischen Methoden, die für ein Staging des Ösophaguskarzinoms in der Leitlinie empfohlen werden.



Abkürzungen:

AEG = Karzinome des gastro-ösophagealen Übergangs (adenocarcinoma of esophagogastric junction);
 CT = Computertomographie; EUS = endoskopischer Ultraschall; FNP = Feinnadel Biopsie; MDCT = Multi-detector Computed Tomography;
 MRT = Magnetresonanztomographie; ÖGD = Ösophagogastroduodenoskopie; PET = Positronen-Emissions-Tomographie;
 US = Ultraschall; 4-Q-PE'S = 4- Quadranten Probeexzisionen

Abbildung 5 Staging beim Ösophaguskarzinom (2)

Eine der drei wichtigsten Methoden ist der endoskopische Ultraschall (EUS). Durch seine hohe lokale Ortsauflösung eignet er sich besonders gut für die Beurteilung der lokalen Infiltrationstiefe (T-Stadium) und regionären Lymphknoten (N-Stadium) (2). Die Komplikationsrate ist hierbei im Gegensatz zur ÖGD zwar leicht erhöht, aber mit einem Risiko für Ösophagusperforationen von 0,009-0,15% und Duodenalperforationen von 0,02-0,04% immer noch sehr gering (64). In einer Metanalyse über 49 Studien von Puli et al. (2008) zeigte sich für die EUS für die Detektion des T-Stadiums eine Sensitivität von 82-92% (steigend von T1 bis T4) und eine Spezifität von 94-97% (ähnlich in allen Stadien). Für das N-Stadium ergab sich eine Sensitivität und Spezifität von 85%, was durch die Kombination von EUS mit einer Feinnadelpunktion (FNP) des suspekten Befundes auf eine Sensitivität/Spezifität von 97%/96% verbessert werden konnte. (65) Mit dieser Methode können auch Leberherde am linken Leberlappen, Aszites, Pleuraverdickungen und paraaortale, parathyroidale oder zöliakale Lymphknoten punktiert werden (2).

Nachteile der Endosonographie sind die Abhängigkeit von der Erfahrung des Untersuchers, die limitierte Anwendung bei stenosierenden Karzinomen und die schwierige Differenzierung zwischen neoplastischen und entzündlichen Prozessen (2). Dadurch kommt es vor allem bei

T2-Tumoren vermehrt zu Overstaging, da diese oft mit peritumoralen entzündlichen Prozessen einhergehen (66).

Das CT stellt neben der Endosonographie den zweiten wichtigen Pfeiler in der Staging-Diagnostik des Ösophaguskarzinoms dar. Jede:r Patient:in, bei dem:der erstmalig ein Ösophaguskarzinom diagnostiziert wird, soll laut Leitlinie ein Multidetektor-CT (MDCT) von Hals, Thorax und Abdomen erhalten. Dabei wird eine multiplanare Rekonstruktion, eine Wanddistension mit oralem negativen Kontrastmittel und i.v. Kontrastmittel empfohlen (2). Als negatives Kontrastmittel können 1-1,5l Wasser unter Spasmolyse verwendet werden (67). Eine zusätzliche Aufnahme des Beckens brachte in Studien keinen zusätzlichen Vorteil (68). Lowe et al. zeigte 2005, dass das MDCT bei 42% aller Fälle, der EUS hingegen in 71% der Fälle das korrekte T-Stadium diagnostizieren konnte (69). Hier scheint also die Endosonographie genauer zu sein. Für das N-Stadium ergeben sich in einer Metaanalyse von van Vliet et al. (2008) folgende Sensitivitäten und Spezifitäten (siehe Tabelle 6) für die 3 Bildgebungen EUS, CT und FDG-PET (18F-Fluordesoxyglucose-Positronenemissionstomographie) (70).

Tabelle 6 Sensitivität und Spezifität verschiedener Untersuchungsmethoden für die Detektion des N-Stadiums eines Ösophaguskarzinoms

Detektion N-Stadium	EUS	CT	FDG-PET
Sensitivität	0,80 (0.75-0.84)	0,50 (0.41-0.60)	0,57 (0.43-0.70),
Spezifität	0,70 (0.65-0.75)	0,83 (0.77-0.89)	0,85 (0.76-0.95)

Bei der Detektion regionärer Lymphknoten weist die Endosonographie zwar die signifikant höchste Sensitivität auf, das CT und die FDG-PET hingegen die signifikant höhere Spezifität. Genau umgekehrt verhält es sich in der Diagnostik des M-Stadiums: In der bereits genannten Studie von Lowe et al. zeigte das CT eine Sensitivität/Spezifität von 81/82% und der EUS von 73/86% (69).

Bei Kontrastmittel-Kontraindikationen oder als Ergänzung zum CT und EUS kann ein MRT durchgeführt werden (2). Dies bringt jedoch keinen zusätzlichen Vorteil gegenüber den beiden anderen Methoden (71) und spielt daher in der klinischen Praxis eine untergeordnete Rolle (47).

Die dritte wichtige Säule im Staging des Ösophaguskarzinoms ist die Abdomensonographie zum Ausschluss von Lebermetastasen (2). Zwar zeigt die klassische Sonographie hierbei eine deutlich niedrigere Sensitivität als das CT oder FDG-PET (72), ist aber durch ihre risikofreie, nicht-invasive Durchführung und schnelle Verfügbarkeit für einen ersten Eindruck sehr gut geeignet. Durch den zusätzlichen Einsatz von kontrastmittelverstärkter Sonographie

(contrast-enhanced ultrasound - CEUS) kann auch eine vergleichbare (73), in einigen Studien sogar höhere (74) Sensitivität als beim CT erreicht werden.

Ergänzend zum Ausschluss von zervikalen Lymphknotenmetasen kann eine Halssonographie eingesetzt werden (2). Je nach Studie ist ihre diagnostische Aussagekraft gleichwertig (75) zum CT oder diesem sogar überlegen (76). Der Befund kann dabei außerdem durch eine ultraschallgesteuerte Feinnadelpunktion histopathologisch gesichert werden (77).

Sind die 3 wichtigen Staging-Untersuchungen durchgeführt, kann eine klinische TNM-Einteilung getroffen werden. Liegt hierbei ein lokal fortgeschrittener (cT2-4) oder N-positiver Tumor vor, kann laut Leitlinie ein FDG-PET-CT zum M-Staging angeschlossen werden, falls der Patient:in noch potentiell kurativ zu behandeln ist (2). Eine Studie von Flamen et al. (2000) zeigt, dass das FDG-PET eine signifikant höhere diagnostische Genauigkeit bei der Detektion von Fernmetastasen hat als CT und Endosonographie zusammen (78). Für regionäre Lymphknotenmetastasen weist das FDG-PET wie das CT zwar eine höhere Spezifität, aber eine niedrigere Sensitivität als der EUS auf (70) (siehe Tabelle 6).

Seltener angewendete diagnostische Verfahren sind die Röntgendarstellung, die Bronchoskopie und die Laparoskopie:

Obwohl der Röntgen-Brei-Schluck laut Expertenkonsens nicht mehr zur Diagnosestellung eines Ösophaguskarzinoms angewendet werden soll (2), kann eine Röntgenuntersuchung mit oralem, wasserlöslichem Kontrastmittel immer noch zur Darstellung von Tumorkomplikationen, v.a. Fisteln, geeignet sein (79). Die flexible Bronchoskopie beim Ösophaguskarzinom wird in der Leitlinie hingegen für „lokal fortgeschrittene[n] Tumore[n] mit Kontakt zum Tracheo-Bronchial-System auf Höhe - oder oberhalb - der Karina“ (2) empfohlen. Der endobronchiale Ultraschall zeigt in einer Studie von Wakamatsu et al. sogar eine höhere Sensitivität und Spezifität als das CT und MRT für eine tracheobronchiale Invasion (80). Bei fortgeschrittenen Stadien (cT3-4) kann laut Leitlinie bei Adenokarzinomen des distalen Ösophagus und des ösophagogastralen Übergangs auch eine diagnostische Laparoskopie angewendet werden. Mit dieser können Metastasen der Leber und/oder des Peritoneums aufgedeckt werden. (2, 81)

Zusammenfassend sind also der endoskopische Ultraschall (evtl. mit Feinnadelpunktion), das MDCT von Abdomen und Thorax (evtl. Hals) und die Abdomensonographie (evtl. Halssonographie) für die klinische Stadieneinteilung notwendig und können bei fortgeschrittenem Befund noch um ein PET-CT ergänzt werden.

2.1.4.3. Pathologie

Die Aufgabe der Pathologie besteht darin, anhand der gewonnenen Präparate den Tumor in ein TNM- und UICC-Stadium (s. Abschnitt 2.1.1.3/4) einzuteilen. Dabei sind sowohl der

histologische Subtyp als auch die lokale Infiltrationstiefe und der Tumorbefall von Lymphknoten und Metastasen-suspekten Herden entscheidend.

Auch die unmittelbaren Vorläuferläsionen des Ösophaguskarzinoms, die intraepithelialen Neoplasien (IEN), bei denen der Tumor noch nicht durch die Basalmembran gebrochen ist, sollen laut Leitlinie in negativ, unklar/fraglich, low grad (LGIEN) und high grade (HGIEN) eingestuft werden. (2) Dies ist wichtig, da das Karzinomrisiko mit dem Schweregrad der Dysplasie steigt. In einer prospektiven Studie von Wang et al. (2005) konnte gezeigt werden, dass sich eine LGIEN mit einem Risiko von 2,9%, eine HGIEN mit 28,3%-igen Risiko und ein Carcinoma in situ mit einem Risiko von 34,4% zu einem infiltrierenden Karzinom weiterentwickelt (82).

Ebenso beim Adenokarzinom spielt die Einteilung dieser Vorläuferläsionen eine wichtige Rolle, da sie den validesten Marker für das Malignitätsrisiko eines Barrett-Ösophagus darstellt (2). Die Barrett-Metaplasie geht häufig über diese Dysplasien in ein Adenokarzinom über (Dysplasie-Karzinom-Sequenz) (83).

Der histopathologische Befund bei endoskopischen Resektaten oder Operationsresektaten soll laut Leitlinie dann folgende Angaben enthalten (2):

- die Größe der neoplastischen Läsion
- die Art der neoplastischen Läsion (LGIEN, HGIEN, Karzinom)
- den histologischen Subtyp nach WHO (Haupttypen: ESCC, EAC)
- das Grading nach WHO (G1 – gut differenziert bis G4 – undifferenziert)
- die maximale Tiefe der Infiltration: pT1a (m1, m2, m3, m4)/pT1b (sm1, sm2, sm3) + Infiltrationstiefe in µm oder andere T-Stadien
- die Lymphgefäß (L0 vs. L1) - und/oder Veneninvasion (V0 vs. V1)
- die Tumorfreiheit der Resektionsränder: R0 vs. R1
- den Status der regionären Lymphknoten (pN)

Vor allem bei endoskopischen Resektaten von plattenepithelialen Frühkarzinomen soll die Infiltrationstiefe nach den Vorgaben der Japanese Society for Esophageal Diseases noch genauer spezifiziert werden. Bei einer mukosalen Infiltration unterscheidet man dabei zwischen m1-m3 (je höher die Zahl, desto tiefer die Infiltration, m4 nur bei Adenokarzinomen), bei einer submukosalen Infiltration zwischen sm1-3 (2). Dies ist wichtig, da die Infiltrationstiefe in einem direkten Zusammenhang mit dem Risiko zur regionären Lymphknotenmetastasierung steht: Während dieses für m1-Tumore noch bei 0% liegt, steigt es für sm1-Tumore schon auf 26,5% und für sm3-Tumore auf 45,9% (84). Die Beurteilung kann daher entscheidend sein für die Frage, ob eine endoskopische Resektion ausreicht oder operativ nachreseziert werden muss.

Einen weiteren wichtigen Beitrag in der Diagnostik des Ösophaguskarzinoms leistet die Pathologie mit der Beurteilung des Tumorregressions-Scores nach neoadjuvanter Therapie. Hier gibt es zwar keinen einheitlichen Score, im deutschsprachigen Raum sind aber vor allem die Einteilung nach Mandard (85) und nach Becker (86) üblich. Erstere beschreibt das Verhältnis zwischen Fibrose und Tumorzellen, zweitere den Anteil des Residualtumors am Tumorbett. Eine Studie von Meredith et al. (2010) zeigt, dass eine komplette pathologische Response mit mehr R0-Resektionen, weniger Rezidiven und einem besseren Überleben korreliert (87). Damit korreliert der Tumorregressionsscore bei Patient:innen, die eine neoadjuvante Therapie erhalten, besser mit deren Prognose als das prätherapeutische Tumorstadium (88).

Außerdem spielt bei Adenokarzinomen die Bestimmung des HER2-neu-Status eine Rolle in der Pathologie, da dieser den potenziellen Nutzen einer Trastuzumab-Therapie bestimmt (89).

2.1.5. Prognosefaktoren

Die Prognose der Patient:innen hängt stark von ihrem UICC-Stadium ab: Während im Stadium 1 noch 50-80% mindestens 5 Jahre überleben, sind es im Stadium 3 nur noch 10-15% und im Stadium 4 schließlich weniger als 5% (10).

In einer systematische Metanalyse über 171 Studien aus dem Jahr 2020 ergab sich bei Patient:innen mit einer Ösophagektomie für folgende Parameter die stärkste Korrelation zum Überleben: das T- und N-Stadium, eine perineurale Invasion, der zirkumferentielle Resektionsrand, ein schlechtes Grading und ein hohes Neutrophile/Lymphozyten-Verhältnis. Diese Faktoren scheinen also einen entscheidenden Einfluss auf die Prognose zu haben. (90)

2.1.6. Kurative Therapie

Nach Abschluss der Diagnostik wird eine Entscheidung über die weitere Therapie im Rahmen einer interdisziplinären Tumorkonferenz getroffen. Berücksichtigt werden sollten dabei nach der Leitlinie „Staging-Informationen, die Patienten-Komorbiditäten, der Ernährungsstatus und die Patientenpräferenz“. (2)

2.1.6.1. Endoskopische Therapie

Für HGIEN und mukosale Karzinome ohne Lymphgefäß- und Veneninvasion, mit einem Grading von 1 oder 2 und ohne Ulzeration empfiehlt die Leitlinie aktuell eine endoskopische Resektion. Diese hat nicht nur einen therapeutischen, sondern aufgrund der Möglichkeit einer exakten pathologischen Beurteilung der Tiefeninfiltration auch einen diagnostischen Nutzen. Für die beiden histologischen Entitäten des Ösophaguskarzinoms gibt es unterschiedliche Indikationskriterien für eine endoskopische Resektion: Für Adenokarzinome wird diese bis einschließlich zum Stadium sm1, bei einer Tiefeninvasion von $<500\mu\text{m}$ und einer Größe von $<20\text{mm}$ durchgeführt, für Plattenepithelkarzinome bis einschließlich zum Stadium m2. (2)

Grund hierfür ist, dass das Risiko für Lymphknotenmetastasen bei einer Infiltration des Tumors in die Submukosa bei Plattenepithelkarzinomen größer ist als bei Adenokarzinomen (91, 92).

Sollten sich in der pathologischen Aufarbeitung folgende Faktoren zeigen, sollte eine chirurgische Resektion angeschlossen werden: L1 oder V1, $\geq$ G3, Submukosainfiltration $\geq 500\mu\text{m}$, R1 basal (2).

Die endoskopische Resektion kann in Form einer endoskopischen Mukosaresektion (EMR) oder einer endoskopischen Submukosadisektion (ESD) erfolgen (2). Die EMR ist vor allem in westlichen Ländern weit verbreitet und zeigt in einigen Studien für Frühkarzinome die gleiche Effektivität wie eine Operation bei einer geringeren Komplikationsrate (93, 94). Die ESD hingegen wird vor allem in asiatischen Ländern breit eingesetzt und bei größeren Läsionen $>15\text{mm}$ bevorzugt verwendet (95). Für das Plattenepithelkarzinom zeigte sich in einer Metanalyse von Guo et al. (2014) für die ESD höhere kurative Resektionsraten und geringere Rezidivraten, allerdings auch höhere Komplikationsraten als für die EMR (96). Für das Barrettkarzinom existieren nur wenige Daten zur ESD. In einer Studie von Probst et al. konnten bei dieser Entität mit der ESD bei 96% der Probanden eine en-bloc-Resektion und bei 87% eine R0-Resektion erreicht werden (97).

Barrettnephasien zeigen nach endoskopischer Resektion häufig Rezidive und metachrone Läsionen (98). Eine Studie von Pech et al. zeigte, dass das Risiko für metachrone Läsionen signifikant gesenkt werden konnte, wenn im Anschluss eine ablativ Therapie durchgeführt wurde (99). Aktuell angewendete Verfahren sind hierbei die Radiofrequenzablation (RFA) und die Argon-Plasma-Koagulation (APC). Die beiden Verfahren zeigen eine ähnliche Effektivität, die APC ist jedoch kostengünstiger (100).

Zur Nachsorge nach endoskopischer Resektion empfiehlt die aktuelle Leitlinie Kontrollendoskopien nach 3 Monaten, dann für 2 Jahre halbjährlich und dann jährlich. Rezidive, die auf die Mukosa beschränkt sind, können dann erneut endoskopisch abgetragen werden, ansonsten ist eine Operation notwendig. (2)

2.1.6.2. Operative Therapie

Die operative Therapie ist ein wichtiger Bestandteil der kurativen Behandlung des Ösophaguskarzinoms, wenn eine endoskopische Resektion aufgrund einer ausgeprägten Tiefeninfiltration nicht mehr möglich ist. Die Durchführung solcher Operationen ist laut Leitlinie Krankenhäusern vorbehalten, die mindestens 20 Ösophagus-Operationen pro Jahr durchführen (2), da sich in einer systematische Review von Metzger et al. (2004) zeigte, dass sich ab dieser Zahl die postoperative Mortalität reduziere (101). Außerdem soll vor der Operation eine Risikoanalyse hinsichtlich der „kardiale[n], respiratorische[n], hepatische[n] und metabolische[n] Funktion“ (2) und der Compliance der Patient:innen sowie ein Screening

auf Mangelernährung (102) durchgeführt werden, um möglichen postoperative Komplikationen frühzeitig vorzubeugen.

Das Ausmaß der Resektion richtet sich dabei nach der Lokalisation des Tumors:

- AEG Typ III Tumoren werden mittels transhiatal erweiterter Gastrektomie und distaler Ösophagusresektion behandelt (TEG=transhiatal erweiterte Gastrektomie). Hierbei wird über einen abdominalen Zugang der Magen und distale Teil des Ösophagus entfernt. Die Rekonstruktion der Passage erfolgt meist als End-zu-Seit Ösophagojejunostomie nach Roux-Y. (2)

In einer randomisiert kontrollierten Studie von Kurokawa et al. (2015) zeigte sich im 10-Jahres-Follow-up unter Ausschluss von Patient:innen mit postoperativen Komplikationen für Typ III-Tumore mit dieser Technik ein signifikant besseres Überleben als in der Gruppe, die mit der im Folgenden beschriebenen thorakoabdominellen Ösophagektomie behandelt wurde (103).

- Für AEG Typ I Tumoren und solche des distalen und mittleren thorakalen Ösophagus wird eine rechts transthorakale subtotale Ösophagektomie, eventuell mit Resektion des proximalen Magens angewandt (TAE=thorakoabdominelle Ösophagektomie). Bei dieser Operation erfolgt über einen abdominalen Zugang eine Teilentfernung des Magens und über einen thorakalen Zugang eine Teilentfernung des Ösophagus. Für weiter oral gelegene thorakale Tumoren muss das Resektionsausmaß unter Einhaltung des Sicherheitsabstands nach oben ausgedehnt werden. Die Passage wird nach Magenhochzug über eine intrathorakale Ösophagogastrostomie wiederhergestellt (alternativ mit Koloninterponat). (2)

In einer randomisiert kontrollierten Studie von Omloo et al. (2007) zeigte sich für AEG Typ I-Tumore mit positivem Lymphknotenstatus mit dieser Technik ein signifikanter Überlebensvorteil gegenüber der transhiatalen Resektion. Dies ist vermutlich durch eine radikalere Lymphknotenentfernung durch die TAE zu erklären. (104)

- Für AEG Typ II-Tumoren sind beide Verfahren möglich und müssen individuell abgewägt werden (2). Die beiden vorher genannten Studien zeigten für diese Lokalisation keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Techniken im 5-Jahres- (104) und 10-Jahres- (103) Überleben. Aktuell vergleicht die CARDIA-Studie die beiden Verfahren für AEG II-Tumore (105).
- Zervikale Tumore des Ösophagus können über eine obere Sternotomie zusammen mit den regionären Lymphknoten entfernt werden. Da diese Operation jedoch eine hohe Komplikationsrate aufweist, wird für diese Lokalisation eine definitive Radiochemotherapie als gleichwertig zur Operation angesehen. (2)

Die Operation beinhaltet neben der Entfernung des Tumors auch immer eine Zweifeld-Lymphadenektomie, bei der die regionären thorakalen und abdominellen Lymphknoten entfernt werden. Bei einem zervikalen Befall wird diese auf eine Dreifeld-Lymphadenektomie, die auch das zervikale Kompartiment umfasst, ausgeweitet.(2)

In den letzten Jahren werden auch minimal invasive Techniken in der Ösophaguschirurgie interessant. Laut Leitlinie sollen minimal invasive oder Hybrid-Verfahren (Kombination aus minimal invasiv und offen) bei fehlenden Kontraindikationen gegenüber offenen Verfahren bevorzugt werden (2). Möglich sind hierbei eine laparoskopische Gastrektomie und eine thorakoskopische Ösophagektomie einzeln oder in Kombination. Die total-minimal-invasiven und robotischen Verfahren zeigen in zahlreichen Studien gegenüber den offenen Operationstechniken signifikant geringere Raten an postoperativen Komplikationen, eine bessere Lebensqualität im Follow-up (106, 107) und eine kürzere Krankenhausverweildauer (108). Allerdings zeigt sich kein signifikanter Unterschied im Überleben (109, 110). Im Rahmen des MIRO-Trials wurde die offene Ösophagektomie mit Magenhochzug mit einem Hybridverfahren bestehend aus einer laparoskopischen Gastrolise und einer offenen Ösophagektomie verglichen. Auch die Hybridtechnik zeigte dabei signifikant weniger intra- und postoperative Komplikationen und eine bessere Lebensqualität im Follow-up, allerdings keinen Unterschied im 3-Jahres-Gesamt- und tumorfreien Überleben (111, 112).

Ist die operative Therapie erfolgt, richtet sich das weitere Vorgehen nach dem pathologischen Befund des Präparates. Eine Metaanalyse von Evans et al. (2019) zeigte, dass Patient:innen mit zirkumferentiellen Tumorresten in der Histopathologie ein signifikant schlechteres Überleben aufwiesen als solche mit R0-Resektion (113). Sollte intraoperativ eine R1-Resektion festgestellt werden, sollte daher laut Leitlinie nachreseziert werden. Bei einer postoperativen R1-Situation hingegen sollte eine Radiochemotherapie erfolgen. (2)

2.1.6.3. Neoadjuvante Therapie

Ob die operative Therapie durch eine präoperative Bestrahlung, Chemotherapie oder zielgerichtete Therapie ergänzt werden sollte, wurde und wird noch in zahlreichen Studien untersucht.

Für cT2N0 eingestufte Tumore ergab sich in einer Studie von Speicher et al. (2014) für beide histologischen Entitäten kein Vorteil im Überleben durch eine neoadjuvante Therapie. Allerdings zeigte sich auch, dass das Staging vor der Operation bei 41,6% der Tumoren zu niedrig und bei 31,7% zu hoch war. (114) Daraus ergibt sich in der aktuellen Leitlinie eine Kann-Empfehlung zur neoadjuvanten Therapie von cT2N0-Tumoren. Für Adenokarzinome wird dabei eine perioperative Chemotherapie und für Plattenepithelkarzinome eine neoadjuvante Radiochemotherapie empfohlen. (2)

Für Tumore im Stadium cT3-4 oder N1-3 verglich die randomisiert kontrollierte CROSS-Studie die präoperative Radiochemotherapie mit anschließender Operation und die alleinige Operation miteinander für beide histologischen Entitäten. In der Gruppe mit neoadjuvanter Therapie konnten signifikant mehr R0-Resektionen erzielt werden. Außerdem überlebten die Patienten sowohl mit Plattenepithelkarzinom (81,6 Monate vs. 21,2 Monate) als auch mit Adenokarzinom (43,2 Monate vs. 27,1 Monate) im Median signifikant länger, falls sie präoperativ eine Radiochemotherapie erhalten hatten. (115, 116)

Gestützt durch diese Ergebnisse gibt die aktuelle Leitlinie daher eine Soll-Empfehlung für eine präoperative Therapie von fortgeschrittenen Tumoren im Stadium cT3-4, N1-3 (2).

Für Adenokarzinome verglich die randomisiert kontrollierte ESOPEC-Studie die neoadjuvante Radiochemotherapie nach CROSS-Protokoll (41,4Gy + Carboplatin/Paclitaxel) mit der perioperativen Chemotherapie nach FLOT-Protokoll (5-Fluorouracil (5-FU), Folinsäure, Oxaliplatin, Docetaxel). Dabei zeigte sich ein signifikant längeres 3-Jahres-Overall-survival (OS) für die perioperative FLOT-Therapie (57,4%) gegenüber der neoadjuvanten Radiochemotherapie (50,7%) (117, 118). In der Leitlinie wird aktuell sowohl die perioperative Chemotherapie als auch eine präoperative Radiochemotherapie empfohlen (2).

Für das Plattenepithelkarzinom empfiehlt die Leitlinie hingegen nur die präoperative Radiochemotherapie (2). Gestützt wird dies durch eine Review von Montagnani et al. (2017), in der verschiedene Therapiemodalitäten für das ösophageale Plattenepithelkarzinom miteinander verglichen wurden. Gegenüber der alleinigen Operation zeigten nur eine neoadjuvante Radiochemotherapie und eine definitive Radiochemotherapie ein signifikant besseres Überleben, nicht aber eine neoadjuvante Chemotherapie oder eine adjuvante Radiochemotherapie (119).

Für die neoadjuvante Radiochemotherapie empfiehlt die Leitlinie folgende Chemotherapie-Protokolle (2):

- 5-FU/Cisplatin
- Carboplatin/Paclitaxel
- FOLFOX (Oxaliplatin, Folinsäure, 5-FU)

Zielgerichtete Therapien sollen laut Leitlinie in kurativer Absicht präoperativ nicht eingesetzt werden (2). In einer Phase III-Studie von Safran et al. wurden Patienten mit HER2neu-positivem Adenokarzinom in eine Gruppe mit neoadjuvanter Radiochemotherapie + OP und in eine Gruppe mit neoadjuvanter Radiochemotherapie + OP + Trastuzumab randomisiert. Die beiden Gruppen zeigten keinen Unterschied im krankheitsfreien Überleben. (120)

2.1.6.4. *Definitive Radiochemotherapie (kurativ)*

Die aktuelle S3-Leitlinie empfiehlt eine definitive Radiochemotherapie in kurativer Absicht für folgende Indikationen (2):

- Nicht resektable Tumore oder nicht operable Patient:innen ohne Fernmetastasierung
- Zervikales Plattenepithelkarzinom: Größere Studien, die die definitive Radiochemotherapie mit einer Operation für diese Entität vergleichen, fehlen aktuell noch. Da eine Operation am zervikalen Ösophagus allerdings als sehr komplikationsreich gilt, stellt die definitive Radiochemotherapie eine gute Alternative dar. In einer kleinen Studie mit 49 Patient:innen von Takebayashi et al. (2017) konnten zwischen der definitiven Radiochemotherapie und der alleinigen Operation keine signifikanten Unterschiede im 5-Jahres-Überleben gefunden werden (OP 60,6%, Radiochemotherapie 51,4%, $p=0,89$) (121).
- Thorakales Plattenepithelkarzinom cT3/4: In einer Metaanalyse von Pöttgen et al. (2012) zeigten sich für diese Entität keine Unterschiede im Overall Survival zwischen der definitiven Radiochemotherapie und dem operativen Therapiearm. Außerdem wies die Gruppe mit Radiochemotherapie eine signifikant geringere behandlungsassoziierte Mortalität auf, allerdings auch ein signifikant höheres Risiko für eine lokoregionale Progression. (122)

Als Chemotherapeutika kommen dabei die gleichen Protokolle wie für die neoadjuvante Therapie in Frage. Als Gesamtdosis werden für die Bestrahlung 50,4Gy empfohlen. (2) Dies wird unterstützt durch eine Studie aus den Niederlanden, bei der kein signifikanter Unterschied zwischen einer Gesamtstrahlendosis von 50,4Gy und 61,6Gy gefunden wurde (123).

Sollte es nach einer definitiven Radiochemotherapie zu einer Persistenz oder zu einem Rezidiv des Tumors kommen, spricht die Leitlinie eine „Kann“-Empfehlung für eine Salvage-Operation aus (2). Die Studienlage hierzu ist uneindeutig, sodass die Entscheidung individuell getroffen werden muss.

2.1.6.5. *Adjuvante Therapie*

Für das Plattenepithelkarzinom spricht sich die Leitlinie mit Empfehlungsgrad B gegen eine adjuvante Therapie nach R0-Resektion aus (2). In der bereits erwähnten Metaanalyse von Montagnani et al. konnte für diese Entität kein Überlebensvorteil einer adjuvanten Radiochemotherapie gegenüber der alleinigen Operation gezeigt werden (119).

Beim nicht vorbehandelten Adenokarzinom hingegen kann laut Leitlinie bei erhöhtem Rezidivrisiko (pN1-3) nach R0-Resektion eine adjuvante Radiochemotherapie oder Chemotherapie erfolgen (Empfehlungsgrad 0) (2). In einer Metanalyse von Ohri et al. wurden adjuvante Therapieregime beim Magenkarzinom mit der alleinigen Operation verglichen, dabei

waren auch AEG-Tumoren eingeschlossen. Die adjuvante Radiochemotherapie zeigte dabei ein signifikant besseres Overall Survival gegenüber der alleinigen Operation. Im Disease-free-Survival zeigte sich die adjuvante Radiochemotherapie außerdem der adjuvanten Chemotherapie überlegen. Besonders vorteilhaft schienen die adjuvanten Therapieregime in der Gruppe mit N+ Status zu sein. (124)

Zusammenfassend spielt die adjuvante Radiochemotherapie (allein oder kombiniert) für beide Entitäten eine untergeordnete Rolle. Die präoperative Therapie ist laut Leitlinie vorzuziehen (2).

Anders sieht es für die adjuvante Immuntherapie aus: Sollte sich nach neoadjuvanter Radiochemotherapie und R0-Resektion noch Resttumor im Resektat zeigen, sollte postoperativ über 1 Jahr Nivolumab verabreicht werden (2). Diese Grad B-Empfehlung wird unterstützt durch die CheckMate 577-Studie. Ösophagus- und AEG-Tumore im Stadium II und III, die die genannten Kriterien erfüllten, wurden dabei in 2 Therapiearme aufgeteilt: Die eine Gruppe erhielt Nivolumab postoperativ, die andere Placebo. Mit Nivolumab konnte ein signifikant besseres medianes Disease-free-survival erreicht werden als mit Placebo (22,4 Monate vs. 11 Monate). Außerdem zeigten sich seltener Fernmetastasen und lokoregionale Rezidive. (125)

2.1.6.6. Nachsorge

Eine strukturierte Nachsorge sollte den Patient:innen angeboten werden, ansonsten wird sie symptomorientiert durchgeführt. Die strukturierte Form sollte wie folgt ablaufen: In den ersten 2 Jahren postoperativ erfolgt halbjährlich eine Endoskopie und ein CT. Danach werden diese Untersuchungen bis zum Ende des 5. postoperativen Jahres jährlich durchgeführt. Außerdem sollten eine Anschlussheilbehandlung, Kontrollen des Ernährungsstatus und eine Diätberatung erfolgen. (2)

2.1.6.7. Übersicht kurative Therapie

Eine Übersicht über die verschiedenen kurativen Therapiemöglichkeiten für das Adeno- (Abbildung 6) und Plattenepithelkarzinom (Abbildung 7) des Ösophagus geben die folgenden Abbildungen aus der aktuellen Leitlinie.

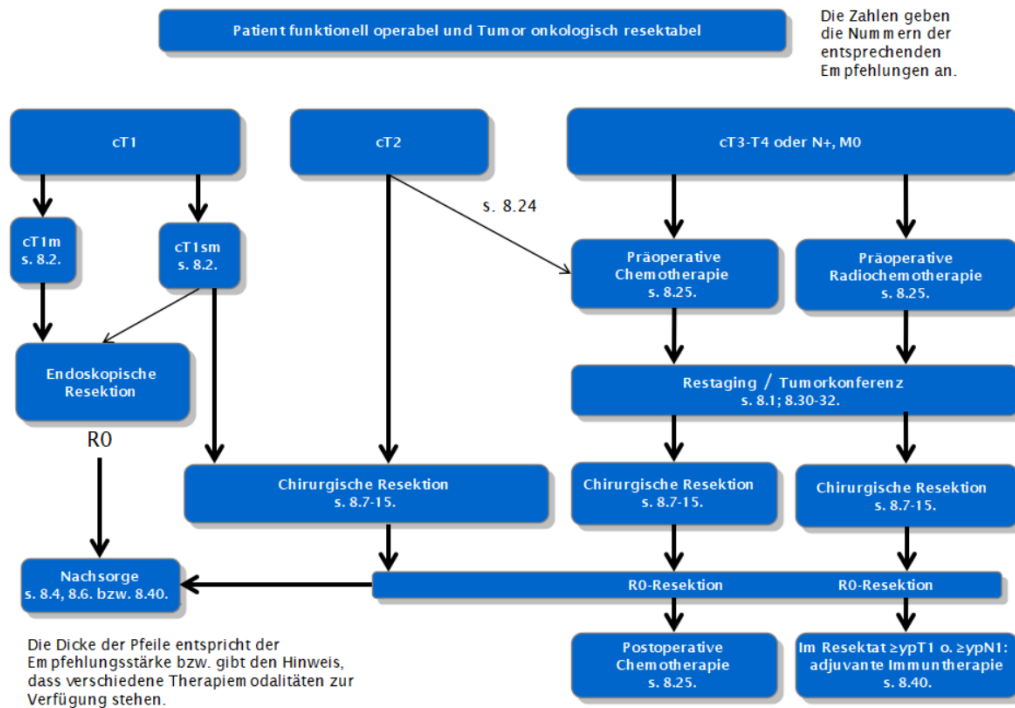


Abbildung 6 Kurativer Therapiealgorithmus für das Adenokarzinom des Ösophagus und des gastroösophagealen Übergangs (2)

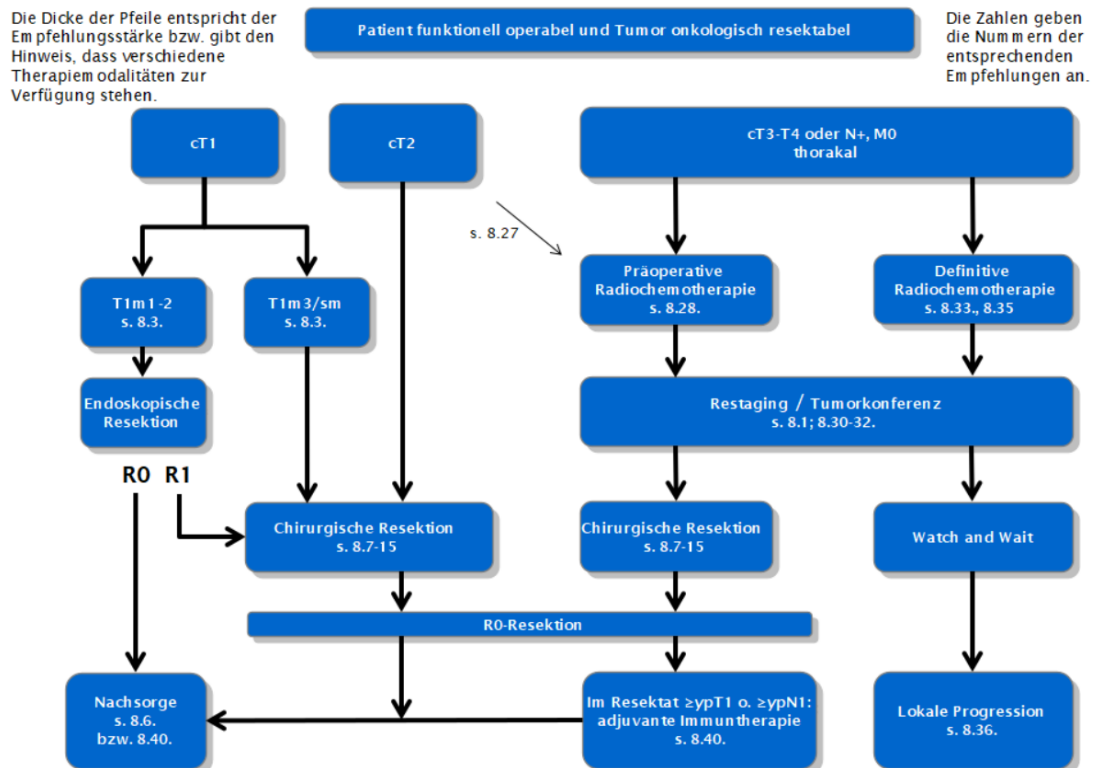


Abbildung 7 Kurativer Therapiealgorithmus für das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus (2)

2.1.7. Palliative Therapie

Ist eine kurative Therapie nicht mehr möglich, da der Tumor bereits fernmetastasiert oder lokal weit fortgeschritten ist, soll eine palliative Therapie mit dem Ziel der Lebenszeitverlängerung und einem Erhalt der Lebensqualität erfolgen.

2.1.7.1. *Palliative Therapie des Adenokarzinoms*

Um eine Entscheidung über die palliative Therapie des ösophagogastralen Adenokarzinoms zu treffen, sind zunächst zwei prädiktive histologische Marker zu bestimmen: der HER2neu-Status und der PD-L1 combined positive score (CPS). Je nach dem Ergebnis dieser Untersuchungen empfiehlt die Leitlinie folgende Vorgehensweisen (2):

Weist der Tumor keine HER2neu-Überexpression auf, richtet sich die weitere Therapie nach dem PD-L1 CPS:

- Bei einem PD-L1 CPS<5 wird eine Chemotherapie bestehend aus einer Platin- und Fluoropyrimidin-haltigen Zwei- oder Dreifachkombination empfohlen. In einer randomisiert kontrollierten Studie von Webb et al. gingen Protokolle, die 5-FU und Cisplatin beinhalteten, mit einem signifikant längeren medianen Überleben der Patient:innen einher als ältere Protokolle mit Doxorubicin und Methotrexat (126).
- Bei einem PD-L1 CPS $\geq$ 5 soll eine Chemotherapie bestehend aus einer Platin- und Fluoropyrimidin-haltigen Kombination mit dem Immun-Checkpoint-Inhibitor Nivolumab kombiniert werden. In der CheckMate-649-Studie konnte für diese Kombination in der Gruppe mit dem genannten CPS-Score ein signifikant besseres OS und PFS (progression free survival) als für die Chemotherapie allein gezeigt werden (127) sowie auch eine bessere gesundheitsbezogene Lebensqualität (128).
- Bei einem PD-L1 CPS $\geq$ 10 soll zu der Platin- und Fluoropyrimidin-haltigen Chemotherapie der Immun-Checkpoint-Inhibitor Pembrolizumab gegeben werden. Durch die Kombination mit der Immuntherapie konnte in der KEYNOTE-590-Studie für Tumoren mit dem genannten CPS ein signifikant besseres OS als mit der Chemotherapie allein erzielt werden (129).

Weist der Tumor hingegen eine HER2neu-Überexpression und/oder Amplifikation auf, sollte die Platin- und Fluoropyrimidin-haltige Chemotherapie mit Trastuzumab kombiniert werden. In der ToGA-Studie ergab sich für dieses Regime ein signifikant besseres OS als für die alleinige Chemotherapie (89).

In der Zweitlinientherapie des Adenokarzinoms wird zusätzlich die Bestimmung des MSI-high- (Mikrosatelliteninstabilität) und/oder dMMR-Status (Mismatch Reparatur Defizienz) empfohlen. Falls diese positiv ausfallen, sollte eine Immuntherapie angeschlossen werden, falls diese bisher noch nicht angewendet wurde. Anderenfalls können folgende Substanzen in

der Zweitlinientherapie eingesetzt werden: Irinotecan, Paclitaxel, Docetaxel und der VEGFR2-Antikörper Ramucirumab. (2)

Einen Überblick über die palliative Therapie des ösophagealen Adenokarzinoms gibt die folgende Abbildung 8 aus der aktuellen Leitlinie.

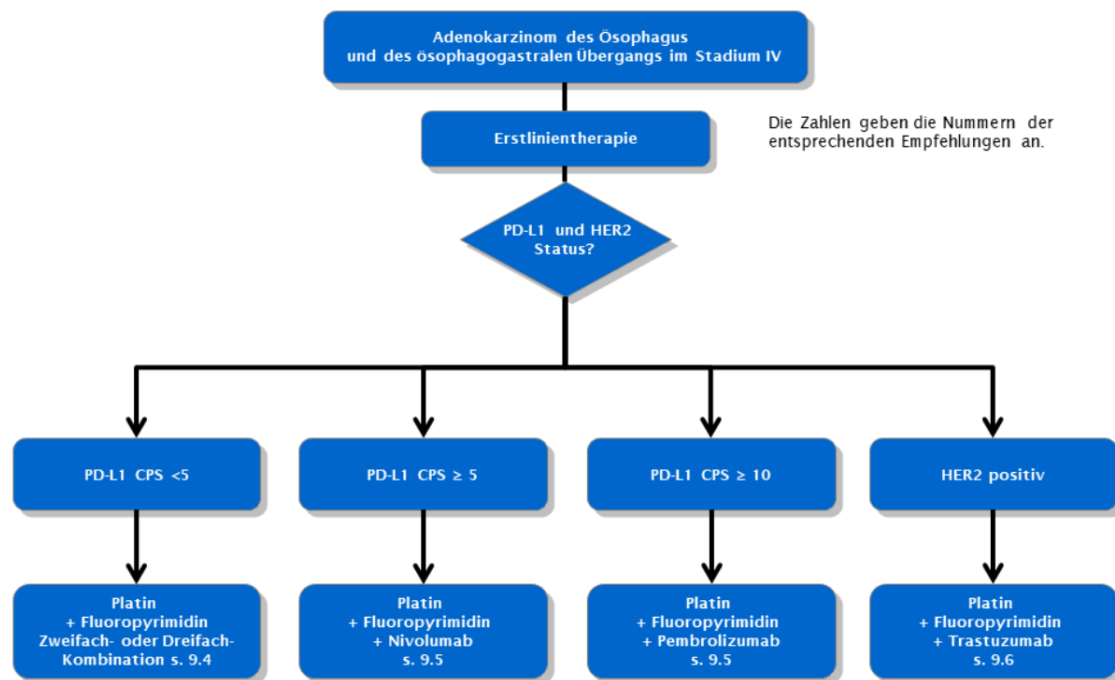


Abbildung 8 Palliativer Therapiealgorithmus für das Adenokarzinom des Ösophagus und des gastroösophagealen Übergangs (2)

2.1.7.2. Palliative Therapie des Plattenepithelkarzinoms

Für die palliative Therapie des Plattenepithelkarzinoms spielt neben dem PD-L1 CPS auch der PD-L1 TPS (tumor proportion score) eine Rolle. Die Leitlinie empfiehlt abhängig von diesen Werten folgende Therapieoptionen (2):

- Für einen PD-L1 CPS < 10 und einen TPS < 1% sollte eine Chemotherapie bestehend aus einem Platin-Derivat und einem Fluoropyrimidin oder Taxan durchgeführt werden.
- Für einen PD-L1 CPS ≥ 10 wird basierend auf der bereits genannten KEYNOTE-590-Studie, die neben Adenokarzinomen auch Plattenepithelkarzinome einschloss, zusätzlich zur Chemotherapie Pembrolizumab empfohlen (129).
- Bei einem TPS ≥ 1% kommt entweder eine Chemotherapie und Nivolumab oder Nivolumab kombiniert mit Ipilimumab in Frage. Diese Empfehlung basiert auf der CheckMate-648-Studie, bei der beide Optionen einen signifikanten Überlebensvorteil gegenüber der alleinigen Chemotherapie zeigten (130).

Als Zweitlinientherapie sieht die Leitlinie eine Immuntherapie unabhängig vom PD-L1-Status vor, falls diese noch nicht zuvor angewandt wurde (2).

Einen Überblick über die palliative Therapie des ösophagealen Plattenepithelkarzinoms gibt die folgende Abbildung 9 aus der aktuellen Leitlinie.

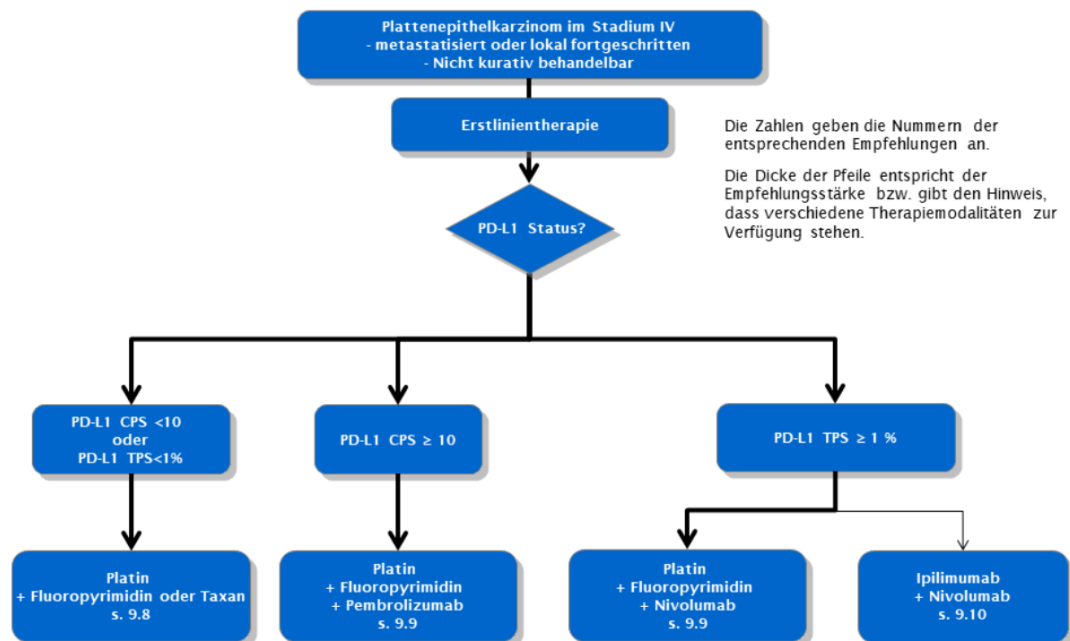


Abbildung 9 Palliativer Therapiealgorithmus für das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus (2)

2.1.7.3. Symptomatische Therapie für beide Entitäten

Da im Rahmen einer Tumorthherapie auch immer der Erhalt der Lebensqualität im Vordergrund steht, gibt es eine Reihe von Interventionen, die Symptome des fortgeschrittenen Ösophaguskarzinoms lindern sollen. Die Leitlinie empfiehlt hierfür eine perkutane Radiotherapie (eventuell kombiniert mit einer Chemotherapie), die Brachytherapie, selbstexpandierende Metallstents (SEMS) und bei exophythischen Karzinomen eine intraluminale Argon-Plasma-Koagulation (APC) (2).

Diese Verfahren können auch miteinander kombiniert werden. Die Kombination einer Brachytherapie mit einem Stent oder einer externen Bestrahlung zeigte in Studien eine stärkere Besserung der Dysphagie als eine Brachytherapie allein (131, 132). Auch die neuere APC führt zusammen mit einer Brachytherapie zu einer signifikant besseren Lebensqualität als die alleinige APC (133).

2.2. Advanced Glycation End Products und Glyoxalase-System

In einigen Tumorentitäten wurde bereits der Einfluss von Advanced Glycation End Products (AGEs) und deren Abbau durch das Glyoxalase-System (GLO) beschrieben. Im Folgenden soll die aktuelle Literaturlage zu diesem Stoffwechselweg, seiner Bedeutung für verschiedene Erkrankungen und schließlich auch für das Ösophaguskarzinom betrachtet werden.

2.2.1. Biochemische Grundlagen

AGEs entstehen als Nebenprodukt bei der Energiegewinnung von Zellen: Durch die Glykolyse wird Glucose zu den Triosephosphaten Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Dihydroxyacetonphosphat abgebaut, wodurch ATP und damit Energie generiert wird. Fallen diese Triosephosphate in so hohen Mengen an, dass sie nicht vollständig weiter zum Endprodukt Pyruvat abgebaut werden können, reagieren sie spontan zu Methylglyoxal (MG). In kleineren Mengen kann dieses auch im Aminosäure- und Lipidstoffwechsel anfallen. Methylglyoxal ist stark elektrophil und wird daher auch als „reactive carbonyl species“ (RCS) bezeichnet. Es bindet zunächst reversibel an nukleophile Teilchen, wie Thiole oder Amine, und reagiert dann irreversibel nicht-enzymatisch weiter zu den AGEs. Diese sind assoziiert mit altersbedingten Erkrankungen wie Krebs, neurodegenerativen Erkrankungen und Diabetes, weshalb sie immer mehr in den Fokus der aktuellen Forschung rücken. (7)

Zu den AGEs gehören eine Vielzahl von Molekülen. Am häufigsten sind Produkte aus der Reaktion von Methylglyoxal mit Aminosäuren wie Arginin, wobei MG-Hydroimidazol oder das in dieser Arbeit untersuchte Argpyrimidin entsteht, oder mit Bestandteilen der DNA, woraus sich Imidazopurinone ergeben. Diese Reaktionen führen zur Dysfunktion der betroffenen Proteine, Strangbrüchen in der DNA und können mutagen wirken. Zusammenfassend kann ein erhöhter Anfall von Methylglyoxal also über die Bildung von AGEs zytotoxisch wirken. (9)

Um diesem Effekt entgegenzuwirken, verfügen Zellen über ein Abbausystem für Methylglyoxal: das Glyoxalase-System. Ausgangsprodukt für diesen Stoffwechselweg ist das Methylglyoxal: das Glyoxalase-System. Ausgangsprodukt für diesen Stoffwechselweg ist das Hemothioacetal, was spontan aus MG und Glutathion (Abk.: GSH) entsteht. Dieses wird durch das geschwindigkeitsbestimmende Enzym Glyoxalase 1 zu S-D-Lactoylglutathion isomerisiert. S-D-Lactoylglutathion wird dann, katalysiert von der Glyoxalase 2, zu D-Lactat abgebaut. Dabei entsteht wieder Glutathion, was erneut mit Methylglyoxal reagieren kann, wodurch sich das System selbst aufrechterhält. (7)

Während im murinen Tierversuch bei einem GLO1-Knockdown durch den herunterregulierten Abbau erhöhte Methylglyoxal-Spiegel gemessen werden können (134), zeigen sich im Zellversuch mit nicht entarteten Schwann-Zellen bei einem kompletten GLO1-Knockout keine erhöhten Spiegel (135). Dies lässt sich durch alternative Abbaumechanismen erklären, die im Falle eines kompletten Ausfalls des Glyoxalase-Systems hochreguliert werden. Dazu zählen

beispielsweise der Abbau durch die Enzyme DJ-1, Aldehyddehydrogenase (ALDH) oder Aldo-Keto-Reduktase (AKR). (7)

Einen Überblick über die beschriebenen Stoffwechselwege rund um Methylglyoxal gibt die folgende Abbildung 10.

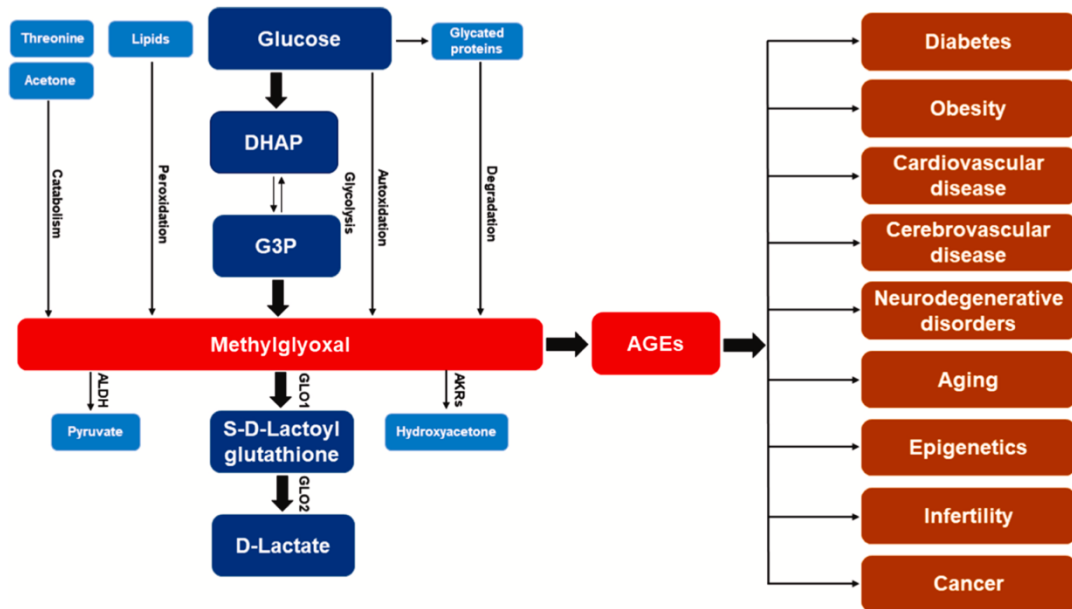


Abbildung 10 Übersicht über die Entstehung von Methylglyoxal und Advanced Glycation End Products, die damit assoziierten Folgeerkrankungen und Abbaumechanismen (8)

Die Zelle scheint ihre Level bzw. die Enzymaktivität der Glyoxalase an den Methylglyoxal-Spiegel anzupassen. Hierzu wird folgende Signalkaskade diskutiert: Methylglyoxal kann bestimmte Proteine (KEAP1) dimerisieren, die dafür sorgen, dass der Transkriptionsfaktor Nrf2 in den Zellkern eindringen kann. Dort bindet dieser an das „antioxidant response element“ (Abk.: ARE), wodurch vermehrt Abbauenzyme von Methylglyoxal (GLO1, AKR, ALDH) exprimiert werden. (136)

2.2.2. Die Rolle des Glyoxalase-Systems und von Methylglyoxal bei Übergewicht und Diabetes mellitus

Die Plasmakonzentration von Methylglyoxal bei sonst gesunden Personen scheint vom Gewicht abzuhängen. Im Mausmodell konnte dieser Zusammenhang gezeigt werden: Mäuse, die eine high-fat-diet erhielten, weisen erhöhte Methylglyoxal-Spiegel und eine erniedrigte Glyoxalase-1-Expression auf. Wurde allerdings eine GLO1-Überexpression bei den Mäusen induziert, zeigen sie trotz high-fat-diet eine geringere Gewichtszunahme als in der Wildtyp-Gruppe. (137)

Eine besonders große Rolle scheint dieser Zusammenhang auch bei Patient:innen mit Diabetes mellitus zu spielen: Auch hier zeigten sich bei Typ eins 5- bis 6-fach erhöhte und bei Typ zwei 3- bis 4-fach erhöhte Methylglyoxal-Spiegel im Blut verglichen mit einer gesunden

Kontrollgruppe (138). Im Tierexperiment führt ein GLO1-Knockdown bei gesunden Mäusen zu einer Nephropathie, die histologisch nicht unterscheidbar von einer diabetischen Nephropathie ist. Andersherum schützt eine GLO1-Überexpression Mäuse mit Diabetes vor Komplikationen wie einer Nephropathie trotz erhöhter Glucose-Spiegel. (134)

Auch in klinischen Studien mit Diabetes-Patient:innen zeigt sich ein Zusammenhang zwischen erhöhten Methylglyoxal- und AGE-Spiegeln und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für diabetische Spätkomplikationen, wie kardiovaskuläre Krankheiten (139), Nephropathie (140) und Polyneuropathie (141). Daraus entwickelte sich die Idee, durch pharmakologische Eingriffe in das MG/GLO-System Spätkomplikationen bei Diabetes mellitus-Patient:innen vorzubeugen. In Frage kämen dabei vor allem GLO1-Induktoren, die durch einen vermehrten Abbau zu verringerten Methylglyoxal-Konzentrationen führen. Hierzu wurden in einer randomisiert kontrollierten Studie von Xue et al. (2016) 29 übergewichtigen Patient:innen eine Kombination aus den beiden GLO1-Induktoren Trans-Resveratrol und Hesperetin verabreicht. Bei den mit dieser Kombination behandelten Patient:innen zeigten sich eine signifikant höhere GLO1-Expression, niedrigere MG-Konzentrationen im Plasma, reduzierte Nüchtern- und postprandiale Glucosespiegel, eine höhere Insulinsensitivität und eine geringere vaskuläre Inflammation. Um solche Medikamente in den klinischen Alltag zu integrieren, müssen allerdings noch Studien an größeren Kollektiven durchgeführt werden. (142)

2.2.3. Die Rolle des Glyoxalase-Systems und von Methylglyoxal bei malignen Erkrankungen

Wie bereits beim Diabetes mellitus beobachtet, schützt das Glyoxalase-System im nicht malignen Stadium die Zelle vor zu viel Methylglyoxal und den dadurch entstehenden Schäden. Daher gilt das GLO-Gen in nicht maligne entarteten Zellen auch als Tumorsuppressorgen. Ganz anders sieht die Situation allerdings im malignen Stadium aus: Um ihren hohen Energiebedarf zu decken, betreibt die Krebszelle eine hohe Rate an nicht-oxidativer Glykolyse trotz guter Perfusion. Dieses Phänomen wird nach seinem Erstbeschreiber als Warburg-Effekt bezeichnet. Dadurch entstehen hohe Konzentrationen an Laktat, aber auch an Methylglyoxal. Um einen Zellschaden durch die dadurch entstehenden AGEs zu vermeiden, scheinen einige Tumorzellen ihre GLO1-Expression und dadurch den Abbau von Methylglyoxal hochzuregulieren. Eine erhöhte GLO1-Expression ist im malignen Stadium also alles andere als protektiv: Sie ist assoziiert mit verstärktem Tumorwachstum und multi-drug-resistance (MDR). (9)

In einem Zellversuch von Alhujaily et al. (2021) verminderte eine GLO1-Überexpression die antiproliferative Aktivität der meisten Chemotherapeutika. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass viele Antitumor-Medikamente über eine Erhöhung von Methylglyoxal und der damit verbundenen Zelltoxizität funktionieren. Hat die Tumorzelle jedoch den Abbau von Methylglyoxal hochreguliert, ist sie resistent gegenüber diesem Wirkmechanismus. (143)

Dieser Mechanismus scheint auch in Tumorstammzellen eine bedeutende Rolle zu spielen: In einer Arbeit von Takeuchi et al. (2010) wurde in Bcr-abl-mutierten Leukämie-Stammzellen eine erhöhte GLO1-Expression festgestellt. GLO-Inhibitoren konnten diese Stammzellen *in vitro* und *in vivo* besser vernichten als die bisher etablierten Tyrosinkinaseinhibitoren. Dies stellt einen vielversprechenden Ansatz dar, da besonders Tumorstammzellen gegenüber geläufigen Therapien häufig resistent sind und dadurch für Rezidive sorgen. (144)

Doch nicht nur in der Therapie könnte das MG/GLO-System in Zukunft eine größere Rolle spielen, sondern auch in der Diagnostik: In einigen Tumorentitäten konnte bereits ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten GLO-Expression und einer stärkeren Tumorprogression festgestellt werden. Beispielsweise zeigte sich bei Brustkrebspatientinnen mittels Massenspektrometrie in 79% der Tumorzellen eine GLO1-Überexpression, die auch signifikant mit dem Tumorstadium anstieg (145). Auch beim Magenkarzinom zeigte sich eine mittels Immunhistochemie ermittelte GLO1-Überexpression assoziiert mit einem schlechteren 5-Jahres-Überleben und einer stärkeren Invasivität und Lymphknotenmetastasierung (146). So könnte sich in Zukunft die Glyoxalase 1 als prognostischer Marker für die Progression und das Überleben bei einigen Tumorentitäten etablieren.

Ein möglicher Mechanismus, über den die Tumorzelle diese GLO-Überexpression erreicht, ist eine Amplifikation des Glyoxalase-Gens: In einer Genanalyse verschiedener Tumorentitäten wurde am Locus für die Glyoxalase 1 eine erhöhte Anzahl an Genkopien gefunden. Diese korrelierte teilweise auch mit einer erhöhten Konzentration an GLO-mRNA und GLO-Protein. (147) Eine Review von Rabbani et al. (2018) gibt einen Überblick über verschiedene Studien zur GLO-Amplifikation in unterschiedlichen Tumorentitäten: Diese konnte in 83% der Proben von Patientinnen mit Tripel-negativem Brustkrebs und in 80-89% mit fortgeschrittenem malignem Melanom nachgewiesen werden. Beim Magenkarzinom (33% der Proben) und hepatozellulären Karzinom (6% der Proben) scheint die Genamplifikation hingegen eine geringere Rolle zu spielen. (9)

Auch die AGEs selbst scheinen einen Einfluss auf die Tumorentstehung zu haben. Über Bindung an den Rezeptor RAGE (receptor for advanced glycation end products) können sie Signalkaskaden auslösen, die oxidativen Stress und Inflammation beispielsweise über die Aktivierung von NFκB hervorrufen (148). Viele Studien zeigen wiederum einen Zusammenhang zwischen chronischer Entzündung und der Entstehung von Tumoren (149). In einer Studie von Nankali et al. konnte eine Überexpression des RAGE-Rezeptors beim Mammakarzinom nachgewiesen werden, welche mit aggressiveren Tumoren assoziiert war (150). Die lösliche Form des Rezeptors sRAGE (soluble receptor for advanced glycation end products) hingegen bindet AGEs im Blut, verhindert somit diese Signalkaskade und wirkt dadurch protektiv (151).

2.2.4. GLO-Inhibitoren

Aufgrund der bereits beschriebenen Bedeutung des Glyoxalase-Systems in malignen Erkrankungen, liegt es auch im Interesse der Forschung, Möglichkeiten zu finden, pharmakologisch in diesen Stoffwechselweg einzugreifen. Um der Glyoxalase-Überexpression in malignen Zellen entgegenzuwirken, wurden verschiedene Enzyminhibitoren erforscht. Ein Beispiel hierfür ist S-p-Bromobenzylglutathion: Als Substratanalogon zu Glutathion blockiert es kompetitiv dessen Bindungsstelle an der Glyoxalase und vermindert so deren Enzymaktivität. Um die Zellpermeabilität zu erhöhen und einem extrazellulären Abbau zu entgehen, kann es als Cyclopentyl-Diester-Prodrug verabreicht werden. (152) Dieser Wirkstoff führte sowohl im Zell- als auch im Mausmodell zu einem verminderten Tumorwachstum bei GLO-Überexpression (153). In einer Studie von Sharkey et al. (2000) zeigt sich ein vergleichbarer kompetitiver GLO1-Inhibitor (S-(N-p-chlorophenyl-N-hydroxycarbamoyl)-Glutathion-Ethyldiester) im Mausmodell für verschiedene Tumorentitäten ähnlich effektiv wie die etablierten Chemotherapeutika Adriamycin (Melanom), Cisplatin (Prostatakarzinom) und Vincristin (Kolonkarzinom) (154). Auch der antitumoröse Effekt von Curcuma scheint zum Teil auf eine Inhibition der Glyoxalase zurückzugehen (155).

Der zytotoxische Effekt von Glyoxalase-Inhibitoren auf maligne Zellen lässt sich auf eine Erhöhung der Methylglyoxal-Konzentration zurückführen. In einem mathematischen Modell von Rabbani et al. (2014) geht eine Inhibition der Glyoxalase-Aktivität um 97% mit einer 12-fach erhöhten Konzentration von Methylglyoxal einher (156). MG führt nicht nur über die Bildung von AGEs zu Proteindysfunktion und DNA-Schäden, sondern zeigt auch auf anderen Ebenen zytotoxische Effekte: Es kann beispielsweise über eine Modifizierung der mitochondrialen permeability transition pore das mitochondriale Membranpotential destabilisieren (157) und über eine Modifikation von extrazellulären Matrixproteinen zu verringerten Zellkontakten führen (158). Beide Mechanismen induzieren die Apoptose der Zelle.

Trotz vielversprechender Ergebnisse in Zell- und Tierversuchen sind Glyoxalase-Inhibitoren dennoch nicht im klinischen Gebrauch. In einem Review von Rabbani et al. (2018) werden hierfür mehrere Gründe genannt: Zum einen wird ein antitumoröser Effekt nur bei sehr hohen Dosen erreicht und durch eine Hochregulation anderer Methylglyoxal-Abbauwege abgeschwächt. Außerdem müssten neue Marker etabliert werden, um eine mögliche Wirksamkeit von Glyoxalase-Inhibitoren im Vorhinein abzuschätzen. Sensible Tumoren wären dabei solche mit hohen Konzentrationen an AGEs und Glyoxalase im Tumorgewebe, gemessen mittels Western Blot oder Immunhistochemie. (9)

2.2.5. Das Glyoxalase-System in spezifischen Tumorentitäten

Es ist wichtig, die Rolle des Glyoxalase-Systems in verschiedenen Tumorentitäten zu betrachten, da es nicht überall die gleiche Bedeutung zu haben scheint. In einer Studie von Chiavarina et al. (2014) zeigte sich beispielsweise in einer immunhistochemischen Färbung für Argpyrimidin an Proben von Brustkrebspatient:innen bei den meisten Subtypen eine moderate bis starke Färbung außer bei Tripel-negativen Tumoren. Diese wiesen eine signifikant schwächere bis keine Färbung für Argpyrimidin auf. Dafür zeigten die Tripel-negativen Proben eine signifikant höhere Glyoxalase-1-Aktivität. (159)

Beim Prostata-Karzinom scheint die Glyoxalase-Expression prognostisch bedeutsam zu sein: Eine hohe Expression geht mit einem signifikant höheren Gleason-Score und einem positiven nodalen Status einher und könnte damit auf einen aggressiveren Verlauf hindeuten. (160) Auch beim hepatozellulären Karzinom (HCC) konnte in einer Studie von Michel et al. (2019) ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten GLO1-Expression und einer stärkeren Proliferation beobachtet werden. Hierbei wurden außerdem GLO1-Inhibitoren an HCC-Zellen getestet, die zu einem verminderten Wachstum und Migration führten. Bei mit Sorafenib behandelten HCC-Zellen zeigte sich eine erhöhte GLO1-Expression. Die Kombination aus Sorafenib und GLO1-Inhibitor konnte folglich die beste Reduktion der Proliferation erzielen. (161)

Für das in dieser Arbeit untersuchte ösophageale Plattenepithelkarzinom sind vor allem die angrenzenden Tumorentitäten interessant: In einer Studie von Kreytzy et al. (2017) wurden Proben von Patient:innen mit oropharyngealem Plattenepithelkarzinom wie auch in dieser Arbeit immunhistochemisch sowohl für Argpyrimidin als auch für Glyoxalase gefärbt. Hier zeigte sich eine positive Korrelation zwischen den beiden Markern. Eine stärkere GLO-Färbung wies einen signifikanten Zusammenhang zu einem kürzeren progressionsfreien Überleben auf. Im Zellversuch zeigte sich auch hier eine verminderte Proliferation durch einen GLO1-Inhibitor. (162)

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch in Studien zum Magenkarzinom: Proben von erkrankten Patient:innen wiesen eine höhere GLO1-Expression auf als Normalgewebe. Erhöhte Level in Tumorproben waren außerdem assoziiert mit einer stärkeren Invasion, Lymphknotenmetastasierung und einem schlechteren 5-Jahres-Überleben. (146) Im Zellversuch zeigte sich durch einen GLO1-Inhibitor ein verringertes Wachstum (163).

In einer Studienreihe aus China wurde auch bereits der Einfluss des Glyoxalase-Systems auf das ösophageale Plattenepithelkarzinom untersucht. Hu et al. (2015) entdeckten zunächst, dass ein hohes Vorkommen der long-non-coding RNA (lncRNA) MALAT1 mit einer verstärkten Proliferation und Metastasierung beim ESCC einhergeht (164). In einer weiteren Studie von Guo et al. (2018) untersuchten sie dann, welche Effekte diese lncRNA aufweist: In ESCC-

Zellen mit MALAT1-Knockdown zeigte sich die GLO1-RNA am stärksten reduziert. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass eine erhöhte Konzentration der MALAT1 auch mit einer erhöhten GLO1-Expression einhergeht und über diesen Mechanismus womöglich zu einer verstärkten Proliferation führt. In derselben Studie wurde weiterhin die GLO1-RNA-Expression mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in 40 ESCC-Proben ohne Vorbehandlung mit gesunden Proben verglichen. Dabei zeigte sich eine signifikant höhere GLO-RNA-Expression in der ESCC-Gruppe, die auch mit höheren klinischen Stadien und mit einer Lymphknotenmetastasierung signifikant korrelierte. *In vitro* wurde außerdem eine small interfering RNA (Abk: siRNA) gegen die Glyoxalase eingesetzt, was durch deren Ausschaltung zu einer verringerten Proliferation, Migration, Invasion und zu mehr Apoptose führte. Durch einen GLO1-Knockdown bei Mäusen wiesen diese signifikant kleinere Tumore auf. (165) Zuletzt wurde in einer weiteren Studie von Hu et al. (2024) die genauen molekularen Mechanismen für die Hochregulation der Glyoxalase beim ESCC untersucht. Als möglicher Mediator zwischen der lncRNA MALAT1 und der GLO1 wurde dabei die Acetyltransferase KAT2B genannt, die über eine Modifikation am GLO1-Promotor zu einer erhöhten Transkription der Glyoxalase führt. (166)

3. Material und Methoden

3.1. Material

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Materialien, die zur immunhistochemischen Färbung und zur Auswertung verwendet wurden:

Tabelle 7 Verwendete Materialien

Material		Quelle
100% Ethanol	reinst	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
96% Ethanol	40ml A. dest. + 960ml 100% Ethanol	
70% Ethanol	300ml A. dest +700ml 100% Ethanol	
50% Ethanol	500ml A. dest +500ml 100% Ethanol	
Xylol		Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Leitungswasser		Stadtwerke Mainz
Aqua dest.		B. Braun Melsungen AG, Melsungen
EnVision Wash Buffer	1:20 in A. dest verdünnen	Dako Denmark A/S, (K8007), Glostrup, Dänemark
EnVisionTM Target Retrieval Solution Low pH (pH6)	1:50 in A. dest verdünnen	Dako Denmark A/S, (K8005), Glostrup, Dänemark
EnVision Peroxidase-Blocking Reagent		Dako Denmark A/S, (DM821), Glostrup, Dänemark
GLO1 Primärantikörper	Clone: Ju44-11, 1:500 verdünnen	Novus Biologicals (NBP2-75514)
MAGE Primärantikörper	Clone: 6B, 1:1000 verdünnen	Dianova (AGE06B)
EnVision Antibody Diluent		Dako Denmark A/S, (K8006), Glostrup, Dänemark
EnVision Flex Mouse (Linker)		Dako Denmark A/S, (8021), Glostrup, Dänemark

EnVision Flex/HRP visualization reagent	Dako Denmark A/S, (DM822), Glostrup, Dänemark
EnVision FLEX DAB+Chromogen	Dako Denmark A/S, (DM827), Glostrup, Dänemark
EnVision FLEX Hämatoxylin	Dako Denmark A/S, (K8018), Glostrup, Dänemark
Entellan, Eukitt	Sigma Aldrich, (1.07960), Merck, Darmstadt
Lichtmikroskop	Olympus CX21

3.2. Methoden

3.2.1. Vorbereitung der Probe

Aus einer retrospektiven Datenbank mit 144 Patient:innen mit ösophagealem Plattenepithelkarzinom (Erstdiagnose in den Jahren 2008-2017 an der Universitätsmedizin Mainz) wurden von 109 Patient:innen Tumorpräparate (Biopsien zur Diagnosesicherung oder Großpräparate aus der tumorentfernenden Operation) gesammelt. Diese wurden zur Haltbarmachung zunächst in Formaldehyd eingelegt und dann in Paraffin eingebettet. Aus diesen Paraffinblöcken wurden 3µm dicke Schnitte angefertigt.

Um eine Bindung von Antikörper an Antigen für die Färbung zu ermöglichen, mussten die Quervernetzungen mit dem Paraffin wieder aufgehoben werden. Hierzu wurden im ersten Schritt die Präparate 3 Mal hintereinander für 5 Minuten in Xylol gelegt. Da der später hinzugefügte Antikörper sich in einer wässrigen Lösung befand, wurde die Probe im Anschluss rehydriert. Dabei wurde sie einer absteigenden Alkoholreihe ausgesetzt und verblieb für jeweils 3 Minuten nacheinander in einer 100%-igen, 96%-igen, 80%-igen, 70%-igen und 50%-igen Ethanol-Lösung und abschließend in destilliertem Wasser.

Zur Demaskierung der Antigen-Epitope wurden die Proben in einem Dampfgerät mit 0,01M Citratpuffer bei einem pH von 6 auf 96°C für 20 Minuten erhitzt. Danach kühlten die Schnitte im Puffer 20 Minuten lang ab. Im Anschluss wurden die Objektträger für 5 Minuten mit Envision FLEX Wash Buffer gewaschen.

3.2.2. Immunhistochemische Färbung

Die folgenden Schritte erfolgten automatisiert im DAKO-Autostainer. Zunächst wurden die natürlich im Präparat vorkommenden Peroxidasen mittels wasserstoffperoxidhaltigem EnVision Peroxidase-Blocking Reagent blockiert. Dann wurde der Primärantikörper hinzugegeben, der die in dieser Dissertation untersuchten Antigene bindet: Glyoxalase 1 (Abkürzung: GLO1) bzw. Argyprimidin (Abkürzung: MAGE – methylated advanced glycation end product). Der GLO1-Antikörper (a-GLO1) wurde 1:500 in Envision Antibody Diluent verdünnt, benötigt keinen Linker und stammt aus dem Kaninchen (rabbit). a-GLO1 wurde für 20 Minuten auf dem Schnitt inkubiert. Der MAGE-Antikörper (a-MAGE) wurde 1:1000 ebenfalls im Antibody Diluent verdünnt, stammt aus der Maus (mouse) und musste über Nacht auf den Proben inkubiert werden. Außerdem wurde zum a-MAGE zur Verstärkung des Färbesignals nach der Inkubationszeit ein Envision Flex Mouse Linker hinzugegeben.

Nach 3-maligem Waschen in Waschpuffer erfolgte die Zugabe des Sekundärantikörpers (EnVision Flex/HRP visualization reagent). Dieser band mit seinem Fab-Teil an die Fc-Teile der Primärantikörper bzw. den Linker. Am Fc-Teil des Sekundärantikörpers befand sich wiederum das Enzym HRP (horseradish peroxidase). Dieses konnte das dann zugegebene Chromogen (EnVision FLEX DAB + Chromogen) in einen bräunlichen Farbstoff umsetzen. Zwischen den einzelnen Inkubationsschritten erfolgte jeweils ein 3-maliger Waschvorgang.

Für eine bessere Auswertung wurden die Zellkerne mit Hämatoxylin (EnVision FLEX Hämatoxylin) blau gegengefärbt. Nach Abschluss der Färbung wurden die Präparate durch eine aufsteigende Alkoholreihe (in umgekehrter Reihenfolge wie vorher beschrieben) wieder dehydriert und anschließend 3 Mal für jeweils 3 Minuten in Xylol gegeben. Zuletzt wurde ein Tropfen Entellan auf den Objektträger gegeben und dieser mit einem Deckglas bedeckt.

3.2.3. Mikroskopische Auswertung

Die so hergestellten Präparate wurden dann in Zusammenarbeit mit dem pathologischen Institut der Universitätsmedizin Mainz ausgewertet. Hierfür wurden die Proben sowohl von der Doktorandin als auch von einem Pathologen mittels eines Lichtmikroskops mit der maximalen Vergrößerung von 200 gesichtet. Wichtig ist dabei zunächst die Erkennung von Tumorarealen. Hierfür wurden die pathologischen Malignitätskriterien angewendet. Zellen maligner Tumore zeigen typischerweise eine Zell- und Kernpolymorphie, eine zugunsten des Kerns verschobene Kern-Plasma-Relation, vergrößerte Nukleolen, viele und atypische Mitosen, eine Hyperchromasie des Kerns und häufige Nekrosen. Außerdem zeigt sich ein invasives, eventuell bereits infiltrierendes Wachstumsmuster. (167)

Bei 10 der 109 gesammelten Präparate war keine Auswertung möglich, da kein ausreichendes Tumormaterial darauf zu sehen war. Bei den 99 verbliebenen Präparaten wurde dann in

Anlehnung an den anerkannten IRS-Score (immunreaktiver Score) beim Mamma-Karzinom für die GLO1- und MAGE-Färbung ein IRS-Score nach dem folgenden Schema ermittelt:

1. Der Anteil der Färbung am tumorösen Gewebe wird in Prozent eingeschätzt. Diese Prozentwerte werden in Gruppen eingeteilt. Jede Gruppe erhält einen anderen aufsteigenden Punktwert.
2. Die Intensität der Färbung wird in den Stufen negativ (0), schwach (1), moderat (2) bis stark (3) erhoben. Jede Stufe erhält einen anderen Punktwert.
3. Diese beiden Punktwerte werden miteinander multipliziert und ergeben den IRS-Score.
4. Der IRS-Score wird nochmals in die Gruppen negativ, schwach, moderat und stark unterteilt.
5. Um zwei Gruppen für die Kreuztabellen zu bilden, wurden bei der MAGE-Färbung die Negativen und Schwachen zur Gruppe „negativ“ zusammengefasst und die Moderaten und Starken der Gruppe „positiv“ zugeordnet. Da die GLO1-Färbung insgesamt schwächer ausgefallen ist, wurden hierbei nur die Negativen zur Gruppe „negativ“ gezählt und die Schwachen, Moderaten und Starken zur Gruppe „positiv“.

Tabelle 8 Berechnung des IRS-Scores und Gruppeneinteilung der GLO- und MAGE-Färbung

Anteil der Färbung		x Intensität der Färbung		= IRS-Score		Gruppeneinteilung	
						GLO	MAGE
0%	0 Punkte	negativ	0 Punkte	0-1 Punkt	negativ	negativ	negativ
1-20%	1 Punkt	schwach	1 Punkt	2-4 Punkte	schwach	positiv	
21-50%	2 Punkte	moderat	2 Punkte	6-8 Punkte	moderat		positiv
51-80%	3 Punkte	stark	3 Punkte	9-12 Punkte	stark		
81-100%	4 Punkte						

3.2.4. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte über das Statistikprogramm SPSS (Version 23-29) in Absprache mit dem IMBEI der Universitätsmedizin Mainz. Untersucht wurden die folgenden Fragestellungen:

- Hauptfragestellung:
 - Nullhypothese H0: Es besteht kein Zusammenhang zwischen der Ausprägung der Glyoxalase 1 und von Argpyrimidin mit dem Überleben der Patient:innen mit ösophagealem Plattenepithelkarzinom.
 - Alternativhypothese H1: Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Ausprägung der Glyoxalase 1 und von Argpyrimidin mit dem Überleben der Patient:innen mit ösophagealem Plattenepithelkarzinom.
- Nebenhypothesen:
 - Die in der Datenbank erhobenen Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten korrelieren mit der Ausprägung der Glyoxalase 1 und/oder von Argpyrimidin.
 - Die Ausprägung der Glyoxalase 1 korreliert mit der Ausprägung von Argpyrimidin im ösophagealen Plattenepithelkarzinom.
 - Die Expression der Glyoxalase 1 und/oder von Argpyrimidin hat eine prädiktive Aussagekraft hinsichtlich der Therapiestrategie beim ösophagealen Plattenepithelkarzinom.

3.2.4.1. *Deskription*

Sowohl für das gesamte IHC-Kollektiv (n=109) als auch für das ausgewertete Kollektiv (n=99) wurde eine deskriptive Datenanalyse hinsichtlich der Patient:innendaten, der Risikofaktoren und der Tumordaten erhoben. Da hier kein relevanter Unterschied zwischen den Gruppen bestand, wurden die folgenden Analysen nur am ausgewerteten Kollektiv (n=99) durchgeführt. In diesem wurde die Aufteilung der Patient:innen auf die unterschiedlichen Therapiearme und die IHC-Färbeergebnisse beschrieben.

3.2.4.2. *Zusammenhänge zwischen den Färbeergebnissen und den erhobenen Variablen*

Für die statistische Analyse wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha=5\%$ festgesetzt. Die Zusammenhänge zwischen den Färbeergebnissen und kategorialen Variablen wurden auf zwei Arten berechnet:

1. In den Kreuztabellen wurden die Färbeergebnisse positiv und negativ den Ausprägungen der Variablen gegenübergestellt. Der p-Wert (Signifikanz=Sign.) wurde dann
 - bei 2 Ausprägungen mittels Fisher-Test und
 - bei mehr als 2 Ausprägungen mittels Chi-Quadrat-Test berechnet.

2. Außerdem wurde der Zusammenhang zwischen dem IRS-Score der beiden Färbungen (nicht normalverteilt, siehe Abbildung 11) und den jeweiligen Variablen

- Bei 2 Ausprägungen mittels Mann-Whitney-U-Test (MWUT) und
- Bei mehr als 2 Ausprägungen mittels Kruskal-Wallis-Test (KWT) berechnet.

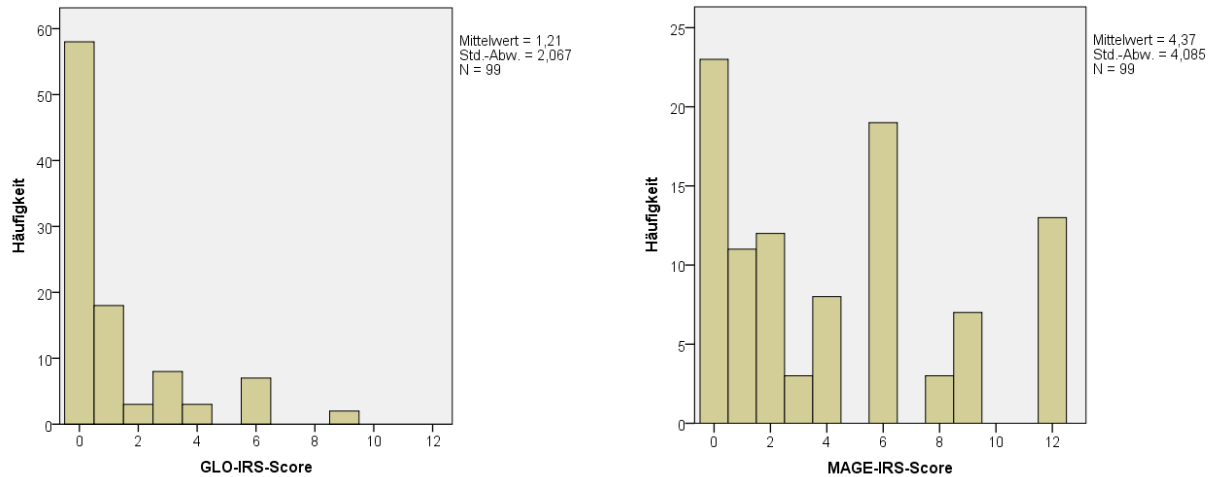


Abbildung 11 Häufigkeitsverteilung der IRS-Scores der GLO- und MAGE-Färbung

Es wurde sich für die Verwendung verschiedener Tests entschieden, da so sichergestellt werden konnte, dass durch die Einteilung in die Gruppen positiv und negativ keine Zusammenhänge übersehen werden. Eine solche Einteilung ist aber dennoch notwendig, vor allem für die späteren Überlebensanalysen, daher wurde zusätzlich eine Analyse mittels Kreuztabellen durchgeführt.

Die Zusammenhänge zu stetigen Variablen wurden als Korrelationen nach Spearman zu dem IRS-Score der Färbung angegeben.

Außerdem erfolgte eine multivariate Analyse mittels logistischer Regression.

3.2.4.3. Überlebenszeitanalysen

Die Überlebensfunktionen wurden nach Kaplan-Meier berechnet und die Überlebenszeit in Monaten angegeben. Als „Ereignis“ wurde dabei der Tod definiert. Vergleiche wurden mittels log-rank-Test durchgeführt, wobei das Signifikanzniveau weiterhin bei $\alpha=5\%$ festgesetzt wurde. Verglichen wurde dabei das Überleben in den verschiedenen Behandlungsarmen und in den Subgruppen im Rahmen der Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten. Um einen möglichen prognostischen Wert der Färbungen einzuschätzen, wurde das Überleben abhängig von den Färbeergebnissen im Gesamtkollektiv untersucht. Zur Beurteilung einer möglichen prädiktiven Aussagekraft wurde das Überleben in Abhängigkeit von den Färbeergebnissen und den verschiedenen Therapiearmen betrachtet. Außerdem erfolgte eine multivariate Analyse mittels Cox-Regression.

4. Ergebnisse

4.1. Deskription des Patient:innenkollektivs

Die retrospektive Datenbank aus den Jahren 2008-2017 umfasste ursprünglich 144 Patient:innen aus der Universitätsmedizin Mainz mit ösophagealem Plattenepithelkarzinom. Von 109 konnten histologische Präparate (Biopsien zur Diagnosesicherung oder Großpräparate aus der tumorentfernenden Operation) gesammelt und immunhistochemisch angefärbt werden. Im Anhang befinden sich weitere graphische Darstellungen und auch eine komplette Deskription des ursprünglichen IHC-Kollektivs über 109 Patient:innen. Da zum auswertbaren Kollektiv über 99 Patient:innen kein relevanter Unterschied bestand, wird in den folgenden Abschnitten nur auf das ausgewertete Kollektiv eingegangen.

4.1.1. Patient:innendaten

Das Kollektiv aus 99 Patient:innen zeigte bei Erstdiagnose ein mittleres Alter von 67 Jahren (Median: 67,3; SD: 9,95 Jahre), wobei der/die Jüngste 45 Jahre und der/die Älteste 87 Jahre war. Circa zwei Drittel (67,7%) waren männlich und nur etwa ein Drittel (32,3%) weiblich. Das mittlere Alter bei Erstdiagnose betrug bei den Frauen 67,6 Jahre, bei den Männern 66,7 Jahre.

Tabelle 9 Deskription der Patient:innendaten im ausgewerteten Kollektiv

Patient:innendaten		Anzahl/Wert	Häufigkeit in %
Gesamtzahl n=		99	100
Alter bei Erstdiagnose	Mittelwert	67	
	Minimum	45	
	Maximum	87	
Geschlecht	männlich	67	67,7
	weiblich	32	32,3

4.1.2. Risikofaktoren

Der klassische Risikofaktor Nikotinkonsum war bei ca. zwei Dritteln des Kollektivs (67,7%, n=67) zu finden. Dabei gaben die Raucher:innen im Mittel 39,7 Pack Years an (SD: 20,94; Median: 40 PY). Der zweite Hauptrisikofaktor Alkoholabusus wurde von 56,6% (n=56) der Patient:innen bejaht. Außerdem erhöhen laut Leitlinie synchrone oder metachrone Tumoren, vor allem im Kopf-Hals-Bereich, das Risiko für ein ösophageales Plattenepithelkarzinom. Dieser Risikofaktor zeigte sich bei ca. einem Drittel der Patient:innen (34,3%, n=34). In diesem Zusammenhang wurde auch eine vorausgegangene Strahlentherapie im Hals-Thorax-Bereich evaluiert, die bei 19,2% des Kollektivs (n=19) dokumentiert wurde. Der gastroösophageale Reflux wurde bei einem Großteil (n=75) nicht erhoben, sodass hierüber nur schwer Aussagen getroffen werden können. Bei 23 Patient:innen lag ein gastroösophagealer Reflux vor, bei nur

einer Person wurde er explizit verneint. Des Weiteren erfolgte eine Dokumentation des BMIs: Mit einem Mittelwert von 23,7 kg/m² (SD: 4,34; Median 23,45 kg/m²) lag der Durchschnitt des Kollektivs im Normbereich (20-24,9 kg/m²). 10 Patient:innen (10,1%) waren untergewichtig (BMI<18,5 kg/m²), 44 normalgewichtig (44,4%) und 32 (32,3%) übergewichtig (BMI≥25 kg/m²).

Tabelle 10 Deskription der Risikofaktoren im ausgewerteten Kollektiv

Risikofaktoren			Anzahl/Wert	Häufigkeit in %
Gesamtzahl n=			99	100
Nikotinkonsum	in der	nein	32	32,3
		ja	67	67,7
Pack years	Mittelwert		39,7	
	Minimum		2	
	Maximum		100	
	unbekannt		54	
Alkoholabusus	in der	nein	43	43,4
		ja	56	56,6
synchrone/metachrone Kopf-/Halstumore/andere Tumore	nein		65	65,7
	ja		34	34,3
Strahlentherapie im Hals-/Thoraxbereich	nein		53	53,5
	ja		19	19,2
	unbekannt		27	27,3
Gastroösophagealer Reflux	nein		1	1,0
	ja		23	23,2
	unbekannt		75	75,8
BMI	Mittelwert		23,7	
	Minimum		14,5	
	Maximum		34,9	
	unbekannt		13	
BMI Einteilung	Untergewicht (<18,5 kg/m ²)		10	10,1
	Normalgewicht (20-24,9 kg/m ²)		44	44,4
	Übergewicht (≥25 mg/m ²)		32	32,3
	unbekannt		13	13,1

4.1.3. Tumordaten

Die meisten Tumore (38,4%) waren mittig im Ösophagus lokalisiert, etwas weniger, aber ungefähr gleich viele waren proximal (27,3%) und distal (28,3%) zu finden.

Ein Großteil der Tumore war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung schon weiter fortgeschritten, wie es häufig beim Ösophaguskarzinom aufgrund der erst spät auftretenden Symptomatik der Fall ist. Über die Hälfte befand sich zum Zeitpunkt der Diagnosestellung schon im Stadium T3 (31,3%) oder T4 (24,2%). Ebenso wiesen ca. 70% der Patient:innen bereits eine Streuung in die regionären Lymphknoten auf (36,4% N1, 13,1% N2), wobei von 22 Patient:innen hierbei

nicht der genaue, sondern nur ein N-positiver Status (N+) angegeben wurde. Bei einer Mehrzahl der Tumoren (55,6%) konnte noch keine Fernmetastasierung gefunden werden. Wurde eine solche nachgewiesen, zeigte sie sich relativ gleich häufig in entfernten Lymphknoten (6,1%), der Leber (7,1%), der Lunge (8,1%) oder an multiplen Orten (6,1%). Bei 44,4% der Patient:innen dokumentierte die Pathologie ein Grading von 2, bei 42,2% ein Grading von 3. Nur bei jeweils einer Person lag ein Grading von 1 oder 4 vor. 37% der Männer (n=25) und 40,6% der Frauen (n=13) konnten aufgrund eines T4- und/oder M1-Status bereits in das UICC-Stadium IV eingeordnet werden.

Tumormarker wurden bei nur 29,3% bestimmt und waren dann fast gleich häufig pathologisch erhöht (14,1%) oder unauffällig (15,2%). Ebenso wurde der HP-Status (*Helicobacter pylori*) als Risikofaktor für das angrenzende Magenkarzinom und der HPV-Status (Humanes Papilloma Virus) als Risikofaktor für angrenzende oropharyngeale Karzinome erhoben. Bei einem Großteil der Patient:innen konnte dabei keine Kolonisation mit den Erregern (HP: 92,9% negativ, HPV: 97% negativ) nachgewiesen werden.

Tabelle 11 Deskription der Tumordaten im ausgewerteten Kollektiv

Tumordaten		Anzahl	Häufigkeit in %
Gesamtzahl n=		99	100
Tumorhöhe	proximal	27	27,3
	mittig	38	38,4
	distal	28	28,3
	unbekannt/mehrstufiger Tumor	6	6,1
Grading	1	1	1,0
	2	44	44,4
	3	42	42,2
	4	1	1,0
	unbekannt	11	11,1
T-Stadium	T1	6	6,1
	T2	11	11,1
	T3	31	31,3
	T4	24	24,2
	Tis	1	1,0
	unbekannt	26	26,3
N-Stadium	0	18	18,2
	1	36	36,4
	2	13	13,1
	plus	22	22,2
	unbekannt	10	10,1
M-Stadium	0	55	55,6
	1	27	27,3
	unbekannt	17	17,2

Metastasenort	keine/unbekannte Metastasierung	72	72,7
	LK	6	6,1
	Leber-Typ	7	7,1
	Lungen-Typ	8	8,1
	Multiple Metastasen	6	6,1
Tumormarker bei Erstdiagnose	nicht pathologisch	15	15,2
	pathologisch	14	14,1
	nicht bestimmt/fehlend	70	70,7
HP-Status	HP negativ	92	92,9
	HP positiv	7	7,1
HPV-Status	HPV negativ	96	97,0
	HPV positiv	3	3,0

4.1.4. Therapiealgorithmus

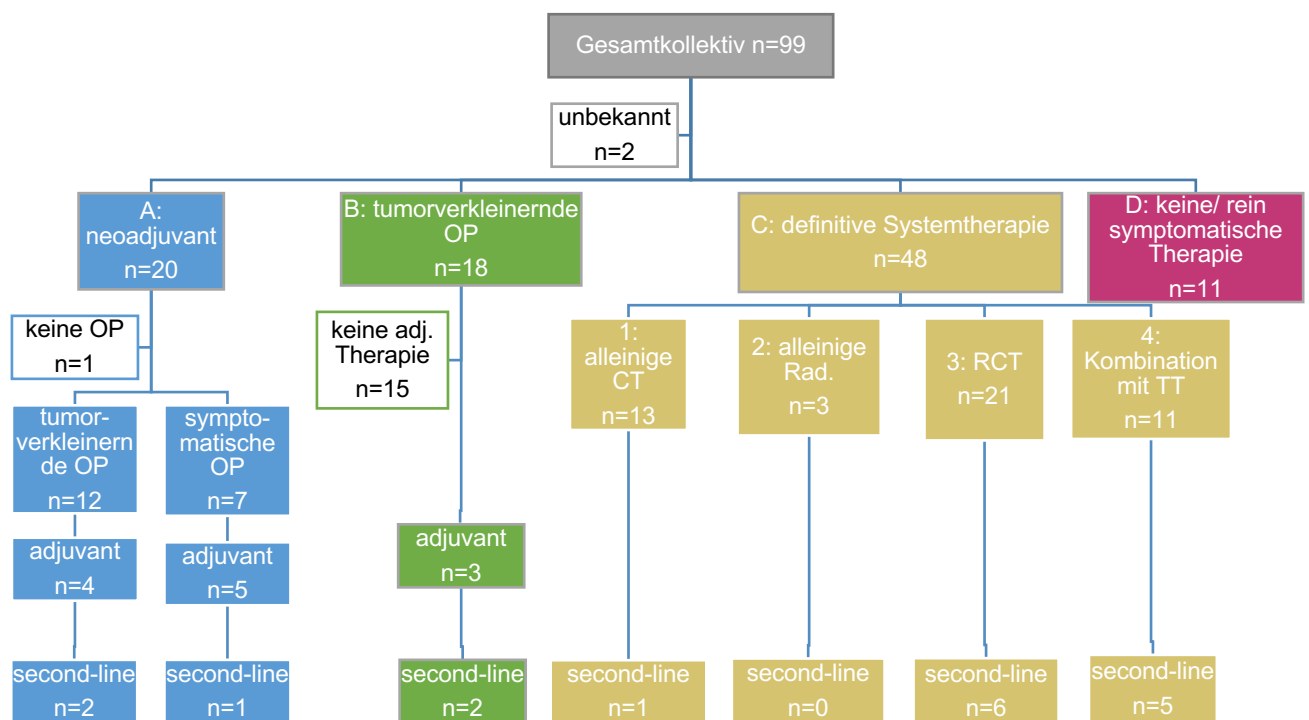


Abbildung 12 Aufteilung des Kollektivs auf die unterschiedlichen Therapiearme (CT - Chemotherapie, Rad. - Radiatio, RCT - Radiochemotherapie, TT - targeted therapy)

Die Behandlung der 99 eingeschlossenen Patient:innen kann in 4 Therapiearme aufgeteilt werden: 20,6% Prozent erhielten eine neoadjuvante (Gruppe A), 18,6% eine primär chirurgische (Gruppe B), 48,5% eine definitive Systemtherapie (Gruppe C) und 11,1% keine bzw. eine rein symptomatische Therapie (Gruppe D) (siehe Abbildung 12).

In Gruppe A bestand die neoadjuvante Behandlung bei 80% (n=16) aus einer Radiochemotherapie, während nur 10% (n=2) eine Kombination mit einer targeted therapy erhielten und nur jeweils 5% (n=1) eine alleinige Chemo- oder Radiotherapie. Eine tatsächlich tumorverkleinernde OP wurde im Anschluss bei nur 60% (n=12) durchgeführt. Hierbei konnte bei einem Großteil (n=10, 83,3%) ein R0-Status erreicht werden. 35% (n=7) der Personen aus dieser Gruppe erhielten im Gegensatz dazu nur eine symptomatische OP, wie eine Bougierung, Stent-Einlage oder PEG-Anlage. Bei 9 Patient:innen (45%) aus der ursprünglich neoadjuvant geplanten Gruppe erfolgte im Nachhinein noch eine adjuvante Behandlung, die bei den meisten (n=6, 66,7%) aus einer alleinigen Chemotherapie bestand.

Die Patient:innen in Gruppe B wurden primär operativ mit einer Mukosektomie oder einer Ösophagusresektion mit Schlauchmagenhochzug versorgt. Bei 77,8% (n=14) konnte dadurch ein R0-Status erreicht werden. Im Anschluss erfolgte bei 16,7% (n=3) der Personen noch eine adjuvante Radiatio.

Der Großteil des Kollektivs ist jedoch der Gruppe C (definitive Systemtherapie) zuzuordnen. In dieser erhielten in absteigender Reihenfolge 43,8% eine Radiochemotherapie (n=21, Gruppe C3), 27,1% eine alleinige Chemotherapie (n=13, Gruppe C1), 22,9% eine Kombination mit einer zielgerichteten Therapie (n=11, Gruppe C4) und nur 6,3% eine alleinige Radiatio (n=3, Gruppe C2).

In der C1-Gruppe erfolgte die alleinige Chemotherapie am häufigsten (n=6, 46,2%) nach dem FOLFOX 6-Schema. In Kombination mit einer Radiatio wurde in der Gruppe C3 hingegen am meisten (n=15, 71,4%) 5-FU/Cisplatin verwendet. Zur zielgerichteten Therapie in Gruppe C4 nutzte man bei 3 Patient:innen (27,3%) Cetuximab und bei 4 (36,4%) Panitumumab.

Zuletzt erhielten 11 Patient:innen (11,1% des Gesamtkollektivs) aufgrund des schon sehr weit fortgeschrittenen Befundes eine rein symptomatische Therapie (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12 Aufteilung des Kollektivs in die verschiedenen Therapiearme und in Untergruppen innerhalb dieser Therapiearme

Untergruppen der Therapiearme (Gesamt n=99)		Anzahl	Häufigkeit in % (in der jeweiligen Subgruppe)
A: neoadjuvante Therapie (n=20)			
Art der neoadjuvanten Therapie	Chemotherapie	1	5,0
	Radiatio	1	5,0
	Radiochemotherapie	16	80,0
	Kombination mit targeted therapy	2	10,0
	Gesamt	20	100
R-Status nach neoadjuvanter Therapie	R0	10	83,3
	R1	1	8,3
	unbekannt	1	8,3

	Gesamt	12	45,0
adjuvante Therapie im neoadjuvanten Behandlungsarm	Chemotherapie	6	66,7
	Radiatio	1	11,1
	Radiochemotherapie	1	11,1
	Kombination mit targeted therapy	1	11,1
	Gesamt	9	100
B: tumorverkleinernde OP (n=18)			
R-Status nach direkt OP	R0	14	77,8
	R1	3	16,7
	unbekannt	1	5,6
	Gesamt	18	100
adjuvante Therapie	Radiatio	3	100
	Gesamt	3	100
C: Definitive Systemtherapie (n=48)			
C: definitive Systemtherapie	Chemotherapie	13	27,1
	Radiatio	3	6,3
	Radiochemotherapie	21	43,8
	Kombination mit targeted therapy	11	22,9
	Gesamt	48	100
C1: Art der alleinigen CT	5FU/Cisplatin	2	15,4
	FOLFOX 6 (Oxaliplatin, Folinsäure, 5-FU)	6	46,2
	unbekannt	1	7,7
	Docetaxel/Oxaliplatin	1	7,7
	Oxaliplatin/5-FU	1	7,7
	S1	1	7,7
	FOLFOX 7 (5FU, Oxaliplatin, Folinsäure)	1	7,7
	Gesamt	13	100
C3: Art der RCT	5FU/Cisplatin	15	71,4
	FOLFOX 6 (Oxaliplatin, Folinsäure, 5-FU)	1	4,8
	unbekannt	2	9,5
	Docetaxel/Cisplatin/5FU	1	4,8
	Mitomycin C/5FU	1	4,8
	Cisplatin	1	4,8
	Gesamt	21	100
C4: Art der TT	Cetuximab	3	27,3
	unbekannt	4	36,4
	Panitumumab	4	36,4
	Gesamt	11	100

4.2. Deskription der IHC-Ergebnisse

Im Folgenden wird die Auswertung der Färbung der Präparate nach der Glyoxalase 1 (GLO1) und Argpyrimidin (MAGE=methylated advanced glycation end product) beschrieben.

4.2.1. Art der Probenahme

Bei 71 Präparaten handelt es sich um Biopsien, bei 28 um Großpräparate.

Wichtig ist zu unterscheiden, ob das Präparat vor oder nach einer Behandlung entnommen wurde (siehe Tabelle 13).

Therapienaive Präparate stammen von Patient:innen, die zuvor noch keine Chemotherapie oder Radiatio erhalten haben. Dabei handelt es sich vor allem um Biopsien zur Diagnosestellung oder Großpräparate aus der primären tumorentfernenden Operation. Sie machen 84,8% (n=84) des Kollektivs aus. Vorbehandelte Präparate wurden nach Systemtherapien (entweder neoadjuvant oder definitiv) entnommen und bilden 15,2% (n=15) der Präparate.

Tabelle 13 Verteilung des Kollektivs hinsichtlich der Art der Probenahme

Art der Probenahme		Anzahl	Anteil in %
Biopsie oder Großpräparat	Biopsie	71	71,7
	Großpräparat	28	28,3
Zeitpunkt der Probenahme	therapienaiv	84	84,8
	vorbehandelt	15	15,2

Die folgende Tabelle 14 verschafft einen Überblick darüber, welche Vorbehandlungen bei diesen Präparaten vorgenommen wurden:

Tabelle 14 Verteilung der vortherapierten Präparate hinsichtlich der Art der Vorbehandlung

Therapiearm	Art der Vorbehandlung			
	Anzahl	Anteil in %	Anzahl	
neoadjuvant	12	80	alleinige Radiatio	1
			Radiochemotherapie	10
			RCT+targeted therapy	1
Systemtherapie	3	20	Radiochemotherapie	3
Gesamt	15	100		

12 Präparate wurden nach neoadjuvanter Behandlung entnommen, 10 davon nach Radiochemotherapie. Die restlichen 3 Präparate stammen von Patient:innen, die zuvor eine definitive Radiochemotherapie erhalten haben.

4.2.2. Glyoxalase-1-Färbeergebnisse

Circa drei Viertel der Präparate (76,8%, n=76) sind negativ gefärbt. Die restlichen Präparate verteilen sich in absteigender Reihenfolge auf die Gruppen schwach (14,1%, n=14), moderat (7,1%, n=7) und stark (2%, n=2). Diese bilden die Gruppe „positiv“, die also ca. ein Viertel der Präparate ausmacht.

Tabelle 15 Verteilung der Präparate nach Intensität und Anteil der GLO-Färbung

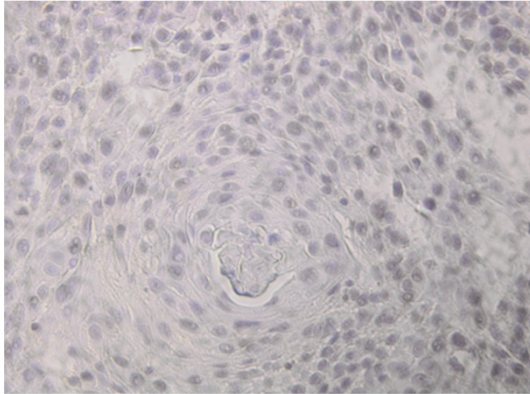
Intensität und Anteil der GLO1-Färbung		Intensität GLO1				Gesamt
		negativ (0P)	schwach (1P)	mittel (2P)	stark (3P)	
Anteil der GLO1-Färbung	keine (0P)	58	0	0	0	58
	1-20% (1P)	0	18	2	0	20
	21-50% (2P)	0	1	2	2	5
	51-80% (3P)	0	8	5	2	15
	>80% (4P)	0	1	0	0	1
	Gesamt	58	28	9	4	99

Tabelle 16 Verteilung der Präparate nach GLO-IRS-Score

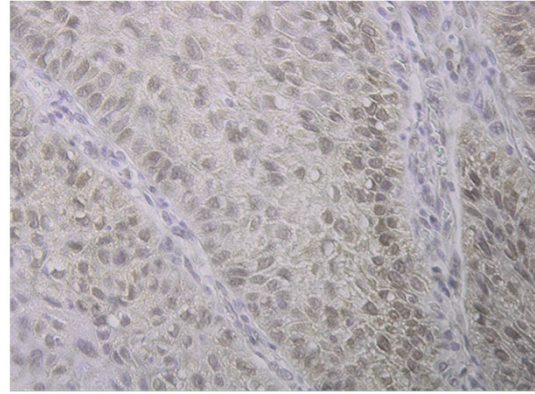
GLO1-IRS-Score	GLO1-Färbung-Einteilung	Anzahl	Anteil in %	GLO1-Gruppen	Anzahl	Anteil in %
0-1P	negativ (0)	76	76,8	negativ (0)	76	76,8
2-4P	schwach (1)	14	14,1	positiv (1/2/3)	23	23,2
6-8P	moderat(2)	7	7,1			
9-12P	stark (3)	2	2			
	Gesamt	99	100	Gesamt	99	100

Die folgende Abbildung 13 zeigt beispielhaft Präparate der Gruppen negativ, schwach, mittel und stark in der GLO1-Färbung.

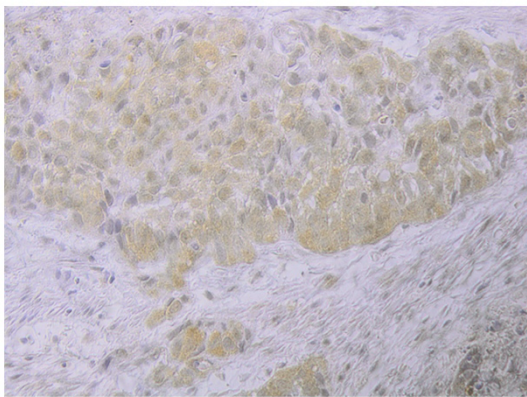
A: negativ



B: schwach



C: moderat



D: stark

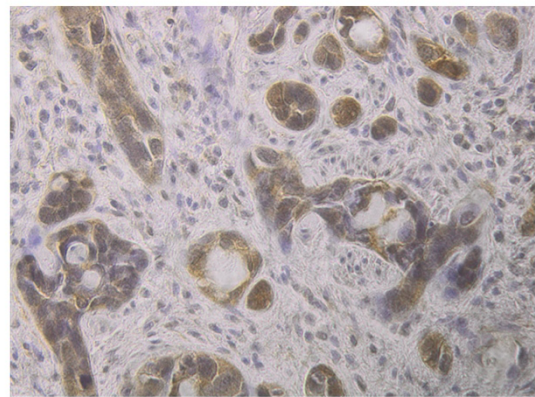


Abbildung 13 Ausschnitte aus Präparaten der Gruppen negativ, schwach, moderat und positiv in der GLO1-Färbung (200x Vergrößerung)

4.2.3. Argpyrimidin (MAGE) – Färbeergebnisse

Bei der MAGE-Färbung sind die Präparate gleichmäßiger auf die Gruppen verteilt. Etwas mehr als die Hälfte (57,6%, n=57) sind negativ (34,3%, n=34) oder schwach (23,2%, n=23) gefärbt und gehören damit zur Gruppe „negativ“. 42,4% (n=42) der Präparate sind moderat (22,2%, n=22) oder stark gefärbt (20,2%, n=20) und gehören damit zur Gruppe „positiv“.

Tabelle 17 Verteilung der Präparate nach Intensität und Anteil der MAGE-Färbung

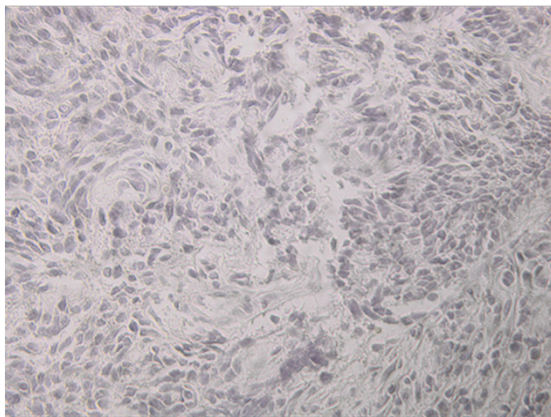
Intensität und Anteil der MAGE-Färbung		Intensität MAGE				Gesamt
		negativ (0P)	schwach (1P)	mittel (2P)	stark (3P)	
Anteil der MAGE-Färbung	keine (0P)	23	0	0	0	23
	0-20% (1P)	0	11	5	0	16
	21-50% (2P)	0	7	7	13	27
	51-80% (3P)	0	3	6	7	16
	>80% (4P)	0	1	3	13	17
	Gesamt	23	22	21	33	99

Tabelle 18 Verteilung der Präparate nach MAGE-IRS-Score

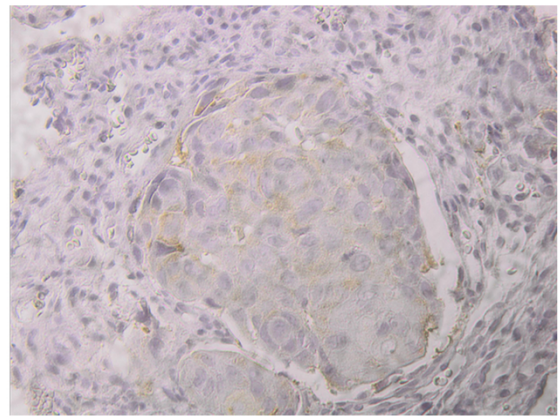
MAGE-IRS-Score	MAGE-Färbung-Einteilung	Anzahl	Anteil in %	MAGE-Gruppen	Anzahl	Anteil in %
0-1P	negativ (0)	34	34,3	negativ (0/1)	57	57,6
2-4P	schwach (1)	23	23,2			
6-8P	moderat (2)	22	22,2	positiv (2/3)	42	42,4
9-12P	stark (3)	20	20,2			
	Gesamt	99	100	Gesamt	99	100

Die folgende Abbildung 14 zeigt beispielhaft Präparate der Gruppen negativ, schwach, mittel und stark in der MAGE-Färbung.

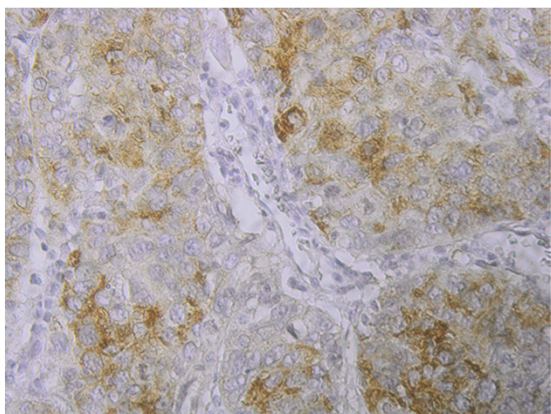
A: negativ



B: schwach



C: moderat



D: stark

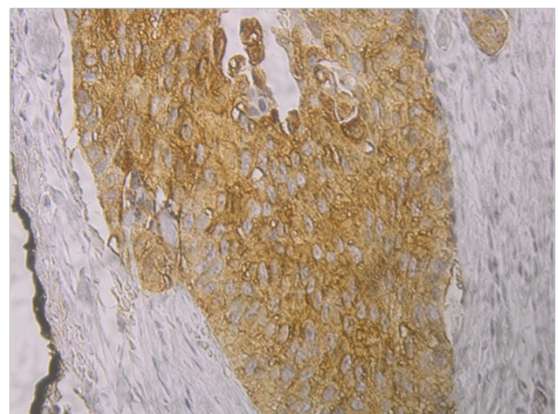


Abbildung 14 Ausschnitte aus Präparaten der Gruppen negativ, schwach, moderat und positiv in der MAGE-Färbung (200x Vergrößerung)

4.3. Zusammenhänge zwischen den IHC-Färbeergebnissen und den erhobenen Variablen

Die folgenden Tabellen und Abbildungen im Text fassen nur die statistisch signifikanten Ergebnisse zusammen. Eine Übersicht über alle Ergebnisse der statistischen Analyse für alle Variablen ist im Anhang zu finden (siehe Abschnitt 7).

4.3.1. Zusammenhang zwischen den Färbeergebnissen und den Patient:innendaten

Sowohl mit dem Fisher-Test als auch mit dem Mann-Whitney-U-Test kann kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den beiden Färbungen und dem Geschlecht gezeigt werden.

Allerdings weist das Alter eine Korrelation von -0,24 nach Spearman zum MAGE-IRS-Score auf ($p=0,017$): Mit steigendem Alter zeigt sich also tendenziell eine schwächere MAGE-Färbung (siehe Abbildung 15).

Dahingegen scheint die GLO-Färbung mit dem Alter stärker zu werden (Korrelation nach Spearman: 0,14), jedoch nicht statistisch signifikant ($p=0,167$).

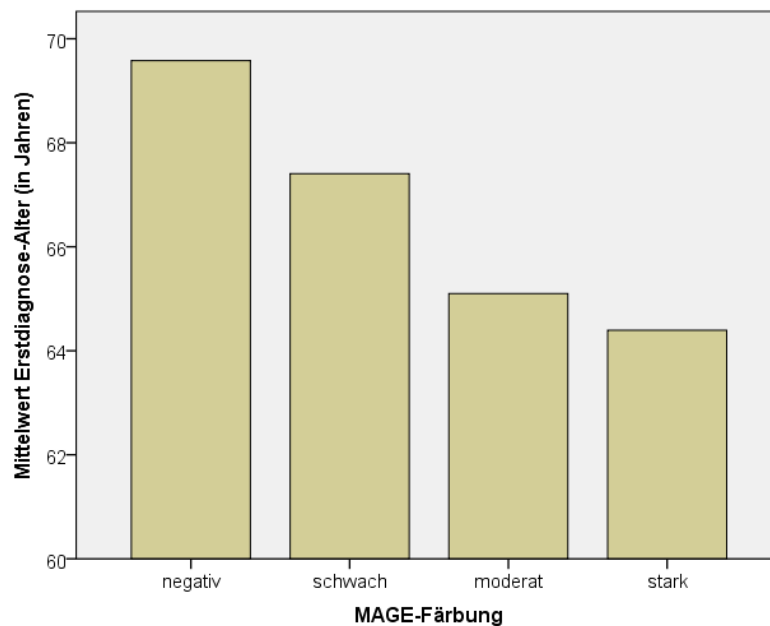


Abbildung 15 Mittelwert des Erstdiagnose-Alters aufgeteilt nach MAGE-Färbungsgruppen

4.3.2. Zusammenhang zwischen den Färbeergebnissen und den Risikofaktoren

Zu den Risikofaktoren Alkoholkonsum, synchrone/metachrone Tumoren und vorausgegangene Strahlentherapie im Hals-Thorax-Bereich kann kein statistisch nachweisbarer Zusammenhang zu den Färbeergebnissen hergestellt werden.

Mittels Mann-Whitney-U-Test zeigt sich eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Übergewicht und einem höheren GLO-IRS-Score ($p=0,02$, siehe Abbildung 16). Der

Korrelationskoeffizient nach Spearman zwischen dem GLO-IRS-Score und dem BMI im Gesamten beträgt 0,188, ist jedoch nicht statistisch signifikant ($p=0,082$).

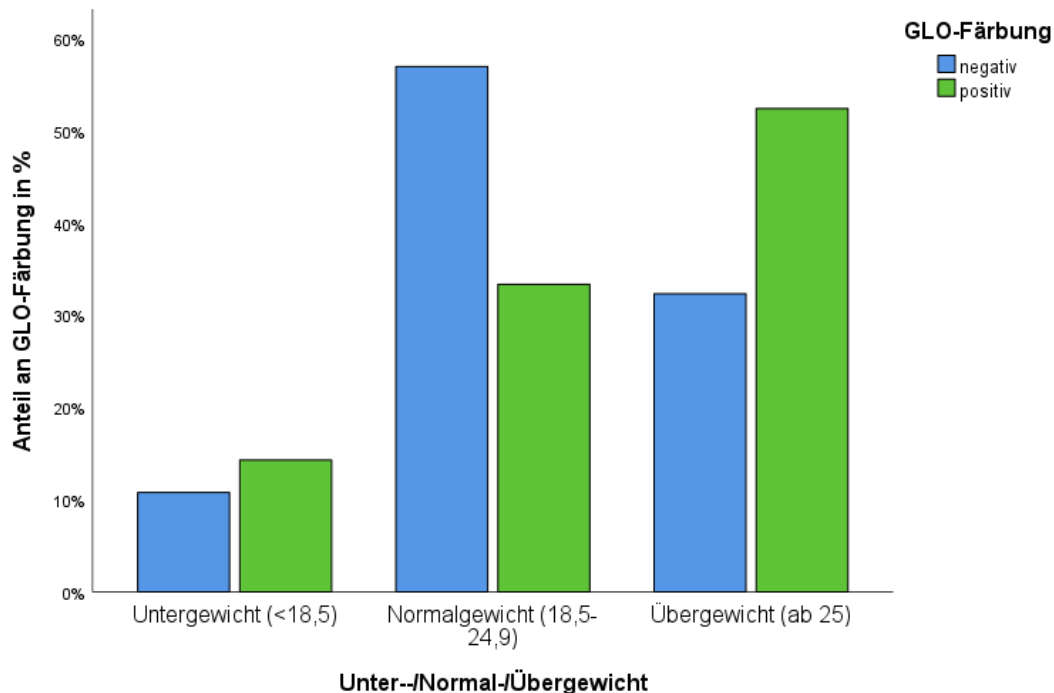


Abbildung 16 Verteilung der GLO-negativen und GLO-positiven Gruppe hinsichtlich des Gewichts

Die MAGE-Färbung hingegen scheint eher in einem Zusammenhang mit einem besonders niedrigen BMI zu stehen: Untergewichtige zeigen tendenziell einen höheren MAGE-IRS-Score, nach dem Mann-Whitney-U-Test ist dies aber nicht statistisch signifikant ($p=0,148$). Außerdem neigen Raucher zu einem höheren MAGE-IRS-Score, jedoch ebenfalls nicht statistisch belegbar (MWUT: $p=0,184$).

4.3.3. Zusammenhang zwischen den Färbeergebnissen und den Tumordaten

Mit dem Chi-Quadrat-Test kann ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer positiven GLO-Färbung und einer distalen Tumorklassifikation hergestellt werden ($p=0,009$, siehe Abbildung 17).

Statistisch nicht relevant, aber mit einem p -Wert von $<0,2$ bereits auffällig zeigen sich folgende Korrelationen: Metastasierte Stadien scheinen tendenziell einen höheren GLO-IRS-Score aufzuweisen (MWUT, $p=0,141$). Dabei zeigt sich bei Lungen- und Leber-Metastasen eine stärkere GLO-Färbung als bei entfernten Lymphknoten- oder multiplen Metastasen (KWT, $p=0,076$). Außerdem stellen sich HPV-positive Proben in der GLO-Färbung verhältnismäßig stärker gefärbt dar (MWUT, $p=0,141$).

Bei der MAGE-Färbung liegt keine statistisch signifikante Korrelation zu den Tumordaten vor. Allerdings weisen im Gegensatz zur GLO-Färbung metastasierte Stadien die Tendenz zu einem niedrigeren MAGE-IRS-Score auf, wenn auch nicht statistisch signifikant (MWUT $p=0,091$). Außerdem scheint bei Präparaten, bei denen zuvor pathologisch erhöhte

Tumormarker festgestellt wurden, ein vergleichsweise höherer MAGE-IRS-Score vorzuliegen (nicht signifikant, MWUT: $p=0,098$).

Zum T-, N- oder R-Status, Grading und zum HP-Status kann kein statistisch belegbarer oder auffälliger Zusammenhang zu den beiden Färbungen hergestellt werden.

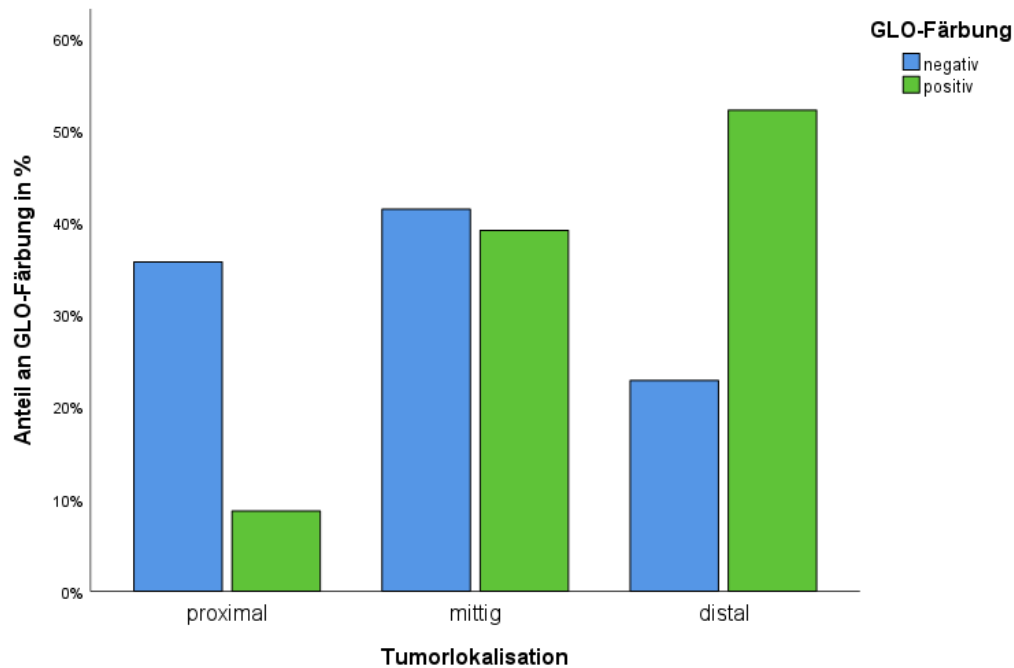


Abbildung 17 Verteilung der GLO-negativen und GLO-positiven Gruppe hinsichtlich der Tumorlokalisation

4.3.4. Zusammenhang zwischen den Färbeergebnissen und der Art der Probenahme

Mit dem exakten Test nach Fisher zeigt sich statistisch nachweisbar, dass Großpräparate häufiger GLO-positiv gefärbt sind als Biopsien ($p=0,032$). Dies lässt sich vermutlich auf die allgemein eher schwache Färbung zurückführen, die in Großpräparaten deutlicher zu erkennen ist.

Bei der MAGE-Färbung lässt sich dieser Trend ebenfalls erkennen, wenn auch nach Fisher nicht signifikant ($p=0,181$). Ein statistisch belegbarer Zusammenhang zeigt sich jedoch im Material von zuvor behandelten Patient:innen. Hier wurde eine stärkere MAGE-Färbung evaluiert (Fisher: $p=0,003$, MWUT: $p=0,018$, siehe Abbildung 18)

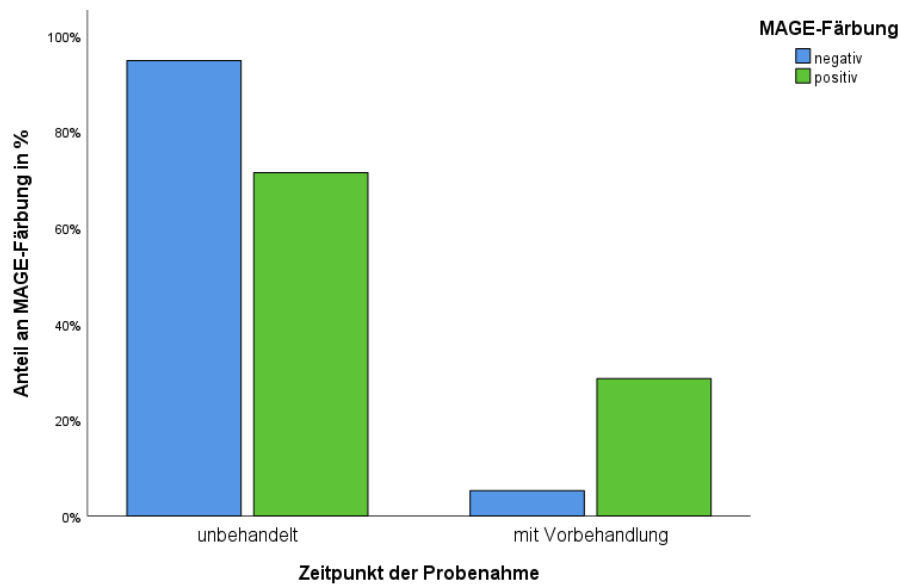


Abbildung 18 Verteilung der MAGE-negativen und MAGE-positiven Gruppe hinsichtlich des Zeitpunkts der Probenahme

4.3.5. Übersicht: Statistische Zusammenhänge mit einem p-Wert<0,2

Die folgenden Tabelle 19 und Tabelle 20 geben einen Überblick über die auffälligen Zusammenhänge zwischen den Färbeargebnissen und den erhobenen Variablen. Dick markiert sind statistisch nachweisbare Korrelationen mit einem $p < \alpha$ (also $p < 0,05$). Die restlichen Ergebnisse sind zwar nicht statistisch signifikant, aufgrund eines p-Werts unter 0,2 aber trotzdem erwähnenswert ($0,05 < p < 0,2$).

4.3.5.1. GLO-Färbung

Tabelle 19 Übersicht der Ergebnisse mit einem $p < 0,2$ für die GLO-Färbung

Statistisch signifikante Ergebnisse	Variable	Statistischer Test	Beschreibung des Zusammenhangs	p-Wert
Patient:innen-daten	Alter	Korrelation nach Spearman	=0,14 Höheres Alter - höherer GLO-IRS-Score	0,167
Risikofaktoren	Übergewicht ja/nein	MWUT	Übergewicht - höherer GLO-IRS-Score	0,02
		Fisher-Test	Übergewicht - eher positive Färbung	0,122
	BMI	Korrelation nach Spearman	=0,188 Höherer BMI - höherer GLO-IRS-Score	0,082
Tumordaten	Tumorhöhe (prox/ mittig/ distal)	Chi-Quadrat-Test	Distalere Lokalisation - eher positive Färbung	0,009
	M-Stadium	MWUT	M1 - höherer GLO-IRS-Score	0,141

	Metastasenort	KWT	Leber/Lunge - höherer GLO-IRS-Score als bei LK/multiplen Metastasen	0,076
	HPV-Status	MWUT	Positiv - höherer GLO-IRS-Score	0,141
Art der Probenahme	Biopsie/ Großpräparat	Fisher-Test	Großpräparat - eher positive Färbung	0,032
		MWUT	Großpräparat - höherer GLO-IRS-Score	0,186

4.3.5.2. MAGE-Färbung

Tabelle 20 Übersicht der Ergebnisse mit einem $p < 0,2$ für die MAGE-Färbung

Statistisch signifikante Ergebnisse	Variable	Statistischer Test	Beschreibung des Zusammenhangs	p-Wert
Patient:innen-daten	Alter bei Erstdiagnose	Korrelation nach Spearman	=-0,24 Niedrigeres Alter - höherer MAGE-IRS-Score	0,017
Risikofaktoren	Nikotinkonsum	MWUT	Nikotinkonsum - höherer MAGE-IRS-Score	0,184
	Untergewicht	MWUT	Untergewicht - höherer MAGE-IRS-Score	0,148
Tumordaten	M-Stadium	MWUT	M0 - höherer MAGE-IRS-Score	0,091
	Tumormarker	MWUT	Pathologisch - höherer MAGE-IRS-Score	0,093
Art der Probenahme	Zeitpunkt	Fisher-Test	Vorbehandlung - eher positive Färbung	0,003
		MWUT	Vorbehandlung - höherer MAGE-IRS-Score	0,018
	Biopsie/ Großpräparat	Fisher-Test	Großpräparat - eher positive Färbung	0,181
		MWUT	Großpräparat - höherer MAGE-IRS-Score	0,092

4.3.6. Zusammenhang zwischen den beiden Färbungen

Tabelle 21 Kreuztabelle für die MAGE- und GLO-Färbung

Färbungen		GLO-Färbung		Sign. nach Fisher
		negativ	positiv	
MAGE-Färbung	negativ	46	11	0,339
		60,50%	47,80%	
	positiv	30	12	
		39,50%	52,20%	

Vergleicht man positive und negative Färbeergebnisse in einer Kreuztabelle (siehe Tabelle 21) und berechnet eine mögliche Korrelation der Färbungen untereinander mittels Fisher-Test, ergibt sich ein $p=0,339$. Präparate, die GLO1-positiv gefärbt sind, weisen in der MAGE-Färbung ungefähr jeweils zur Hälfte entweder eine positive oder negative Färbung auf. Eine negative GLO1-Färbung scheint hingegen eher mit einer negativen MAGE-Färbung einherzugehen. 41 der Präparate zeigen eine gegenläufige, 46 eine doppelt negative und 12 eine doppelt positive Färbung.

Berechnet man die Korrelation der beiden IRS-Scores nach Spearman ergibt sich eine sehr geringe, aber negative Korrelation von $-0,022$, ebenfalls nicht signifikant ($p=0,827$). Demnach würde eine stärkere Färbung des einen Markers mit einer schwächeren Färbung des anderen einhergehen. Der Zusammenhang ist mit einem Korrelationskoeffizient nahe 0 aber sehr gering.

Zusammenfassend lässt sich kein eindeutiger Zusammenhang zwischen den beiden Färbungen nachweisen.

4.3.7. Multivariate Analyse

Um den tatsächlichen Einfluss der Variablen, auch unter Adjustierung für andere Variablen, zu untersuchen, wird im Folgenden ein logistisches Regressionsmodell für die binäre Variable „Färbung positiv oder negativ“ bei beiden Markern betrachtet. In das Modell aufgenommen wurden dabei Einflussgrößen, die sich in der univariaten Analyse als statistisch relevant herausgestellt haben, allgemeine Patient:innendaten und das Ergebnis der jeweils anderen Färbung. Durch das Ausschließen von Patient:innen mit unbekannten Daten hinsichtlich dieser Variablen verringerte sich das Kollektiv auf 82 Personen. Dick markiert sind statistisch nachweisbare Korrelationen mit einem $p < \alpha$ (also $p < 0,05$), kursiv solche mit $0,05 < p < 0,2$. Ergebnisse, die einen nicht unbedingt signifikanten, aber relativ starken Einfluss auf die Zielgröße aufweisen ($OR < 0,5$ oder $OR > 2$) wurden unterstrichen.

4.3.7.1. GLO-Färbung

Tabelle 22 Logistische Regression für die Zielgröße GLO-Färbung positiv oder negativ

GLO-Färbung positiv oder negativ (n=82)	Regressionskoeffizient B	Signifikanz	Exp(B) = Odds Ratio	95% Konfidenzintervall für OR	
				Unterer Wert	Oberer Wert
Erstdiagnose-Alter	-0,026	0,405	0,975	0,918	1,035
<u>Geschlecht (Ref: weiblich)</u>	-0,923	0,172	<u>0,397</u>	0,106	1,495
Gewichtskategorie (Ref: Übergewicht)		0,386			
Untergewicht	-0,625	0,551	0,535	0,069	4,168

<u>Normalgewicht</u>	-0,937	0,168	<u>0,392</u>	0,104	1,482
Biopsie oder Großpräparat (Ref: Biopsie)	0,528	0,404	1,696	0,49	5,864
<i>Tumorphöhe (Ref: distal)</i>		0,066			
<u>proximal</u>	-2,725	0,02	<u>0,066</u>	0,007	0,653
mittig	-0,605	0,355	0,546	0,151	1,968
Zeitpunkt der Probenahme (Ref: therapienaiv)	-0,337	0,722	0,714	0,111	4,585
<u>MAGE-Färbung (Ref: negativ)</u>	0,805	0,211	<u>2,236</u>	0,634	7,882

Das einzige Ergebnis aus der univariaten Analyse, das auch in der multivariaten Analyse statistisch signifikant bleibt, ist die distale Lokalisation des Tumors im Vergleich zur proximalen: Bei einer proximalen Lokalisation beträgt die Chance, dass eine positive Färbung auftritt, nur 6,6% von der Chance bei einer distalen Lokalisation ($p=0,02$).

Eine sehr hohe oder sehr niedrige Odds Ratio und damit einen statistisch relativ hohen, aber nicht signifikanten Einfluss zeigen folgende Faktoren:

- Männer weisen eine um circa 60% niedrigere Chance für eine positive GLO-Färbung auf als Frauen ($p=0,172$).
- Bei Patient:innen mit Übergewicht sind die Tumorpräparate häufiger positiv für GLO1 gefärbt als bei solchen mit Normalgewicht ($OR=0,392$, $p=0,168$)
- In der multivariaten Analyse zeigt sich außerdem ein stärkerer Zusammenhang zur MAGE-Färbung als in der univariaten Analyse: Ein MAGE-positives Präparat weist eine 2,2-fache Chance auf, eine positive GLO-Färbung zu zeigen, verglichen mit einem MAGE-negativen Präparat ($p=0,211$).

4.3.7.2. MAGE-Färbung

Tabelle 23 Logistische Regression für die Zielgröße MAGE-Färbung positiv oder negativ

MAGE-Färbung positiv oder negativ (n=82)	Regressionskoeffizient B	Signifikanz	Exp(B) = Odds Ratio	95% - Konfidenzintervall für OR	
				Unterer Wert	Oberer Wert
<i>Erstdiagnose-Alter</i>	-0,041	0,139	0,96	0,91	1,013
Geschlecht (Ref: weiblich)	0,082	0,887	1,086	0,35	3,371
Gewichtskategorie (Ref: Übergewicht)		0,535			
<u>Untergewicht</u>	0,954	0,295	<u>2,597</u>	0,435	15,492
Normalgewicht	0,5	0,416	1,649	0,494	5,501

Biopsie oder Großpräparat (Ref: Biopsie)	0,318	0,613	1,374	0,402	4,701
Tumorhöhe (Ref: distal)		0,779			
proximal	0,096	0,896	1,101	0,26	4,67
mittig	-0,325	0,62	0,722	0,2	2,613
<u>Zeitpunkt der Probenahme (Ref: therapienaiv)</u>	3,031	0,007	<u>20,722</u>	2,267	189,42
GLO-Färbung (Ref: negativ)	0,673	0,282	1,96	0,576	6,67

Das einzige Ergebnis aus der univariaten Analyse, das auch in der multivariaten Analyse statistisch signifikant bleibt, ist der Zeitpunkt der Probenahme: Proben, die nach einer Vorbehandlung (Radio-/Chemotherapie) entnommen wurden, zeigen eine 20,7-fache Chance, eine positive Färbung aufzuweisen im Vergleich zu therapienaiven Proben ($p=0,007$).

Das Alter, welches in der univariaten Analyse einen statistisch nachweisbaren Zusammenhang zum MAGE-IRS-Score zeigte, weist in der multivariaten Analyse mit $p=0,139$ keine statistische Signifikanz auf. Das Log-Modell zeigt aber ebenfalls, dass mit einem höheren Alter, die Chance für eine positive Färbung sinkt (pro Jahr sinkt die Chance um 4%).

Eine hohe Odds Ratio und damit einen relativ starken, aber statistisch nicht signifikanten Einfluss weist das Gewicht auf: Untergewichtige zeigen eine 2,6-fach so hohe Chance für eine positive Färbung als Übergewichtige ($p=0,295$).

Auch in der multivariaten Analyse der MAGE-Färbung zeigt sich ein stärkerer Zusammenhang zur GLO-Färbung als in der univariaten Analyse. Wie bereits zuvor beschrieben weist auch umgekehrt ein GLO-positives Präparat eine circa doppelt so hohe Chance auf, auch MAGE-positiv gefärbt zu sein, als ein GLO-negatives ($p=0,282$).

4.4. Überlebenszeitanalysen

In den Tabellen und Abbildungen im Text werden nur auffällige oder statistisch signifikante Ergebnisse dargestellt. Eine Übersicht über die genauen Ergebnisse der Überlebenszeitanalyse für alle Variablen ist im Anhang zu finden. Ergebnisse mit einem $p < \alpha$ werden dick markiert, auffällige Ergebnisse mit einem $\alpha < p < 0,2$ werden kursiv hervorgehoben.

4.4.1. Überlebenszeitanalyse im Gesamtkollektiv

Tabelle 24 Überleben im Gesamtkollektiv

Überleben Gesamtkollektiv	Anzahl der Ereignisse	Zensiert		Überleben	
		Anzahl	Anteil in%	Mittelwert	Median
n=99	56	43	43,40%	40,5	21,7
Konfidenzintervall				[27,1 ; 54]	[15,8 ; 27,6]

Das mittlere Überleben im Gesamtkollektiv beträgt ca. 41 Monate, das mediane Überleben ca. 22 Monate. Bei 56 Patient:innen wurde ein Ereignis (der Tod) dokumentiert. Bei 43 Patient:innen endete der Beobachtungszeitraum ohne Eintritt des Ereignisses (i.d.R. lost to follow-up), daher zählen sie zu den zensierten Beobachtungen.

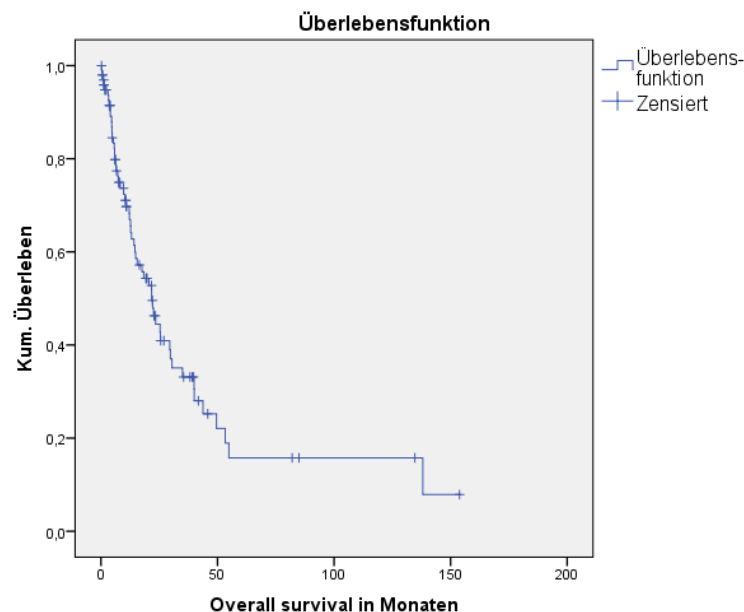


Abbildung 19 Kaplan-Meier-Kurve für das Überleben im Gesamtkollektiv

Aus der Kaplan-Meier-Kurve lässt sich eine Überlebenswahrscheinlichkeit von 69,7% nach 1 Jahr, 33,1% nach 3 Jahren und 15,8% nach 5 Jahren ablesen.

4.4.2. Überlebenszeitanalyse in den Behandlungsarmen

Tabelle 25 Überleben in den einzelnen Therapiearmen

Therapiearm	Gesamtzahl	medanes Überleben	Konfidenzintervall	log rank p=
neoadjuvant	20	17,6	[0 ; 44,1]	0,003
operativ	18	54,9	[12,3 ; 97,4]	
Definitive Systemtherapie	48	21,7	[13,5 ; 30]	
Keine Therapie	11	5,9	[1,7 ; 10,1]	

Es besteht ein deutlicher Zusammenhang zwischen der möglichen zugeführten Therapie und dem Überleben ($p=0,003$): Patient:innen, die primär operativ behandelt wurden, zeigen das beste Überleben (Median: 55 Monate), solche mit keiner Therapie (best supportive care) das schlechteste Überleben (Median: 6 Monate). Das Überleben bei einem neoadjuvanten Therapieregime und bei definitiver Systemtherapie liegt mit einem Median von 18 bzw. 22 Monaten zwischen den erstgenannten Gruppen.

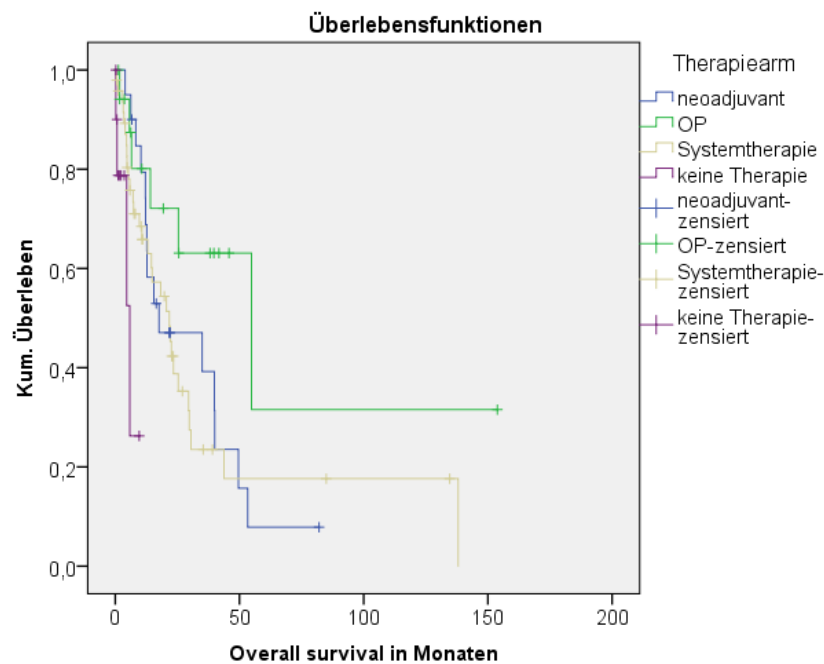


Abbildung 20 Kaplan-Meier-Kurven für die einzelnen Therapiearme

4.4.3. Überlebenszeitanalyse hinsichtlich der Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten

Tabelle 26 Überleben hinsichtlich BMI, R-, T-, N- und M-Status

Variable	Ausprägung	Anzahl	medianes Überleben	Konfidenzintervall	log rank p=
BMI Einteilung	Untergewicht	10	5,9	[5,4;6,4]	0,002
	Normalgewicht	44	21,7	[16,9;26,6]	
	Übergewicht	32	39,9	[11,8;68]	
R-Status	R0	24	40	[18,3;61,7]	0,048
	R1	4	6,3		
T-Stadium	T1/2	18	40	[28,8;51,2]	0,159
	T3/4	55	18,3	[10,2;26,4]	
N-Stadium	N0	18	53,3	[17,1;89,5]	0,063
	N+	71	18,3	[9,6;27]	
M-Stadium	M0	55	25,3	[20,6;30]	0,288
	M1	27	13,1	[2,7;23,5]	

Mit dem Log-Rank-Test kann kein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich des Überlebens zwischen den beiden Geschlechtern und hinsichtlich des Alters bei Erstdiagnose erhoben werden.

Auch das Vorhandensein der Risikofaktoren Nikotinkonsum, Alkoholabusus, synchrone/metachrone Tumoren und vorausgegangene Strahlentherapie zeigt keinen statistisch nachweisbaren Einfluss auf das Überleben.

Allerdings scheint der BMI ein bedeutsamer prognostischer Faktor zu sein: Patient:innen mit Übergewicht überleben am längsten (Median: 40 Monate), Untergewichtige signifikant am kürzesten (Median: 6 Monate) ($p=0,002$). Normalgewichtige sind mit einem Median von 22 Monaten zwischen diesen beiden Gruppen einzuordnen (siehe Abbildung 21).

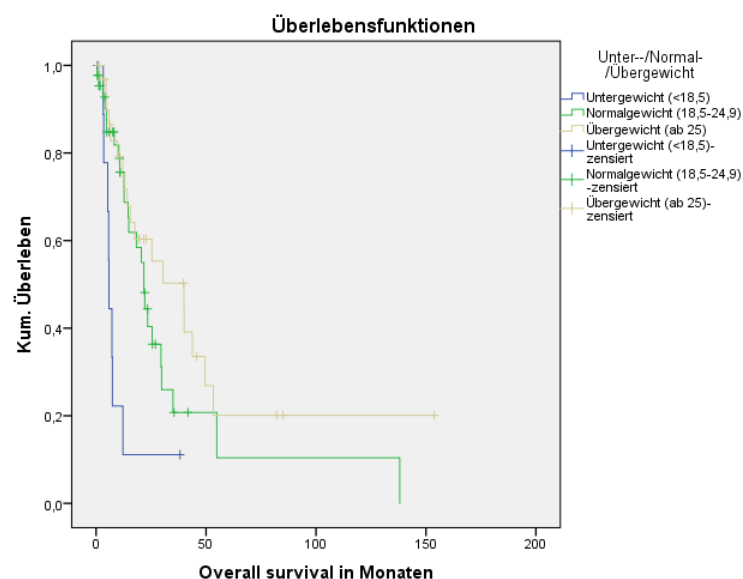


Abbildung 21 Kaplan-Meier-Kurven für unterschiedliche Gewichtsgruppen

Bei den Tumordaten ergibt sich eine statistische Signifikanz zum R-Status ($p=0,048$, siehe Abbildung 22): R0-Resezierte (Median: 40 Monate) überleben länger als R1-Resezierte (Median: 6 Monate). Allerdings muss hierbei erwähnt werden, dass der R-Status bei nur 28 Personen erhoben wurde (R0: $n=24$, R1: $n=4$). Zwar nicht statistisch signifikant, aber dennoch auffällig ist auch der Zusammenhang zwischen dem Überleben und dem TNM-Status. Haben die Patient:innen bereits Tumoren in fortgeschrittenen Stadien, versterben sie tendenziell früher. Patient:innen, bei denen zu Beginn ein T1/2/in situ Tumor vorlag, haben ein medianes Überleben von 40 Monaten, bei T3/T4 Tumoren hingegen nur von 18 Monaten ($p=0,159$). Hat der Tumor bereits in die regionären Lymphknoten gestreut, überleben die Patient:innen im Median nur 18 Monate, im Vergleich zu 53 Monaten bei N0-Status ($p=0,063$). Im metastasierten Stadium beträgt das mediane Überleben 13 Monate, im nicht-metastasierten Stadium noch 25 Monate ($p=0,288$). Hinsichtlich des Gradings, Tumormarkern und Tumorlokalisation ergeben sich im log-rank-Test keine auffälligen Zusammenhänge zum Überleben.

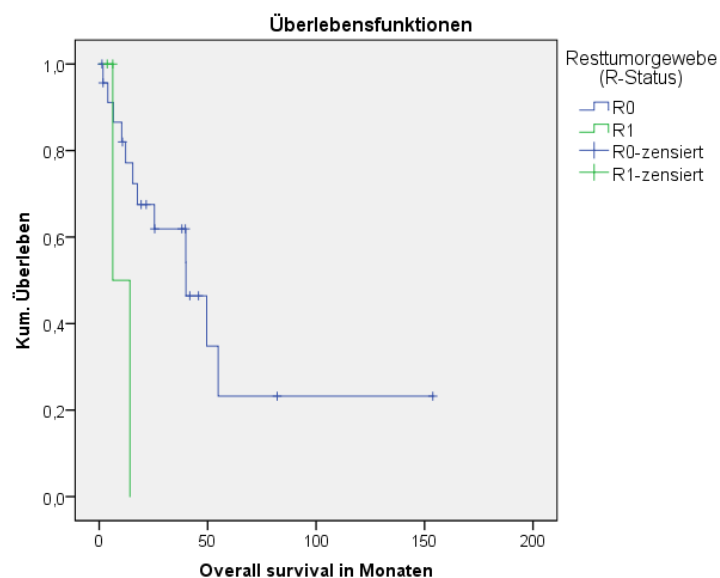


Abbildung 22 Kaplan-Meier-Kurven für einen unterschiedlichen R-Status

4.4.4. Überlebenszeitanalyse hinsichtlich der Färbungen im Gesamtkollektiv (prognostischer Wert)

Tabelle 27 Überleben hinsichtlich der GLO- und MAGE-Färbungen

Färbungen		Anzahl	medianes Überleben	Konfidenzintervall	log rank $p=$
GLO	negativ	76	22,1	[15;29,3]	0,632
	positiv	23	14,2	[0;30,2]	
MAGE	negativ	57	22,6	[19,9;34,3]	0,241
	positiv	42	21,7	[14;29,6]	
Koexpression	G0M0	46	20,6	[10,8;30,4]	0,015
	G0M1	30	25,3	[19,1;31,6]	
	G1M0	11	54,9	[22,6;87,1]	
	G1M1	12	6,3	[4,8;7,7]	

M+G+	nein	87	22,6	[18;27,1]	0,003
	ja	12	6,3	[4,8;7,7]	

Patient:innen, deren Präparate eine GLO-positive Färbung aufweisen, überleben im Median schlechter (14 Monate) als solche ohne GLO-Färbung (Median: 22 Monate). Dieser Unterschied ist statistisch jedoch nicht bedeutsam ($p=0,632$), die beiden Kurven verlaufen annähernd gleich (siehe Abbildung 23). MAGE-Positive (Median: 21,7 Monate) überleben minimal schlechter als MAGE-Negative (Median: 22,6 Monate) (siehe Abbildung 23), jedoch ohne statistische Signifikanz ($p=0,241$). Zusammenfassend besteht kein statistisch relevanter Zusammenhang zwischen dem Überleben und den Färberegebnissen der Marker allein (siehe Tabelle 27).

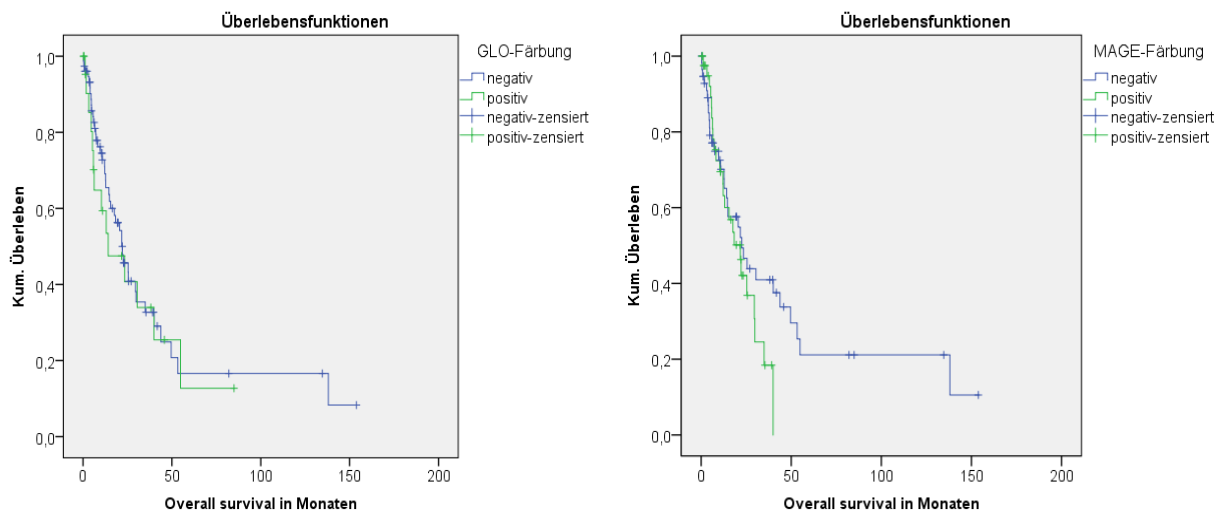


Abbildung 23 Kaplan-Meier-Kurven für unterschiedliche GLO- und MAGE-Färbungen

Betrachtet man aber die Koexpression ergibt sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang: Patient:innen, deren Tumorpräparate sowohl eine GLO- als auch eine MAGE-Färbung aufweisen, versterben mit einem medianen Überleben von nur 6,3 Monaten früher als bei allen anderen Färbungskombinationen (Median: 22,6 Monate, siehe Abbildung 24) ($p=0,003$).

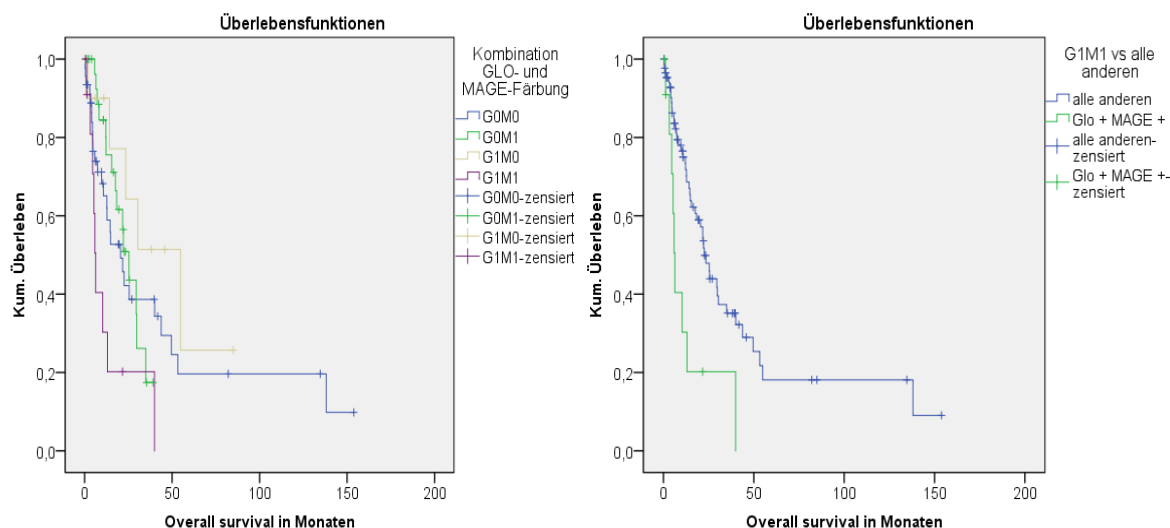


Abbildung 24 Kaplan-Meier-Kurven für unterschiedliche Färbungskombinationen

4.4.5. Überlebenszeitanalysen hinsichtlich der Färbungen in den Behandlungsarmen (prädiktiver Wert)

Im Folgenden werden die Färbungen nur einzeln untersucht, obwohl hier kein statistisch signifikanter Zusammenhang festgestellt werden konnte. Ein Vergleich der doppelt Positiven gegen den Rest in Abhängigkeit von den Therapiearmen konnte aber nicht durchgeführt werden, da die Gruppen zu klein wurden. In eckigen Klammern werden die 95%-Konfidenzintervalle der jeweiligen Werte angegeben.

4.4.5.1. MAGE-Färbung (prädiktiver Wert)

Um einen prädiktiven Wert abzuschätzen, muss zunächst unterschieden werden, ob das Präparat von Patient:innen entnommen wurde, die bereits eine Chemotherapie oder Radiatio (neoadjuvant oder definitiv) erhalten haben oder nicht. Dazu wird die Gruppe mit therapienaiven und die Gruppe mit vortherapierten Präparaten getrennt voneinander betrachtet.

Tabelle 28 Überleben in der therapienaiven und vorbehandelten Gruppe hinsichtlich der MAGE-Färbung

Subgruppe		MAGE negativ		MAGE positiv		log rank
		Anzahl	medianes Überleben [95%-KI]	Anzahl	medianes Überleben [95%-KI]	
Zeitpunkt Probenahme	therapienaiv	54	23,5 [6,8;40,1]	30	18,3 [5,9;30,7]	0,135
	vorbehandelt	3	21,7	12	35 [9,4;60,5]	0,217

Zu berücksichtigen ist hierbei, dass in der Gruppe mit vorbehandelten Präparaten, wie in Abschnitt 4.3.4 bereits beschrieben, nachweislich häufiger eine MAGE-Färbung auftritt (Fisher-Test: $p=0,003$).

Im Median überleben alle Patient:innen des Kollektivs 22 Monate. In den therapienaiven Präparaten zeigt sich die Tendenz, dass MAGE-Negative mit einem Median von 23,5 Monaten länger überleben als MAGE-Positive mit einem Median von 18,3 Monaten (siehe Tabelle 28), grundlegend aber ähnlich dem Gesamtkollektiv.

In der Gruppe mit vorbehandelten Präparaten hingegen weisen die MAGE-Positiven mit einem Median von 35 Monaten ein besseres Überleben auf als die MAGE-Negativen mit einem Median von 21,7 Monaten, wenn auch statistisch nicht signifikant ($p=0,217$). Es zeigt sich also der Trend, dass eine MAGE-Induktion nach Vorbehandlung durch eine Systemtherapie (neoadjuvant oder definitiv) einen Überlebensvorteil bietet.

Um die prädiktive Aussagekraft der MAGE-Färbung zu prüfen, werden im Folgenden nur die therapienaiven Präparate betrachtet (siehe Tabelle 29) da nur hier überhaupt noch eine Therapieentscheidung aussteht. Es erfolgt ein Vergleich des Überlebens zwischen Patient:innen mit MAGE-negativ und MAGE-positiv gefärbten Präparaten innerhalb der einzelnen Therapiearme.

Tabelle 29 Überleben (Überl.) hinsichtlich der MAGE-Färbung in den einzelnen Therapiearmen (therapienaive Präparate) (1-Vergleich innerhalb der Therapiearme, 2-Vergleich innerhalb der Färbungsgruppe)

Therapie-arm	Gesamt		MAGE negativ			MAGE positiv			¹ Log rank p=
	Medianes Überl.	Mittleres Überl.	n=	medianes Überl.	mittleres Überl.	n=	medianes Überl.	mittleres Überl.	
Neo-adjuvant	12,7	33,8 [16,5;51,2]	6	40	41,7 [22,4;61,1]	2	8,2	10,2 [6,4;14]	0,004
OP	54,9	70,2 [20,6;119,8]	12	54,9	77,4 [23;131,8]	6	6,5	15,9 [6,3;25,4]	0,29
System-therapie	20,6	36,8 [19,1;54,5]	29	14,9	39,2 [16,2;62,1]	16	22,1	20,7 [13,9;27,6]	0,981
keine Therapie	5,9	5,4 [2,9;7,9]	7	.	6,6 [3,1;10,1]	4	4,6	5,2 [4;6,5]	0,952
²Log rank p=				0,048			0,088		

Da die Subgruppen dadurch immer kleiner wurden, war teilweise die Berechnung des Medians nicht mehr möglich, weshalb hier zusätzlich noch der Mittelwert des Überlebens mit Konfidenzintervall angegeben ist. Die Verwendung der statistischen Tests ist dementsprechend vorsichtig zu bewerten. Grundlegend sieht man in allen Therapiearmen eine ähnliche MAGE-Expressionsverteilung von 2 (ungefärbt) zu 1 (gefärbt).

In der Gruppe der neoadjuvant therapierten Patient:innen zeigt sich ein statistisch nachweisbarer Unterschied im Überleben abhängig von der MAGE-Färbung. Hier deutet ein MAGE-negativ gefärbtes Präparat mit einem Median von 40 Monaten im Vergleich zu 8,2 Monaten in der MAGE-positiven Gruppe auf ein besseres Überleben hin ($p=0,004$). Bei den Patient:innen, die direkt operiert wurden zeigt sich der gleiche Trend, jedoch nicht statistisch

signifikant: Eine MAGE-positive Färbung geht hier tendenziell mit einem schlechteren Überleben einher ($p=0,29$). In der Gruppe der Systemtherapierten verlaufen die Überlebenskurve für eine MAGE-positive und MAGE-negative Färbung annähernd parallel und zeigen keinen statistisch signifikanten Unterschied ($p=0,952$).

In der gesamten Gruppe der MAGE-positiven Präparate hingegen zeigt die Systemtherapie das beste Überleben ($p=0,088$), sogar verglichen mit der operativen Therapie, die sowohl im gesamten Kollektiv ($p=0,003$) als auch in der MAGE-negativen Gruppe ($p=0,048$) den größten Überlebensvorteil bietet. Zusammenfassend könnte daraus die Hypothese abgeleitet werden, dass eine MAGE-positive Färbung zu Therapiebeginn prädiktiv für das Anwenden einer Systemtherapie sein könnte. Dies müsste allerdings an einem größeren Kollektiv bestätigt werden.

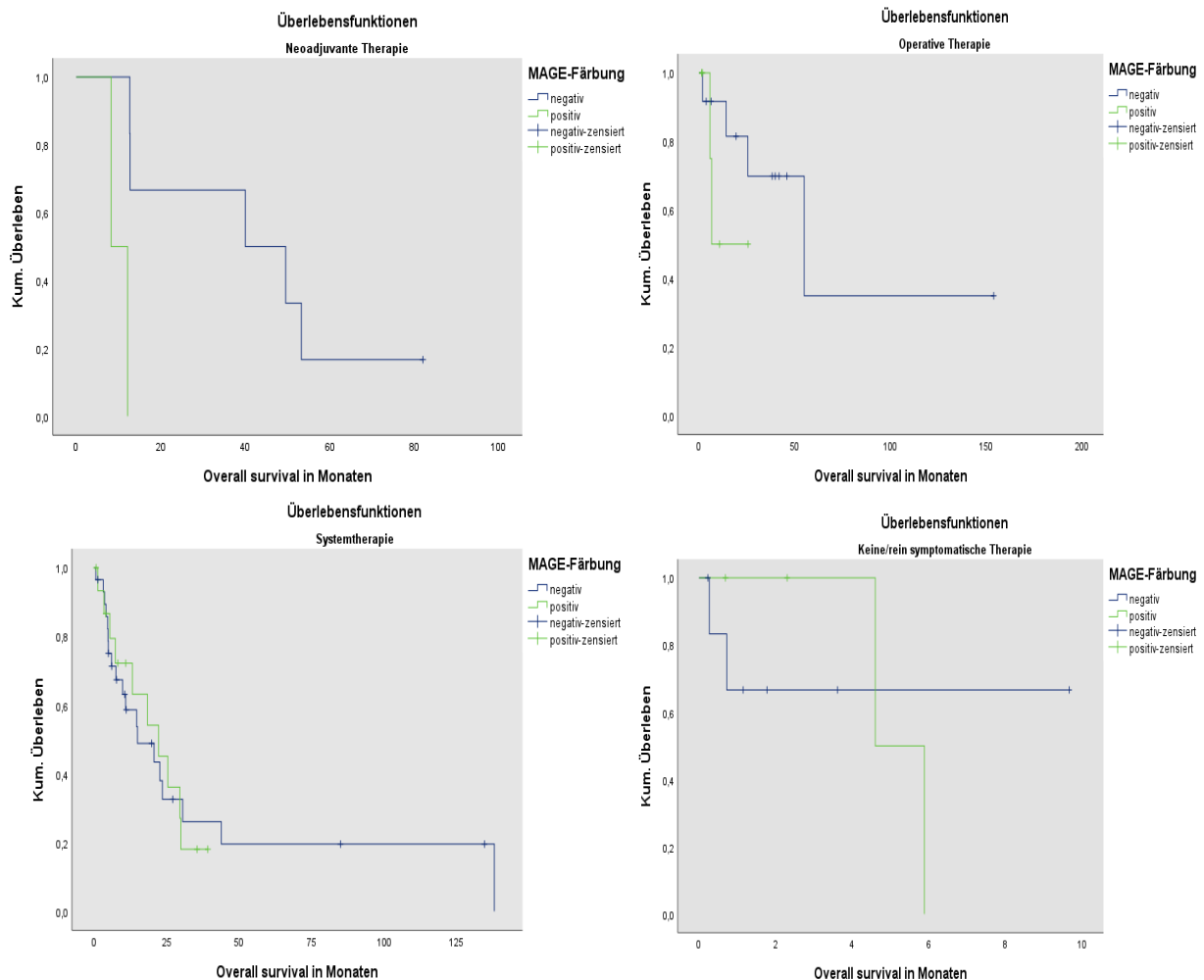


Abbildung 25 Kaplan-Meier-Kurven für die verschiedenen MAGE-Färbungen in den einzelnen Therapiearmen (therapienaive Präparate)

4.4.5.2. GLO-Färbung (prädiktiver Wert)

Eine ähnliche Analyse wurde mit der GLO-Färbung durchgeführt.

Tabelle 30 Überleben in der therapienaiven und vorbehandelten Gruppe hinsichtlich der GLO-Färbung

Subgruppe		GLO negativ		GLO positiv		log rank p=
		Anzahl	medanes Überleben	Anzahl	medanes Überleben	
Zeitpunkt der Probenahme	therapienaiv	65	22,1 [14,2;30,1]	19	14,2 [0;33,5]	0,739
	vorbehandelt	11	21,7 [12,2;31,3]	4	10,3 [0;32,3]	0,934

Hier zeigt die GLO-Färbung den gleichen Einfluss auf das Überleben, unabhängig davon, ob das Material nach einer Chemotherapie oder Radiatio entnommen wurde oder therapienaiv ist. Patient:innen, deren Präparate kein GLO aufweisen, haben in beiden Gruppen ein besseres medianes Überleben von 22,1 bzw. 21,7 Monaten als in der GLO-gefärbten Gruppe (14,2 bzw. 10,3 Monate). Allerdings ist dieser Unterschied statistisch nicht signifikant ($p=0,739$ bzw. $0,934$).

Um einen möglichen Einfluss der GLO-Färbung auf die Therapieentscheidung zu beurteilen, wird im Folgenden das Überleben bei unterschiedlichen GLO-Färbungen in den einzelnen Therapiearmen verglichen. Wie zuvor werden auch hier nur die therapienaiven Präparate betrachtet

Tabelle 31 Überleben (Überl.) hinsichtlich der GLO-Färbung in den einzelnen Therapiearmen (therapienaive Präparate) (1-Vergleich innerhalb der Therapiearme, 2-Vergleich innerhalb der Färbungsgruppe)

Therapie-arm	Gesamt		GLO negativ			GLO positiv			¹ Log rank p=
	Medianes Überl.	Mittleres Überl.	n=	medanes Überl.	mittleres Überl.	n=	medanes Überl.	mittleres Überl.	
Neo-adjuvant	12,7	33,8 [16,5;51,2]	8	12,7	33,8 [16,5;51,2]	0			
OP	54,9	70,2 [20,6;119,8]	12	.	102,2 [54,5;150]	6	54,9	36,1 [11,1;61,1]	0,486
System-therapie	20,6	36,8 [19,1;54,5]	35	20,6	36,5 [16,1;56,8]	10	13,1	26,4 [5,3;47,5]	0,911
keine Therapie	5,9	5,4 [2,9;7,9]	8	.	7,2 [4,2;10,1]	3	4,6	5,2 [4,0;6,5]	0,672
² Log rank p=				0,075			0,208		

Sowohl für die GLO-negative ($p=0,075$) als auch die GLO-positive ($p=0,208$) Färbung weist die operative Therapie wie auch im Gesamtkollektiv das beste Überleben auf mit einem Mittelwert von 102,2 bzw. 36,1 Monaten. Über alle Therapiearme hinweg geht eine positive

GLO-Färbung mit einem schlechteren Überleben einher, wenn auch nicht statistisch signifikant. Die neoadjuvante Therapie muss aus diesen Vergleichen ausgeschlossen werden, da kein Präparat in dieser Gruppe eine GLO-Färbung aufwies.

Zusammenfassend scheint die GLO-Färbung also keinen prädiktiven, aber eventuell einen prognostischen Wert zu haben. Da hier aber teilweise nur sehr wenige Patient:innen in den Subgruppen eingeschlossen sind, sollten die Ergebnisse nochmals an einem größeren Kollektiv untersucht werden.

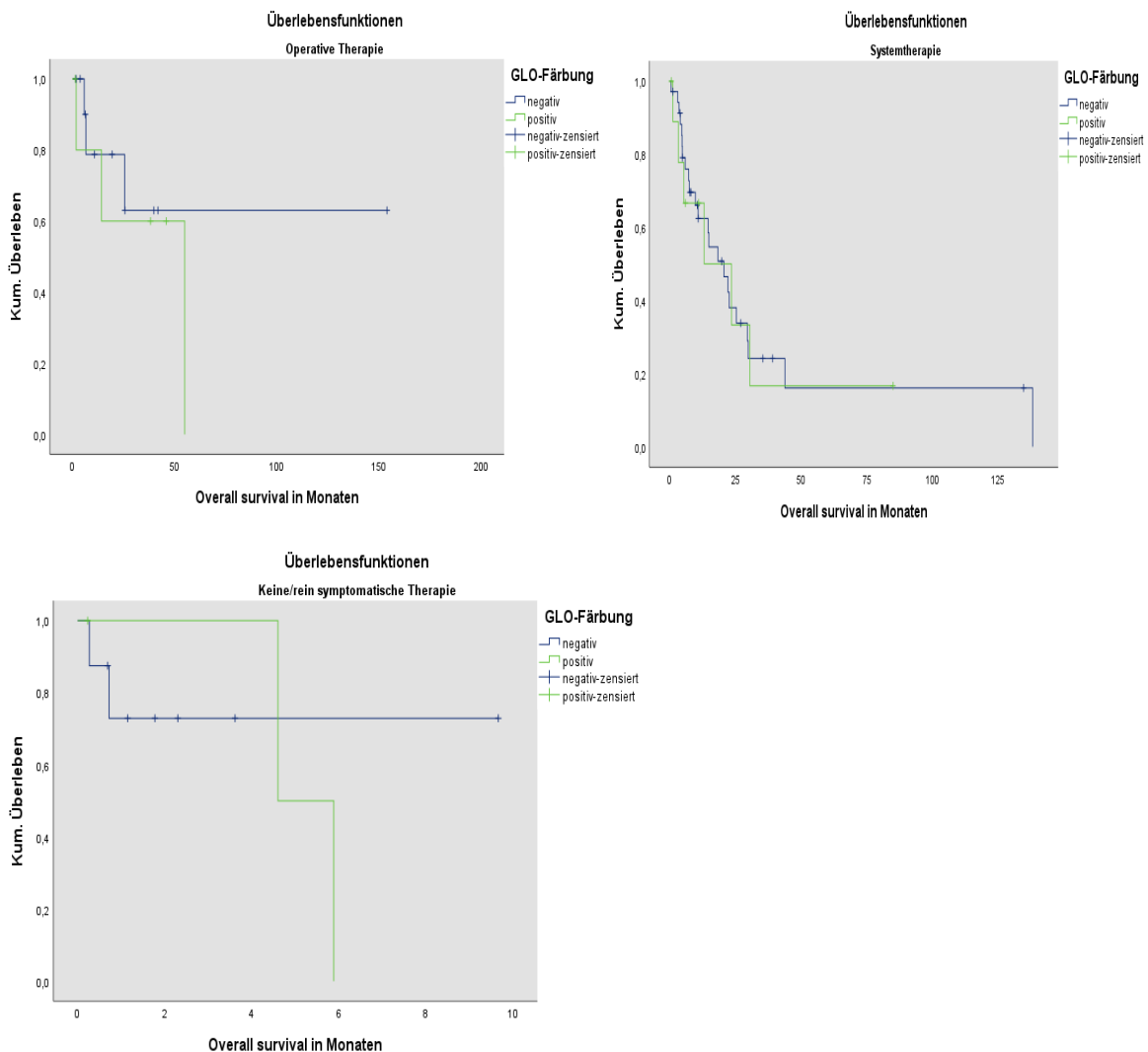


Abbildung 26 Kaplan-Meier-Kurven für die verschiedenen GLO-Färbungen in den einzelnen Therapiearmen (therapienaive Präparate)

4.4.6. Multivariate Überlebenszeitanalyse

Um den Einfluss der Variablen auf das Überleben, auch unter Adjustierung für andere Variablen, zu überprüfen, wurde eine multivariate Überlebensanalyse mittels Cox-Regression durchgeführt. Es wurde sowohl ein Modell für die Färbungen allein als auch eines für die Koexpression untersucht. Aufgenommen wurden allgemeine Patient:innendaten und

Einflussgrößen, die bereits in der univariaten Analyse einen statistisch signifikanten Zusammenhang zum Überleben zeigten. Durch das Ausschließen von Patient:innen mit unbekannten Daten hinsichtlich dieser Variablen verringerte sich das Kollektiv auf 85 Personen.

4.4.6.1. Cox-Regression mit der GLO- und MAGE-Färbung

Tabelle 32 Cox-Regression mit der GLO- und MAGE-Färbung als getrennte Variablen

Cox-Regression für GLO- und MAGE-Färbung (n=85)	HR	95% Konfidenzintervall für HR		Signifikanz
		Untere Grenze	Obere Grenze	
Erstdiagnose-Alter	1,016	0,985	1,047	0,314
Geschlecht (Ref: weiblich)	0,873	0,408	1,867	0,727
Gewichtskategorie (Ref: Übergewicht)				0,002
<u>Untergewicht</u>	<u>6,512</u>	2,306	18,391	<0,001
Normalgewicht	1,603	0,776	3,311	0,203
Therapiearm (Ref: keine Therapie)				0,014
<u>neoadjuvant</u>	<u>0,204</u>	0,033	1,248	0,085
<u>OP</u>	<u>0,061</u>	0,009	0,412	0,004
<u>Systemtherapie</u>	<u>0,243</u>	0,041	1,43	0,118
GLO-Färbung (Ref: negativ)	1,212	0,589	2,495	0,602
MAGE-Färbung (Ref: negativ)	1,397	0,712	2,741	0,332

Die Hazard-Ratio (HR) beschreibt das Verhältnis zwischen der Hazard-Rate der jeweiligen Variablenausprägung und der Hazard-Rate der Referenzausprägung. Die Hazard-Rate wiederum beschreibt die Wahrscheinlichkeit, dass ein bestimmtes Ereignis (in diesem Fall der Tod) zu einem festen Zeitpunkt auftritt. Eine Hazard-Ratio über 1 bedeutet also, dass die Wahrscheinlichkeit, dass der Tod eintritt, bei der untersuchten Variablenausprägung größer ist als bei der Referenzausprägung. Das Überleben ist bei einer $HR > 1$ also schlechter als in der Referenzkategorie. Bei einer $HR < 1$ hingegen ist das Überleben in der untersuchten Gruppe besser als in der Referenzkategorie.

Wie auch in der univariaten Analyse ergeben sich mittels Cox-Regression signifikante Zusammenhänge zwischen dem Überleben und dem Gewicht und Therapiearm:

- Untergewichtige weisen eine 6,5-fach erhöhte Hazard-Rate auf als Übergewichtige ($p < 0,001$)
- Alle Therapiearme zeigen eine niedrigere Hazard-Rate als die Patient:innen ohne Therapie. Im Vergleich zu dieser Gruppe ist die Hazard-Rate bei einer neoadjuvanten Therapie um circa 80% ($p = 0,085$), bei einer Systemtherapie um 76% ($p = 0,118$) und bei einer operativen Therapie um 94% ($p = 0,004$) geringer. Bei der operativen Therapie ist dieser Unterschied statistisch signifikant.

Außerdem steigt die Hazard-Rate mit jedem Jahr, um das die Erstdiagnose später gestellt wird, um 1,6% (nicht signifikant, $p = 0,314$). Männer weisen zudem ein etwas besseres Überleben als Frauen auf (nicht signifikant, $p = 0,727$). Bei beiden Färbungen scheint ein positives Ergebnis mit einem schlechteren Überleben einherzugehen, jedoch statistisch nicht belegbar (MAGE: $p = 0,332$, GLO: $p = 0,602$).

4.4.6.2. Cox-Regression mit der Koexpression

Tabelle 33 Cox-Regression mit der Koexpression als Variable

Cox-Regression Koexpression (n=85)	für HR	95,0% HR	Konfidenzintervall für	Signifikanz
		Untere Grenze	Obere Grenze	
Erstdiagnose-Alter	1,008	0,976	1,042	0,626
Geschlecht (Ref: weiblich)	0,848	0,398	1,808	0,67
Therapiearm (Ref: keine Therapie)				0,061
<u>neoadjuvant</u>	<u>0,229</u>	0,039	1,356	0,104
OP	<u>0,102</u>	0,014	0,716	0,022
<u>Systemtherapie</u>	<u>0,309</u>	0,053	1,806	0,192
Gewichtskategorie (Ref: Übergewicht)				0,002
<u>Untergewicht</u>	<u>6,894</u>	2,365	20,098	<0,001
Normalgewicht	1,734	0,826	3,644	0,146
Koexpression (Ref: G+M+)				0,126
<u>G-M-</u>	<u>0,394</u>	0,151	1,027	0,057
<u>G-M+</u>	<u>0,374</u>	0,136	1,029	0,057
<u>G+M-</u>	<u>0,222</u>	0,058	0,852	0,028

Es zeigen sich ähnliche signifikante Zusammenhänge zum Gewicht und Therapiearm wie beim oberen Modell. Auch hier gehen ein höheres Alter und das weibliche Geschlecht mit höheren

Hazard-Raten, also einem schlechteren Überleben einher, allerdings nicht statistisch signifikant.

Die Koexpression scheint einen größeren Einfluss auf das Überleben zu haben als die Färbungen allein: Die Färbungskombination G+M- zeigt eine um 78% ($p=0,028$) verringerte Hazard-Rate gegenüber einer doppelt positiven Färbung und damit ein statistisch signifikant besseres Überleben. Auch die Hazard-Rate der doppelt negativen Präparate ist um 61% ($p=0,057$) und die der Kombination G-M+ um 63% ($p=0,057$) verringert, allerdings nicht statistisch signifikant. Die doppelt positiven Präparate weisen also auch nach Adjustierung für anderen Variablen das schlechteste Überleben auf.

5. Diskussion

Nachdem sowohl der aktuelle Stand der Literatur als auch die Resultate dieser Arbeit vorgestellt wurden, soll im Folgenden eine Einordnung der Ergebnisse in die aktuelle Studienlage erfolgen.

5.1. Vergleich der Zusammensetzung des Gesamtkollektivs mit der aktuellen Datenlage

5.1.1. Limitationen der Datenerfassung

Zunächst sind einige Punkte im Rahmen der Datenerfassung zu nennen, die bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen sind. Zum einen wurde das Patient:innenkollektiv nur an einer Klinik (Universitätsmedizin Mainz) erfasst. Da wie bereits in der Literaturdiskussion beschrieben beim Ösophaguskarzinom auch ethnische Faktoren eine Rolle spielen, können die Ergebnisse nur bedingt mit Studien aus anderen Ländern verglichen werden.

Die Erhebung der Daten ist teilweise lückenhaft, da ältere Dokumente nur mangelhaft digitalisiert wurden. Außerdem erfolgte die weitere Behandlung zum Teil ambulant, sodass Daten zur weiteren Therapie oder zum Überleben fehlen bzw. zensiert werden mussten.

Um ein höheres Evidenzlevel zu erreichen, wäre es außerdem sinnvoll gewesen, die Ergebnisse mit einer gesunden Kontrollgruppe zu vergleichen.

5.1.2. Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten

Vergleicht man die Zusammensetzung des Gesamtkollektivs in dieser Studie mit den neusten Daten aus dem deutschen Krebsregister von 2020 (1) ergeben sich folgende Unterschiede:

Der Anteil weiblicher Patientinnen ist mit 32,3% im Gesamtkollektiv dieser Dissertation höher als im deutschlandweiten Vergleich. Hier waren 2020 nur 23% der Neuerkrankten weiblich (1).

Das Durchschnittsalter bei Erstdiagnose liegt mit 66,7 Jahren bei Männern und 67,6 Jahren bei Frauen unterhalb des deutschlandweiten Durchschnitts 2020 (Männer: 68 Jahre, Frauen: 72 Jahre). Aufgrund des demographischen Wandels und den sich stetig weiterentwickelnden medizinischen Möglichkeiten zeigt sich in den letzten Jahren, dass die Erkrankungsrate für die Altersgruppe unter 60 Jahren eher rückläufig ist, während sie für die Altersgruppe über 60 Jahre ansteigt. Dies würde dazu passen, dass in dem hier beschriebenen Kollektiv aus den Jahren 2008-2017 die Patient:innen tendenziell früher erkranken als nach den neusten Daten aus dem Jahr 2020. (1)

Bei 40,6% der Frauen und bei 37,3% der Männer im hier untersuchten Kollektiv lag bei der Erstdiagnose bereits ein UICC-Stadium IV vor. Dies ist vergleichbar mit den

deutschlandweiten Daten (Frauen 35%, Männer 39%) (1) und zeigt, wie bereits in der Literaturrecherche unter 2.1.2 beschrieben, dass das Ösophaguskarzinom durch die spät einsetzenden Symptome meist erst in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert wird.

In weltweiten Daten zum ösophagealen Plattenepithelkarzinom sind 11% der Tumoren proximal, 49% im mittleren Drittel und 40% distal lokalisiert (168). Im Vergleich hierzu zeigen sich relativ viele Tumoren im hier untersuchten Kollektiv proximal (unter Ausschluss der Unbekannten/mehrstufigen Tumoren: proximal 29%, mittig 40,9%, distal 30,1%). Dies könnte dadurch erklärt werden, dass zervikale Tumoren eine besondere therapeutische Herausforderung darstellen und daher häufiger an Universitätskliniken therapiert werden.

Wie bereits in der Literaturdiskussion unter 2.1.3 erwähnt, stellen Nikotin- und Alkoholkonsum wichtige Risikofaktoren in der Ätiologie des Ösophaguskarzinoms dar. Auch im hier untersuchten Kollektiv lag bei einer Mehrheit der Patient:innen ein solcher Abusus vor (Nikotinkonsum: 67,7%, Alkoholkonsum: 56,6%).

5.1.3. Therapiealgorithmus

Die Datenbank dieser Arbeit wurde über Patient:innen erstellt, die im Zeitraum von 2008 bis 2017 die Erstdiagnose eines ösophagealen Plattenepithelkarzinoms an der Universitätsmedizin Mainz erhalten hatten. Zu dieser Zeit galten noch andere Behandlungsempfehlungen für das Ösophaguskarzinom. In der Literaturdiskussion wurden bereits unter 2.1.6 und 2.1.7 die aktuell empfohlenen Therapieregime aus der neusten S3-Leitlinie aus dem Jahr 2023 (2) vorgestellt. Im Folgenden werden diese mit den empfohlenen Behandlungen in der damals geltenden Leitlinie von 2015 (169) und mit den angewandten Behandlungen im Patient:innenkollektiv verglichen.

Für Tumore in frühen Stadien ohne Lymphknoten- und Fernmetastasierung war damals wie heute die endoskopische (bis T1m2) und die rein operative (bis T2) Resektion die Therapie der Wahl. Während allerdings in der Leitlinie von 2015 der Stellenwert minimal invasiver Verfahren „noch nicht abschließend bewertet“ (169) werden konnte, sind sie heute ein fester Bestandteil der Therapie. Für weiter fortgeschrittene Tumoren ab dem T3-Stadium und/oder einer Lymphknotenbeteiligung empfehlen beide Leitlinien entweder eine neoadjuvante Radiochemotherapie mit anschließender Operation oder bei fehlender Operabilität oder zervikaler Lage eine definitive Radiochemotherapie. Die dabei empfohlenen Chemotherapieprotokolle haben sich über die Jahre nicht verändert.

Neu ist vor allem der Stellenwert der Immuntherapie, da die angewandten Medikamente erst nach Beendigung der Datensammlung für diese Arbeit für das Ösophaguskarzinom zugelassen wurden. Im kurativen Setting kann Nivolumab, ein PD1-Rezeptor-Antagonist, adjuvant bei einem Resttumor im Resektat nach neoadjuvanter Therapie und anschließender

Operation eingesetzt werden. Im palliativen Setting kam in der alten Leitlinie für das ösophageale Plattenepithelkarzinom nur eine Chemotherapie aus Cisplatin und einem Fluoropyrimidin in Betracht. Nach den neuen Empfehlungen kann die Chemotherapie abhängig vom PD-L1-Status um Pembrolizumab oder Nivolumab ergänzt werden oder sogar eine alleinige Immuntherapie erfolgen.

Auffällig im hier untersuchten Patient:innenkollektiv ist, dass knapp die Hälfte aller Patient:innen (48,5%) eine definitive Systemtherapie erhalten hat. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass in der Auswertung nicht zwischen palliativem und kurativem Setting unterschieden wurde. Zu der hohen Zahl trägt also zum einen bei, dass ein Großteil der Patient:innen (Frauen: 40,6%, Männer: 37,3%) bereits im UICC-Stadium IV war und damit palliativ behandelt wurde. Zum anderen galten damals noch mehr Patient:innen als „nicht operabel“, da minimal-invasive Techniken noch nicht ausreichend etabliert waren. Auch diese Patient:innen erhielten daher eine definitive Systemtherapie, allerdings in kurativer Absicht.

Für die zielgerichteten Therapien wurden in diesem Patient:innenkollektiv innerhalb von Studien die Antikörper Cetuximab und Panitumumab verwendet. Für beide Medikamente konnte dabei keine Wirksamkeit beim Ösophaguskarzinom nachgewiesen werden, sodass sie heutzutage keine Rolle mehr in der Therapie spielen (170, 171).

5.2. Diskussion der Färbemethode und Färbeergebnisse

5.2.1. Limitationen der immunhistochemischen Färbung

Bei der Beurteilung der Ergebnisse dieser Arbeit müssen einige Punkte hinsichtlich der Vorgehensweise bei Färbung und Auswertung der Präparate berücksichtigt werden.

Zum einen handelt es sich bei einem Großteil der Präparate (71,7%) um Biopsien meist aus der Diagnosestellung. Diese sind aufgrund der geringen Materialmenge nicht immer repräsentativ für den gesamten Tumor. Außerdem wäre zur Beurteilung, inwiefern sich auch Bestandteile des Normalgewebes mit den Markern anfärben lassen, ein Vergleich mit dem Gewebe einer gesunden Kontrollgruppe bzw. bei größeren Gewebsschnitten eine gesunde interne Kontrolle erstrebenswert gewesen.

Die GLO-Färbung ist insgesamt eher schwach ausgefallen, was auf eine grundlegend geringe Expression im Plattenepithel des Ösophagus hinweist bzw. auf einen möglichen Schwachpunkt in der Färbemethode hindeutet. Eventuell ist dies auf den fehlenden Linker bei der GLO-Färbung im Vergleich zur MAGE-Färbung zurückzuführen. Die Etablierung der Färbung erfolgte auf Kolon- und Lebergewebe und stellte sich hier als adäquat heraus. Zudem kann durch die Immunhistochemie nur eine Aussage über die Quantität der Marker getroffen werden, jedoch nicht über die Aktivität der Glyoxalase 1.

Bei der Auswertung wurde versucht, mithilfe des IRS-Scores einen Standard zur Quantifizierung der Färbung einzuführen. Die Cut-off-Werte zur Einteilung in die verschiedenen Gruppen (negativ, schwach, moderat, positiv) wurden dabei frei gewählt. Um dadurch keine statistischen Auffälligkeiten zu verpassen, erfolgte die statistische Analyse sowohl anhand des IRS-Scores als auch anhand der Gruppen. In den Überlebensanalysen wurde allerdings zur besseren Übersichtlichkeit nur ein Vergleich zwischen den Färbungsgruppen positiv und negativ durchgeführt.

5.2.2. Vergleich der Färbungsergebnisse mit ähnlichen Studien

In dieser Arbeit wiesen die ESCC-Präparate eine eher schwache GLO-Färbung auf (76,8% negativ, 23,2% positiv). Die Argpyrimidin-Färbung war etwa zur Hälfte positiv oder negativ (57,6% negativ, 42,4% positiv). Um diese Ergebnisse mit anderen Studien zu vergleichen, werden im Folgenden Arbeiten vorgestellt, die ebenfalls Tumorpräparate immunhistochemisch nach einem oder beiden der Marker angefärbt und ausgewertet haben.

Zunächst sind hier die Studien von Guo et al. (2018) (165) und Cheng et al. (2012) (146) zu nennen, die zwar nur eine immunhistochemische Färbung nach der Glyoxalase 1 und nicht nach Argpyrimidin vorgenommen haben, aber aufgrund ihrer untersuchten Tumorentitäten besonders interessant sind:

Die Studie von Guo et al. ist die einzige Arbeit, die sich ebenfalls mit der Expression der Glyoxalase 1 im ösophagealen Plattenepithelkarzinom beschäftigt hat. Hier wurde ein kleineres Kollektiv bestehend aus 40 ESCC-Proben untersucht. Im Gegensatz zu dieser Arbeit wurden die ESCC-Proben auch mit normalen Proben gepaart und verglichen. Das Kollektiv umfasste dabei Patient:innen aus einer Klinik in China und beinhaltete nur therapienaive Präparate. Zur Anfärbung wurde ein anderer Antikörper verwendet (goat anti-GLO1, RD/USA). Desweiteren wurde die Immunhistochemie hier nur zur Veranschaulichung der Expression der Glyoxalase 1 genutzt, jedoch nicht mithilfe eines Scores wie in dieser Arbeit ausgewertet. Die quantitative Auswertung erfolgte über die Extraktion von GLO1-mRNA aus den Proben und anschließender qRT-PCR (real-time quantitative PCR). Dies stellt im Vergleich zur subjektiven Vergabe eines IRS-Scores (Proteingehalt) wie in dieser Arbeit eine objektive Methode zur Auswertung der Expression der Glyoxalase 1-RNA dar. Die GLO1-mRNA war in den ESCC-Proben etwa doppelt so hoch nachzuweisen wie in den normalen Proben. In 72,5% der ESCC-Proben zeigte sich die Glyoxalase 1-RNA überexprimiert, was deutlich höher ist als das Ergebnis in dieser Arbeit. Diese Abweichung könnte durch die unterschiedlichen Methoden (RNA- vs. Protein-Detektion), aber auch durch die verschiedene Zusammensetzung des Patient:innenkollektivs erklärt werden (Ethnie, Einschluss von vortheraipierten Präparaten in dieser Arbeit).(165)

Cheng et al. untersuchten die Expression der Glyoxalase 1 im Magenkarzinom. Hierzu wurden Gastrektomie-Präparate von 114 Patient:innen aus einer Klinik in Taiwan, die keine Chemo- oder Radiotherapie zuvor erfahren hatten, immunhistochemisch angefärbt. Dabei wurden durch Immunisierung von Kaninchen gegen das Glyoxalase-1-Potein eigens hergestellte polyklonale GLO-1-Antikörper verwendet. Die Präparate wurden jeweils gematcht mit nichttumorösem Gewebe, das ebenfalls angefärbt wurde. Zur Auswertung wurde ein Histoscore-System (H-Score) angewendet, bei dem Intensität (1-3) und Prozentsatz der positiven Zellen miteinander multipliziert wurden. Für die Tumormaterialien ergab sich ein mittlerer H-Score von 139,8, welcher signifikant über dem des Normalgewebes von 36,7 lag. In 88,5% der Proben zeigte sich beim Tumormaterial ein höherer Wert als im gepaarten Normalgewebe. Zur Bestätigung wurde bei 89 Präparaten eine qRT-PCR mit der mRNA aus den Proben durchgeführt. Hier zeigte sich eine 2,9-fach so hohe Expression der GLO1-mRNA als im Normalgewebe. Die stärkere GLO1-Färbung im Vergleich zu dieser Arbeit könnte bei dieser Studie sowohl auf die unterschiedliche Ethnie als auch auf die verschiedene Tumorentität (Ösophagus/Magen, Plattenepithelkarzinom/Adenokarzinom) zurückgeführt werden. (146)

Im Folgenden werden Studien betrachtet, die sowohl die Glyoxalase- als auch die AGE-Expression untersucht haben.

In einer Studie von Kreytzy et al. (2017) wurde sowohl die Glyoxalase 1 als auch Argpyrimidin mithilfe von Primärantikörpern aus der Maus in Präparaten von 134 Patient:innen mit oropharyngealem Plattenepithelkarzinom immunhistochemisch angefärbt. Hierbei wurde der gleiche monoklonale Anti-Argpyrimidin-Antikörper-Klon AGE06B wie in dieser Arbeit verwendet, jedoch in einer niedrigeren Verdünnung (1:100). Für die GLO1-Färbung wurde ein anderer polyklonaler Antikörper benutzt (ab52835, Abcam). Das Kollektiv wurde im Universitätsklinikum Heidelberg behandelt und umfasste nur Patient:innen, die zuvor keine Chemo- oder Radiotherapie erhalten hatten, d.h. erneut nur therapienaive Patient:innen. Für Argpyrimidin wurde nur die Intensität mit einer Zahl von 1 (negativ) bis 4 (stark) angegeben. Bei einem Großteil der Präparate ergab sich eine moderate (31,4%) oder starke (44%) Färbung. Damit ist Argpyrimidin beim oropharyngealen Plattenepithelkarzinom noch stärker exprimiert als bei den ESCC-Präparaten in dieser Arbeit. Für die GLO1-Färbung wurde ebenfalls ein IRS-Score eingeführt, der auf ähnliche Weise wie in dieser Arbeit berechnet wurde. Die Präparate wurden dann sowohl anhand eines frei gewählten cut-off-Werts in stark und schwach als auch in vorwiegend nukleär oder zytoplasmatisch gefärbt eingeteilt. Ein Großteil der Präparate zeigte dabei eine starke (57%) und zytoplasmatische (68,6%) Färbung. Auch hier wurde eine stärkere GLO1-Färbung der Tumormaterialien nachgewiesen als in dieser Dissertation, was auf die unterschiedliche Lokalisation der Tumoren zurückgeführt werden könnte. Da in den Überlebensanalysen bei Kreytzy et al. sowohl eine starke als auch eine nukleäre GLO-Färbung mit einem signifikant kürzeren DSS (disease-specific survival) assoziiert war, wurden

sämtliche statistische Analysen mit den Gruppen GLO high/nuc (starke, nukleäre Färbung) gegen GLO1 others (alle anderen Färbungskombinationen) durchgeführt. Es kann daher nicht 1:1 mit dieser Dissertation verglichen werden, da keine Unterscheidung zwischen zytoplasmatischer und nukleärer Färbung vorgenommen wurde. (162)

Chiavarina et al. untersuchten bei 92 Patient:innen mit Mammakarzinom aus Belgien die Expression von Argpyrimidin und Glyoxalase 1 mittels Immunhistochemie. Die Primärantikörper stammten dabei aus der Maus. Für Argpyrimidin wurde der gleiche monoklonale Antikörperklon wie in dieser Arbeit (6B) verwendet, während die GLO1-Färbung mit einem anderen monoklonalen Antikörper durchgeführt wurde (cat #02-14, BioMac Leipzig). Die Auswertung erfolgte über einen Score, der ähnlich berechnet wurde wie in dieser Dissertation. Auffällig war, dass die Intensität der Argpyrimidin-Färbung statistisch signifikant mit dem Subtyp des Mammakarzinoms korrelierte: Während ein Großteil der Triple-negativen Präparate (73,9%) eine negative bis schwache Färbung aufwies, zeigten 78,6% aller anderen Subtypen (Triple+, Her2+, Her2-) eine moderate bis starke Färbung. Dieses Ergebnis wurde auch nochmals mittels Western Blot bei Zelllinien der verschiedenen Subtypen bestätigt. Jeweils 21 der Triple negativen und Triple positiven Präparate wurden dann immunhistochemisch nach der Glyoxalase 1 angefärbt. Hier ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Subtypen, bei beiden wies ein Großteil der Präparate eine positive Färbung auf (80% Triple negativ, 90% Triple positiv). Eine Messung der Enzymaktivität nach Proteinextraktion aus diesen Proben zeigte allerdings eine signifikant höhere Aktivität der Glyoxalase in den Triple-negativen Präparaten. Dies könnte zu den geringeren Mengen an Argpyrimidin in diesem Subtyp durch den verstärkten Abbau von Methylglyoxal beitragen. Die immunhistochemische Färbung trifft also keine direkte Aussage über die Enzymaktivität, was auch bei dieser Dissertation berücksichtigt werden muss. (159)

In einer Arbeit von Sakellariou et al. aus Griechenland wurden Präparate von 133 Patient:innen mit Kolonkarzinom gesammelt und nach verschiedenen Markern angefärbt. Neben einer Färbung für AGE und GLO1 wurden auch Antikörper gegen RAGE, AdipoR1- und AdipoR2 (Adiponektin-Rezeptor) verwendet. Wichtig ist hierbei auch, dass nicht Argpyrimidin als Vertreter der AGEs, sondern CML (N-(Carboxymethyl)-Lysin) angefärbt wurde. Für die Glyoxalase-1-Färbung wurde ein anderer Antikörper wie in dieser Arbeit verwendet (monoklonal, Maus, Santa Cruz Biotechnology). Niemand der Patient:innen hatte zuvor eine Chemo- oder Radiotherapie erhalten. Die Auswertung erfolgte über den oben bereits beschriebenen Histo-Score (H-Score). Zudem wurde auch die Färbung in gesundem Gewebe dokumentiert. Für die AGE-Färbung ergab sich ein medianer H-Score von 90, für die GLO-Färbung von 140 und beide zeigten eine signifikant höhere Intensität im Tumor- als im Normalgewebe. (172)

Berücksichtigt werden muss hierbei allerdings, dass ein spezielles AGE wie Argpyrimidin oder CML nicht stellvertretend für alle betrachtet werden kann: Eine Studie von van Heijst et al. zeigte beispielsweise, dass in Proben von Patient:innen mit Lungenkarzinom CML sowohl in Adeno- als auch in Plattenepithelkarzinomen nachgewiesen werden konnte, Argpyrimidin hingegen nur in Plattenepithelkarzinomen (173).

Da in den zuletzt genannten Studien sowohl die Glyoxalase 1 als auch AGEs angefärbt wurden, wird im Folgenden der Zusammenhang zwischen beiden Färbungen genauer betrachtet. In dieser Dissertation konnte in der univariaten Analyse eine Korrelation nahe 0, also kein eindeutiger Zusammenhang nachgewiesen werden. In der multivariaten Analyse allerdings ergab sich mit einer Odds Ratio nahe 2 der Hinweis auf einen positiven Zusammenhang, wenn auch nicht statistisch signifikant. Die genannten Studien zeigen ebenso unterschiedliche Ergebnisse hierzu: Während bei Kreytz et al. (oropharyngeales Plattenepithelkarzinom) eine signifikant positive Korrelation zwischen der Expression der Glyoxalase 1 und Argpyrimidin beschrieben wird (162), ergibt sich bei Sakellariou (Kolonkarzinom) ein negativer Zusammenhang, wenn auch nicht statistisch signifikant (172). Bei Chiavarina et al. (Mammakarzinom) wird zwar keine Korrelation berechnet, aber der Zusammenhang zwischen den beiden Färbungen ist abhängig vom Tumorsubtyp: Während Triple-negative wenig Argpyrimidin und viel Glyoxalase exprimieren, sind bei den anderen Subtypen beide Färbungen stark (159). Dies zeigt, dass kein allgemein gültiger Zusammenhang zwischen dem Level von AGEs und der Glyoxalase bei Tumorzellen beschrieben werden kann. Der Abbau von AGEs und die Induktion der Glyoxalase durch hohe Level an AGEs ist ein dynamischer Prozess, der auch abhängig von der Tumorentität zu sein scheint. Außerdem kann die Färbung nach einem bestimmten AGE nicht stellvertretend für die gesamte Gruppe an AGEs gesehen werden.

Zusammenfassend zeigt sich in allen Studien eine stärkere Glyoxalase1-Färbung als in dieser Dissertation. Dies könnte auf einen Publikationsbias oder aber eine unzureichende Färbemethode bei dieser Arbeit zurückgeführt werden. Die Studien sind aufgrund von Unterschieden hinsichtlich der Tumorentitäten, Ethnien, Methodiken und des Behandlungsstands der Patient:innen allerdings nur bedingt vergleichbar. Wichtig zu erwähnen ist, dass in allen anderen Studien nur therapienaive Präparate betrachtet wurden, während in dieser Dissertation auch vorbehandelte Präparate vertreten waren.

5.3. Einfluss der erhobenen Variablen auf die GLO- und Argpyrimidin-Färbung

Im Folgenden werden vor allem die statistisch signifikanten Korrelationen zwischen den Färbungen und den erhobenen Variablen in Hinsicht auf die aktuelle Studienlage eingeordnet.

5.3.1. Geschlecht und Alter

Weder in dieser Dissertation noch in den Arbeiten von Guo, Kreycy und Cheng et al. konnte ein signifikanter Unterschied in der GLO1-Färbung für unterschiedliche Altersgruppen oder Geschlechter nachgewiesen werden (146, 162, 165).

Für die Argpyrimidinfärbung ergab sich in dieser Arbeit eine statistisch signifikante negative Korrelation zwischen dem IRS-Score und dem Alter bei Erstdiagnose ($p=0,017$). Dies ist zunächst überraschend, da in der Literatur immer wieder der Zusammenhang zwischen erhöhten Konzentrationen von AGEs und altersbedingten Erkrankungen erwähnt wird (174). Auch bei gesunden Personen sind die Serumkonzentrationen von AGEs eher steigend mit dem Alter (175). Ein möglicher Grund für diesen Unterschied könnte sein, dass erhöhte AGE-Konzentrationen zwar durch DNA- und Proteinmodifikationen vermehrt zu altersbedingten Erkrankungen führen, im malignen Zustand sich diese Verhältnisse aber durch einen vermehrten Abbau umkehren. Bei der Glyoxalase zeigte sich passend hierzu ein Trend zu einer positiven Korrelation, allerdings nicht statistisch signifikant ($p=0,167$). In der multivariaten Analyse war der Zusammenhang zwischen der Argpyrimidinfärbung und dem Alter allerdings nicht mehr statistisch signifikant nachweisbar ($p=0,139$), sodass möglicherweise auch andere Confounder hierbei eine Rolle spielen. Zum Geschlecht ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

5.3.2. Nikotinkonsum

Hinsichtlich der Expression der Glyoxalase 1 ergab sich weder in dieser Arbeit noch in der Studie von Kreycy et al. eine statistisch signifikante Korrelation zum Nikotinkonsum der Patient:innen (162).

Für die Färbung nach Argpyrimidin ergab sich der Trend, dass Nikotinkonsum eher mit einem höheren IRS-Score einhergeht, wenn auch nicht statistisch signifikant ($p=0,184$). Dieser Zusammenhang spiegelt sich auch in der Literatur wider: In einer Studie von Nicholl et al. wurde Proben von den Linsen und Koronararterien von Raucher:innen mit Nichtraucher:innen verglichen. Immunhistochemisch konnte dabei eine statistisch signifikant höhere Expression von AGEs bei Rauchenden nachgewiesen werden (176). Eventuell lässt sich dadurch auch der hohe Anteil der Argpyrimidin-positiv gefärbten Präparate bei der Arbeit von Kreycy et al. erklären, da auch beim oropharyngealen Plattenepithelkarzinom Nikotinkonsum einen bedeutenden Risikofaktor darstellt (162).

5.3.3. Gewicht

In dieser Arbeit zeigte sich, dass ein höherer IRS-Score für Argpyrimidin eher mit Untergewicht ($p=0,148$) und für Glyoxalase 1 nachweislich mit Übergewicht ($p=0,02$) assoziiert ist. Bei der Glyoxalase-Färbung war der Zusammenhang zwischen Übergewicht und dem IRS-Score

sogar statistisch signifikant. In den oben genannten Studien wurden keine Zusammenhänge zwischen den Färbungen und dem BMI berichtet.

In der Literatur wird der Zusammenhang zwischen dem Gewicht und AGEs sehr uneinheitlich dargestellt. Meist werden hier die Konzentrationen von AGEs im Serum herangezogen, wobei dabei auch die Aufnahme von AGEs über die Nahrung eine Rolle spielt. In einer Review von Turki et al. wurden mehrere Studien zu diesem Thema zusammengefasst. Dabei konnte passend zu dieser Arbeit ein inverser Zusammenhang zwischen zirkulierenden AGEs und dem BMI nachgewiesen werden. Hierbei handelte es sich allerdings nicht um Krebspatient:innen. (177)

Zum Zusammenhang zwischen dem Gewicht und der Expression der Glyoxalase 1 fehlen noch Studien an menschlichen Proben. Wie bereits in der Literaturdiskussion erwähnt, wurde bei Mäusen eine verminderte Expression der Glyoxalase 1 in der Leber bei Übergewicht nachgewiesen (137). Dies würde mit den Ergebnissen in dieser Arbeit nicht zusammenpassen. Allerdings sind die Studien auch nicht direkt vergleichbar, da es sich um Tierversuche handelt und die Mäuse keine maligne Erkrankung aufwiesen. Zudem wurden hier auch nicht Proben aus dem Ösophagus entnommen.

5.3.4. Tumordaten

In dieser Arbeit konnten keine statistisch signifikanten Zusammenhänge zwischen den beiden Färbungen und dem TNM-Status bzw. dem Grading des Tumors nachgewiesen werden. Es zeigte sich der Trend, dass ein metastasiertes Stadium eher mit einem höheren GLO1-IRS-Score ($p=0,141$) und einem niedrigeren MAGE-IRS-Score ($p=0,093$) einhergeht, wenn auch statistisch nicht signifikant.

In der anderen Studie zum ösophagealen Plattenepithelkarzinom von Guo et al. konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer starken Glyoxalase-Expression und einem höheren klinischen Stadium sowie einer Lymphknotenmetastasierung nachgewiesen werden. In weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass ein Knockdown von GLO1 im Zellversuch zu einer verminderten Migration, Invasion und Proliferation sowie im Mausmodell zu signifikant kleineren Tumoren führt (165). Beim oropharyngealen Plattenepithelkarzinom korrelierte in der Arbeit von Kreycy et al. eine hohe nukleäre Glyoxalase1-Färbung statistisch signifikant mit einem höheren T-Stadium, allerdings nicht mit dem N- und M-Status oder dem Grading (162). Neben einem höheren T-Stadium ging beim Magenkarzinom auch eine Lymphknotenmetastasierung statistisch signifikant mit einer stärkeren Glyoxalase-Färbung einher (146). Zusammenfassend stimmen die Studien und auch diese Arbeit insofern überein, dass ein fortgeschrittenes Tumorstadium tendenziell eher mit einer stärkeren Expression der Glyoxalase 1 einhergeht. Sie unterscheiden sich darin, welcher Faktor des TNM-Stadiums dabei stärker beeinflusst werden könnte.

Im Gegensatz dazu erwies sich die Glyoxalase-Färbung beim Kolonkarzinom in der Studie von Sakellariou et al. bei Tumoren im Stadium T3/T4 signifikant geringer als in weniger fortgeschrittenen Stadien. Es scheint also abhängig von der Tumorentität zu sein, ob in fortgeschrittenen Stadien die Glyoxalase1-Expression hochreguliert wird. Nur in dieser Studie wurde ein Zusammenhang zwischen der AGE-Färbung und dem Tumorstadium untersucht. Die einzige statistisch signifikante Auffälligkeit ergab sich dabei für eine höhere AGE-Färbung beim Grading 2 im Vergleich zum Grading 1 und 3. (172)

Bezüglich der Tumorlokalisation konnte in dieser Dissertation ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer distaleren Lage und einer positiven Glyoxalase-Färbung dargestellt werden. Ein möglicher Faktor könnte hierbei sein, dass diese Tumoren mehr Ähnlichkeiten zum Magenkarzinom aufweisen als bei eher proximaler Lage. Wie bereits in der Studie von Cheng et al. beschrieben, konnte beim Magenkarzinom eine starke Expression der Glyoxalase 1 nachgewiesen werden (146).

5.3.5. Art der Probenahme

Zunächst ist bei beiden Färbungen zu beachten, dass Großpräparate eher eine positive Färbung zeigen als Biopsien. Dies ist vermutlich der Tatsache geschuldet, dass Biopsien nur einen kleinen Teil des Tumors darstellen und daher nicht immer Bereiche enthalten, in denen die Marker vertreten sind. Da mit 71,7% ein Großteil des Kollektivs aus Biopsien besteht, wird der Anteil negativer Präparate in dieser Arbeit vermutlich generell überschätzt.

Auffällig ist auch der Einfluss einer Vorbehandlung des/der Patient:in mittels Chemo- oder Radiotherapie auf die Färbung der Präparate. Während die GLO-Färbung hier keinen Zusammenhang aufweist, zeigen vorbehandelte Präparate signifikant häufiger eine positive MAGE-Färbung als therapienaive Präparate ($p=0,003$). In einer Studie von Alhujaily et al. wurde der Einfluss von Chemotherapeutika auf die GLO-MAGE-Achse ebenfalls untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass Tumorzellen nach der Behandlung mit Alkylanzien, Topoisomeraseinhibitoren, Antitubulinen und Antimetaboliten eine erhöhte Methylglyoxal-Konzentration aufwiesen. Dies wurde durch eine verstärkte Glykolyse durch die Chemotherapeutika erklärt. In Zellen, die die Glyoxalase 1 überexprimierten, zeigten diese Chemotherapeutika hingegen eine geringere Zytotoxizität. Dies könnte auf den vermehrten Abbau des anfallenden Methylglyoxals zurückgeführt werden. (143) In einer in vitro Studie von Michel et al. zum hepatozellulären Karzinom konnte durch die Behandlung mit Sorafenib ebenfalls ein Anstieg von Methylglyoxal nachgewiesen werden. Gleichzeitig wurde hier durch die Behandlung auch eine verstärkte Expression der Glyoxalase 1 beobachtet. (161)

In einer anderen Studie von Sakamoto et al. wurden multiresistente Leukämiezellen untersucht. Hier konnte die Apoptose durch Chemotherapeutika durch die Zugabe eines GLO1-Inhibitors verbessert werden. (178)

Zusammenfassend liegt also die Hypothese nahe, dass Chemotherapeutika die Konzentration von Methylglyoxal und damit auch von AGEs erhöhen. Dies stellt einen Faktor ihrer Zytotoxizität dar. Durch eine Hochregulation der Glyoxalase kann das Methylglyoxal besser abgebaut werden, was zur Resistenz der Zellen gegenüber Chemotherapeutika beiträgt. In dieser Arbeit konnte nur eine verstärkte Expression von Argpyrimidin als Vertreter der AGEs nach Chemo- oder Radiotherapie aufgezeigt werden. Eine Hochregulation der Glyoxalase 1 durch eine solche Vorbehandlung konnte statistisch nicht nachgewiesen werden. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass eine solche Hochregulation beim ösophagealen Plattenepithelkarzinom keinen Resistenzmechanismus darstellt.

5.4. Diskussion Überlebensanalysen

5.4.1. Überleben im Gesamtkollektiv

Im neusten Bericht des RKI aus dem Jahr 2019-2020 liegt die absolute 5-Jahres-Überlebensrate beim Ösophaguskarzinom für Frauen bei 21% und für Männer bei 22% (1). In diesem Kollektiv liegt das 5-Jahres-Überleben deutlich niedriger mit 15,8%. Dieser Wert ist allerdings vergleichbar mit dem RKI-Bericht aus den Jahren 2007-2008: Hier lag die 5-Jahres-Überlebensrate für Männern bei 14% und für Frauen bei 17% (179). Da mit der Datensammlung im Jahr 2008 begonnen wurde, muss dieser Umstand berücksichtigt werden. Das bessere Überleben heutzutage könnte durch den neuen Einsatz minimalinvasiver OP-Techniken und der Immuntherapie erklärt werden.

5.4.2. Einfluss der erhobenen Variablen auf das Gesamtüberleben

Ein wichtiger Faktor, der sich auch in dieser Arbeit statistisch signifikant auf das Gesamtüberleben auswirkt, ist die angewandte Therapie: Während die Patient:innen, die eine primär operative Therapie erhalten haben, mit einem Median von 54,9 Monaten am längsten überleben, versterben diejenigen, die eine rein symptomatisch behandelt wurden, am frühesten mit einem Median von 5,9 Monaten. Dazwischen einzuordnen sind die definitiv systemtherapierten (Median: 21,7 Monate) und neoadjuvant (Median: 17,6 Monate) therapierten Patient:innen ($p=0,003$).

Dies ist auch auf die unterschiedlichen Indikationen zu diesen Therapieregimen zurückzuführen. Eine primär operative Therapie wird nur in frühen Stadien (bis T2) empfohlen (2), was auch zum besseren Überleben der Patient:innen in diesem Therapiearm beiträgt. Die CROSS-Studie zeigte, dass ab einem T3-Stadium eine präoperative Radiochemotherapie beim Ösophaguskarzinom mit einem Überlebensvorteil einhergeht (116). In der neoadjuvanten Gruppe sind also eher fortgeschrittene Tumorerkrankungen vertreten, was das insgesamt schlechtere Überleben erklärt. Dass die definitiv systemtherapierten Patient:innen hinsichtlich ihres Überlebens zwischen diesen beiden Gruppen einzuordnen sind, kann auf den Umstand zurückgeführt werden, dass hierunter sowohl palliative als auch kurative Therapieregime

fallen. Für nicht operable, zervikale oder thorakale Tumoren im Stadium cT3/T4 wird nach der aktuellen Leitlinie auch in kurativer Absicht eine definitive Radiochemotherapie empfohlen (2).

Ein weiterer Faktor mit Einfluss auf das Überleben scheint der BMI zu sein: Untergewichtige überleben in dieser Arbeit signifikant schlechter als Normal- oder Übergewichtige ($p=0,002$). Zu diesem Ergebnis kam auch eine groß angelegte prospektive Kohortenstudie aus China, die 3127 Patient:innen mit Ösophaguskarzinom einschloss und verschiedene Prädiktoren für das Gesamtüberleben ermittelte. Untergewicht ging auch hier mit einem signifikant schlechteren Überleben einher (180). Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass sowohl durch eine fortgeschrittene Tumorerkrankung als auch durch eine Operation die Nahrungsaufnahme beim Ösophaguskarzinom stark eingeschränkt werden kann. Ein höherer BMI bei Erstdiagnose kann daher protektiv wirken.

In der Studie von Yu et al. wies außerdem der TNM-Status einen signifikanten Zusammenhang zum Überleben beim Ösophaguskarzinom auf (180). Auch in dieser Arbeit zeigt sich tendenziell ein schlechteres Überleben mit fortgeschrittenem TNM-Status, allerdings nicht statistisch signifikant. Dies könnte auf den Umstand zurückzuführen sein, dass bei einigen Patient:innen der TNM-Status nicht dokumentiert wurde und die statistische Analyse hinsichtlich dieser Variable daher nicht mit dem gesamten Kollektiv durchgeführt werden konnte. R0-Resezierte hingegen weisen in dieser Arbeit ein statistisch signifikant besseres Überleben auf als Patient:innen mit R1-Resektion ($p=0,048$). Allerdings muss hierbei beachtet werden, dass der R-Status nur bei 28 Patient:innen erhoben wurde und davon nur 4 einen R1-Status aufwiesen. Aber auch in einer Review von Wu et al. zeigte sich ein signifikant besseres Überleben bei R0-Status (181).

5.4.3. Die Rolle der Glyoxalase 1 und von Argpyrimidin als mögliche prognostische Marker

In dieser Arbeit weist die Ausprägung der Glyoxalase 1 und von Argpyrimidin alleine keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das Überleben auf. Bei beiden Markern verstarb die Gruppe mit einer positiven Färbung aber tendenziell früher als mit einer fehlenden. Betrachtet man allerdings die Koexpression, überlebte die Gruppe, die eine positive Expression beider Marker aufwies, signifikant schlechter als bei allen anderen Färbungskombinationen ($p=0,015$). In der multivariaten Analyse zeigen die doppelt positiven Präparate nur ein signifikant schlechteres Überleben gegenüber den Präparaten mit der Färbungskombination GLO+/MAGE- ($p=0,028$). Ein Schwachpunkt dieser Arbeit ist, dass der TNM-Status nicht in die multivariate Analyse mitaufgenommen werden konnte, da durch unbekannte Daten zu viele Patient:innen aus der Auswertung hätten ausgeschlossen werden müssen.

Der Einfluss der Glyoxalase 1 auf das Überleben wurde bereits in einigen Studien untersucht. Hu et al. setzten 2024 die Arbeit von Guo et al. zum ösophagealen Plattenepithelkarzinom fort.

Dabei wurde eine Kaplan-Meier-Analyse mittels Daten aus dem „Cancer Genome Atlas“ von Patient:innen mit Ösophaguskarzinom durchgeführt. Hier zeigte sich bei hoher GLO1-Expression ein signifikant schlechteres Gesamt- (OS), progressionsfreies (PFS) und krankheitsfreies Überleben (DFS). Zu beachten ist, dass hierbei sowohl Adeno- als auch Plattenepithelkarzinome eingeschlossen wurden. (166) Beim oropharyngealen Plattenepithelkarzinom konnte sowohl für eine nukleäre als auch für eine starke Glyoxalase-Färbung eine statistisch signifikante Assoziation zu einem kürzeren krankheitsspezifischen Überleben (disease-specific survival, DSS) nachgewiesen werden. Für die Kombination aus einer starken und nukleären Färbung blieb dieser Zusammenhang auch in der multivariaten Analyse statistisch signifikant. (162) Für das Magenkarzinom ergab sich für Patient:innen mit einer starken GLO-Färbung ein signifikant schlechteres 5-Jahres-Überleben von 43,3% als für solche mit schwacher Färbung (5-Jahres-Überleben: 69,6%) in der univariaten Analyse. In der multivariaten Analyse hingegen erwiesen sich nur noch der N- und M-Status als unabhängige prognostische Faktoren, die Glyoxalase-Färbung zeigte hier keine statistische Signifikanz. (146) Auch beim Kolonkarzinom ging eine starke Glyoxalase-Färbung mit einem kürzeren Gesamtüberleben einher. In der Subgruppenanalyse zeigte sich dieser Zusammenhang aber nur für frühe Tumorstadien signifikant, in fortgeschrittenen Tumorstadien hingegen nicht. Ausschließlich in dieser Studie wurde auch die Auswirkung von AGEs auf das Überleben untersucht: Hier ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang. (172)

Zusammenfassend zeigt sich also über verschiedenen Studien und Tumorentitäten hinweg, dass eine hohe Expression der Glyoxalase einen Nachteil für das Überleben von Krebspatient:innen darstellt. Auch in dieser Arbeit geht eine positive Glyoxalase-Färbung tendenziell mit einem schlechteren Überleben einher, wenn auch nicht statistisch nachweisbar ($p=0,632$). Dies könnte dadurch erklärt werden, dass die Tumorzellen Methylglyoxal, was über die Bildung von AGEs zytotoxisch wirkt, besser abbauen können. Man könnte daher davon ausgehen, dass GLO-positive und MAGE-negative Präparate das schlechteste Überleben aufweisen. Tatsächlich weist aber genau diese Gruppe das beste Überleben in dieser Arbeit auf, verglichen mit allen anderen Färbungskombinationen. Doppelt positive Präparate weisen hingegen das statistisch signifikant schlechteste Überleben auf ($p=0,003$). Dies könnte zum einen mit der Tatsache erklärt werden, dass die Induktion der Glyoxalase durch hohe Level an AGEs und der Abbau dieser AGEs durch die Glyoxalase dynamische Prozesse sind. Je nachdem, zu welchem Zeitpunkt man diese Prozesse betrachtet, können die Level an Edukt und Enzym entweder hoch oder niedrig sein, obwohl der gleiche Mechanismus zugrunde liegt. Außerdem muss berücksichtigt werden, dass Argpyrimidin nicht stellvertretend für alle AGEs betrachtet werden kann.

Zum anderen wirken hohe Level an AGEs nicht nur zytotoxisch, sondern können auch gegenteilige Effekte haben. Vor allem interessant ist hierbei das in dieser Arbeit untersuchte

Argpyrimidin. Sakamoto et al. zeigten in einer Studie, dass Argpyrimidin das Heat shock protein 27 modifizieren kann. Dieses ist dadurch effektiver in der Hemmung der Caspase und kann die Apoptose verhindern. (182) Hohe Level an Argpyrimidin könnten der Tumorzelle also auch einen Überlebensvorteil verschaffen. Dies wäre kongruent zu dem tendenziell schlechteren Überleben der Patient:innen mit starker Expression von Argpyrimidin in dieser Arbeit ($p=0,241$).

Eventuell spielen bei den doppelt positiven Präparaten beide Prozesse eine Rolle: Sowohl der vermehrte Abbau zytotoxischer AGEs durch die Glyoxalase als auch dem Entkommen der Apoptose durch hohe Level an Argpyrimidin. Beide Mechanismen könnten zu einem verstärkten Tumorwachstum und einem schlechteren Überleben führen.

5.4.4. Die Rolle der Glyoxalase 1 und von Argpyrimidin als mögliche prädiktive Marker

Prädiktiv werden Marker bezeichnet, die eine Aussagekraft darüber haben, welche Therapieoption am besten für den:die Patient:in geeignet ist. Um dies auch für die Glyoxalase und Argpyrimidin zu untersuchen, wurde das Überleben abhängig von der Färbung nach diesen Markern und dem Therapiearm untersucht. Da in dieser Studie auch Präparate vertreten waren, die bereits eine Vorbehandlung erhalten hatten, musste auch dieser Umstand berücksichtigt werden.

Für die Glyoxalase-Färbung ergab sich über alle Therapieregime hinweg, dass eine positive GLO-Färbung ein tendenziell schlechteres Überleben als eine fehlende GLO-Färbung aufweist. Dieser Umstand war auch unabhängig davon, ob es sich um ein therapienaives oder vorbehandeltes Präparat handelte. Sowohl in der GLO-negativen als auch in der GLO-positiven Gruppe wiesen Patient:innen, die eine primär operative Behandlung erhalten hatten, das beste Überleben auf, wie auch im Gesamtkollektiv. Keines dieser Ergebnisse war statistisch signifikant. Die Expression der Glyoxalase 1 scheint in Hinblick auf die Ergebnisse dieser Arbeit für das ösophageale Plattenepithelkarzinom also keine prädiktive Aussagekraft zu haben. In der Literatur wird wie bereits unter 5.3.5 erwähnt häufig eine Assoziation zwischen einer hohen GLO-Expression und einer Resistenz gegenüber Chemotherapeutika beschrieben. Alhujaily et al. zeigten beispielsweise anhand von Daten aus einer Gendatenbank für Brustkrebspatientinnen, dass eine hohe Glyoxalase-Expression mit einem signifikant schlechteren Überleben bei der Anwendung einer Chemotherapie einhergeht (143). Auch in dieser Arbeit ist eine GLO-positive Färbung in der Gruppe der Systemtherapie mit einem tendenziell schlechteren Überleben assoziiert, der Unterschied ist aber nicht statistisch belegbar ($p=0,911$). In der Arbeit von Kreczy et al. zeigte sich für das oropharyngeale Plattenepithelkarzinom in der Gruppe mit Chemotherapie sogar ein tendenziell besseres PFS in der GLO-positiven Gruppe, wenn auch nicht statistisch signifikant. In der operativen und mittels Radiotherapie behandelten Gruppe ergab sich für die GLO-positiven Präparate hingegen ein

statistisch signifikant schlechteres PFS. (162) Der Einfluss der Expression der Glyoxalase 1 auf die Wirksamkeit einer Chemotherapie stellt sich in der Literatur also nicht einheitlich dar.

Für die Argpyrimidinfärbung hingegen konnte in dieser Arbeit ein interessanter Unterschied zwischen den Therapiearmen festgestellt werden: Zum einen zeigte sich bei den therapienaiven Präparaten, wie auch schon im Gesamtkollektiv beobachtet, ein tendenziell besseres Überleben in der MAGE-negativen Gruppe ($p=0,135$). Bei den Proben, die bereits eine Vorbehandlung erhalten hatten, wies die MAGE-positive Gruppe hingegen ein längeres medianes Überleben auf ($p=0,217$). Zu beachten ist hierbei, dass keines dieser Ergebnisse eine statistische Signifikanz aufwies und zu der Gruppe der MAGE-negativen, vorbehandelten Präparate nur 3 Patient:innen gehörten (im Vergleich zu 12 MAGE-positiven vorbehandelten Präparaten). Dennoch ist dieser Unterschied interessant: Wie bereits zuvor erwähnt, wurde in der Literatur häufig beschrieben, dass Chemotherapeutika die Konzentration von Methylglyoxal erhöhen (143, 161). Dadurch könnte auch die Konzentration von Argpyrimidin steigen, was in dieser Arbeit ebenso beobachtet werden konnte. Steigt gleichzeitig nicht auch der Abbau durch die Glyoxalase an, erreichen die Chemotherapeutika ihre gewünschte Zytotoxizität. Dies würde erklären, warum eine MAGE-positive Färbung nach einer angewandten Systemtherapie mit einer besseren Wirksamkeit dieser und einem dadurch längeren Überleben einhergeht.

Um die prädiktive Aussagekraft von Argpyrimidin bewerten zu können, müssen wir allerdings die therapienaiven Präparate betrachten, da nur hier überhaupt noch eine Therapieentscheidung aussteht. In diesem Kollektiv überlebten Patient:innen, deren Präparate MAGE-negativ waren, sowohl in der neoadjuvanten auch in der primär operativen Gruppe besser als bei einer positiven Färbung. In der neoadjuvanten Gruppe war dieser Unterschied mit einem $p=0,004$ sogar statistisch signifikant. Die operative Therapie wies in der MAGE-negativen Gruppe das längste mediane Überleben auf, wie auch im Gesamtkollektiv. Anders sieht es in der Gruppe der systemtherapierten Patient:innen aus: In der MAGE-positiven Gruppe überlebten diese Patient:innen im Median am längsten. Eine fehlende MAGE-Färbung geht bei einer Systemtherapie sogar mit einem kürzeren medianen Überleben einher. Dies würde die Vermutung nahelegen, dass eine positive Argpyrimidin-Färbung zu Beginn der Therapie für die Anwendung einer Systemtherapie sprechen würde.

Diese Beobachtung könnte dadurch unterstützt werden, dass in Tumorzellen mit hoher Expression von Argpyrimidin der Abbau von AGEs noch nicht hochreguliert zu sein scheint. Passend dazu geht eine fehlende Glyoxalase-Färbung in der Systemtherapie-Gruppe auch mit einem eher besseren Überleben einher. Wie oben beschrieben führt eine Chemotherapie nun zusätzlich zu einem stärkeren Anfall von Methylglyoxal. Die hohen Level an AGEs wirken dann zytotoxisch. Gegen diese Beobachtungen sprechen Ergebnisse aus einer Arbeit von van

Heijst et al. über NSCLC-Zellen: Hier wurde in Zelllinien, die eine hohe Expression von Argpyrimidin zeigten, eine geringere Wirkung von Cisplatin nachgewiesen. Dies wurde dadurch erklärt, dass Argpyrimidin das Heat shock protein 27 modifizieren und die Zellen dadurch der Apoptose durch die Chemotherapeutika entkommen können. (173) Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass es sich nur um einen Zellversuch und eine andere Tumorentität handelt. Außerdem umfasst die Gruppe der Systemtherapierten in dieser Dissertation zu einem Großteil auch Patient:innen, die zusätzlich zu einer Chemotherapie auch eine Radiatio erhalten haben. Der Zusammenhang zwischen einer Bestrahlung und der Konzentration von AGEs wurde in der Literatur bisher allerdings noch nicht ausreichend untersucht.

Zusammenfassend könnte eine positive Argpyrimidin-Färbung zu Beginn der Behandlung für die Anwendung einer Systemtherapie sprechen. Andererseits deutet eine positive Argpyrimidin-Färbung nach der Systemtherapie auf ein gutes Ansprechen hin. Zu berücksichtigen ist hierbei aber, dass die dabei verglichenen Gruppen zum Teil nur sehr wenige Patient:innen umfassten. Die Ergebnisse müssten daher nochmals an einem größeren Kollektiv bestätigt werden.

6. Zusammenfassung

Obwohl das Ösophaguskarzinom zu den eher selteneren Tumorlokalisationen in Deutschland gehört, ist es durch die erst spät einsetzenden Symptome besonders gefährlich: Mehr als jeder dritte Tumor ist bei Erstdiagnose bereits im UICC-Stadium IV. Trotz der Etablierung von minimal-invasiven Operationstechniken und der Immuntherapie in den letzten Jahren betrug die absolute 5-Jahres-Überlebensrate 2019/2020 nur 21-22%. (1)

Umso interessanter ist es, neue Angriffspunkte für moderne Therapien beim Ösophaguskarzinom zu finden. Für andere Tumorentitäten rückt aktuell im Rahmen dessen ein bestimmter Schritt im Zuckerstoffwechsel von malignen Zellen ins Zentrum der Forschung: Aufgrund der verstärkten Glykolyse von Krebszellen (Warburg-Effekt) fällt in diesen vermehrt das Nebenprodukt Methylglyoxal an, welches mit DNA- und Proteinbestandteilen zu den sogenannten advanced glycation end products (AGE, z.B. Argpyrimidin) reagiert und dadurch zytotoxisch wirkt. In einigen Tumorentitäten wurde eine Hochregulation der Glyoxalase 1 nachgewiesen, die Methylglyoxal abbauen und dadurch dem Zelltod entgehen kann. (9)

Die GLO-AGE-Achse stellt also ein vielversprechendes Target dar und wurde daher auch in dieser Arbeit untersucht. Hierzu wurde auf eine Datenbank zu einem Patient:innenkollektiv der Universitätsmedizin Mainz aus den Jahren 2008-2017 mit ösophagealem Plattenepithelkarzinom zurückgegriffen und von 99 Patient:innen Tumorpräparate immunhistochemisch nach der Glyoxalase 1 und Argpyrimidin, einem Vertreter der AGEs, angefärbt und ausgewertet. Insgesamt muss berücksichtigt werden, dass die Glyoxalase 1-Färbung insgesamt eher schwach ausgefallen ist (76,8% negativ, 23,2% positiv), auch verglichen mit einer ähnlichen Arbeit von Guo et al. zum ösophagealen Plattenepithelkarzinom (165). Dies könnte sowohl auf die Färbemethode und verschiedenen Antikörper als auch auf die unterschiedliche Ethnie des Kollektivs zurückgeführt werden. Um Ergebnisse aus verschiedenen Studien adäquat vergleichen zu können, müssten standardisierte Rahmenbedingungen zur Quantifizierung der Glyoxalase geschaffen werden. Die Argpyrimidin-Färbung hingegen zeigte sich ungefähr in der Hälfte der Präparate positiv und in der anderen Hälfte negativ (42,4% positiv, 57,6% negativ).

Ein Ziel dieser Arbeit war es, Zusammenhänge zwischen allgemeinen Patient:innenparametern und Tumordaten mit den Färbungen zu untersuchen. Zu den wichtigsten Erkenntnissen, die auch in der multivariaten Analyse statistisch signifikant blieben, zählte, dass die Glyoxalase 1 eher bei distalen als bei proximalen Tumoren exprimiert wird. Dies könnte daran liegen, dass diese Tumoren Ähnlichkeiten zum benachbarten Magenkarzinom aufweisen, für das in der Literatur eine Überexpression der Glyoxalase 1 bereits belegt wurde (146). Zum anderen konnte Argpyrimidin verstärkt in Präparaten von zuvor chemotherapierten oder bestrahlten Patient:innen nachgewiesen werden. In der

Literatur wird passend hierzu beschrieben, dass Chemotherapeutika die Bildung von Methylglyoxal und damit AGEs induzieren, was zu ihrer Zytotoxizität beiträgt (143). Während bei Guo et al. für das ösophageale Plattenepithelkarzinom eine Überexpression der Glyoxalase 1 mit einem höherem klinischen Stadium und einer Lymphknotenmetastasierung einherging (165), zeigte sich in dieser Arbeit keine statistisch signifikante Korrelation der beiden Färbungen zum TNM-Status. Tendenziell war eine Fernmetastasierung aber eher mit einer stärkeren GLO- und schwächeren Argpyrimidin-Färbung verbunden.

Die beiden Färbungen wiesen untereinander eine Korrelation nahe 0 auf. Die multivariate Analyse deutete auf einen eher positiven Zusammenhang hin, allerdings nicht statistisch signifikant. In der Literatur werden für unterschiedliche Tumorentitäten sowohl positive (162) als auch negative (172) Korrelationen zwischen den Leveln der Glyoxalase und von AGEs beschrieben.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war es, die Auswirkung der Färbungen auf das Überleben allgemein und in Hinblick auf die Wirksamkeit spezieller Therapieregime zu analysieren. Unabhängig von der Färbung erwiesen sich der BMI (schlechtere Prognose bei Untergewicht), der Therapiearm (beste Prognose bei primärer Operation) und der R-Status (bessere Prognose bei R0-Status) als Parameter mit statistisch belegbarer Auswirkung auf das Überleben. Während die Färbungen alleine keine signifikante prognostische Aussagekraft aufwiesen, ging eine doppelt positive Koexpression hingegen mit einem statistisch signifikant kürzeren medianen Überleben einher als bei allen anderen Färbungskombinationen (6,3 Monate vs. 22,6 Monate). Eine Überexpression der Glyoxalase 1 wurde auch in der Literatur bereits für einige Tumorentitäten als schlechter Prognosefaktor identifiziert (146, 162, 165).

Betrachtet man die einzelnen Therapiearme, geht eine positive Glyoxalase-Färbung über alle Behandlungsregime hinweg mit einem tendenziell schlechteren Überleben einher. Für die Argpyrimidin-Färbung fällt in der Gruppe der Systemtherapierten eine Besonderheit auf: Zeigt das Präparat nach der Systemtherapie eine positive Färbung, deutet dies auf ein besseres Überleben hin (nicht signifikant). Auch wenn man die Färbung vor Therapiebeginn betrachtet, weisen in der Gruppe der MAGE-positiv-gefärbten Präparate die Systemtherapierten das längste mediane Überleben auf (nicht signifikant). Eine positive Argpyrimidin-Färbung könnte also prädiktiv für das Anwenden einer Systemtherapie (Chemotherapie und/oder Radiatio) sein. Dieser Umstand ist bisher in der Literatur noch nicht beschrieben und müsste nochmals an einem größeren Kollektiv bestätigt werden.

Diese Arbeit war die erste, die die Expression von Argpyrimidin als Vertreter der advanced glycation end products im ösophagealen Plattenepithelkarzinom untersucht hat. Es zeigte sich kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Expression von Argpyrimidin und der Glyoxalase 1. Dies könnte zum einen dadurch erklärt werden, dass es auch alternative

Abbauewege für Argpyrimidin gibt (7) und zum anderen dadurch, dass Argpyrimidin nicht stellvertretend für alle AGEs betrachtet werden kann. Die Konzentrationen verschiedener AGEs können sich durchaus unterscheiden (173). Im Vergleich zu anderen AGEs wirkt Argpyrimidin außerdem nicht nur zytotoxisch, sondern kann über eine Modifikation des heat shock proteins 27 auch wachstumsfördernd wirken (173). Darüber hinaus erwies sich Argpyrimidin in dieser Arbeit für Patient:innen, die eine Systemtherapie erhalten sollten, sowohl prognostisch als auch für die Therapieentscheidung relevant: Hohe Level an Argpyrimidin vor Behandlungsbeginn könnten ein Hinweis darauf sein, dass der/die Patient:in von einer Systemtherapie profitieren könnte. Hohe Level nach der Systemtherapie wiederum deuten auf ein gutes Ansprechen hin.

Zusammenfassend konnte eine allgemeine Überexpression der Glyoxalase 1 und eine Assoziation dieser zu einem fortgeschritteneren Tumorleiden für das ösophageale Plattenepithelkarzinom in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden. Dennoch weist ein stärkeres Vorkommen der Glyoxalase 1 gemeinsam mit hohen Leveln an AGEs auf eine schlechte Prognose hin. Gerade in Hinblick auf die geringe Überlebensrate beim Ösophaguskarzinom unter den aktuellen Therapien wären Zellversuche mit einem GLO1-Inhibitor sinnvoll, die bisher in der Literatur für diese Tumorentität noch nicht beschrieben wurden. Bei anderen Tumorentitäten erwiesen sich diese im Zellversuch bereits als äußerst vielversprechend (161). Vor allem für Krebserkrankungen, die eine multi drug resistance gegenüber konventionellen Chemotherapeutika aufweisen, stellen GLO1-Inhibitoren eine Chance dar und könnten in Zukunft auch in der klinischen Praxis Anwendung finden.

7. Anhang

7.1. Ergänzungen zu 4.1: Deskription des Patient:innenkollektivs

7.1.1. Vollständige Deskription des gesamten IHC-Kollektivs (n=109) und des ausgewerteten Kollektivs (n=99) im Vergleich

Tabelle 34 Deskription des gesamten IHC-Kollektivs und des ausgewerteten Kollektivs

		IHC-Kollektiv		Ausgewertete Färbung	
		Anzahl/ Wert	Häufigkeit in %	Anzahl/ Wert	Häufigkeit in %
Gesamtzahl		109		99	
Alter bei Erstdiagnose	Mittelwert	67,2		67	
	Minimum	45,4		45,4	
	Maximum	87,6		87,6	
Geschlecht	männlich	75	68,8	67	67,7
	weiblich	34	31,2	32	32,3
Nikotinkonsum in der Vorgeschichte	nein	35	32,1	32	32,3
	ja	74	67,9	67	67,7
Pack years	Mittelwert	39,92		39,69	
	Minimum	2		2	
	Maximum	100		100	
	unbekannt	60		54	
Alkoholabusus in der Vorgeschichte	nein	50	45,9	43	43,4
	ja	59	54,1	56	56,6
synchrone/metachrone Kopf-/Halstumore/andere Tumore	nein	73	67	65	65,7
	ja	36	33	34	34,3
Strahlentherapie im Hals-/Thoraxbereich	nein	59	54,1	53	53,5
	ja	20	18,3	19	19,2
	unbekannt	30	27,5	27	27,3
Gastroösophagealer Reflux	nein	1	0,9	1	1
	ja	24	22	23	23,2
	unbekannt	84	77,1	75	75,8
BMI	Mittelwert	23,743		23,702	
	Minimum	14,5		14,5	
	Maximum	34,9		34,9	
	unbekannt	13		13	
BMI Einteilung	Untergewicht	10	9,2	10	10,1
	Normalgewicht	50	45,9	44	44,4
	Übergewicht	36	33,0	32	32,3
	unbekannt	13	11,9	13	13,1
Tumorphöhe	proximal	29	26,6	27	27,3
	mittig	41	37,6	38	38,4
	distal	33	30,3	28	28,3

	unbekannt/ mehrstufiger Tumor	6	5,5	6	6,1
Grading	1	1	0,9	1	1,0
	2	46	42,2	44	44,4
	3	47	43,1	42	42,2
	4	1	0,9	1	1,0
	unbekannt	14	12,8	11	11,1
T-Stadium	T1	6	5,5	6	6,1
	T2	12	11	11	11,1
	T3	34	31,2	31	31,3
	T4	28	25,7	24	24,2
	Tis	1	0,9	1	1
	unbekannt	28	25,7	26	26,3
N-Stadium	0	19	17,4	18	18,2
	1	41	37,6	36	36,4
	2	13	11,9	13	13,1
	plus	25	22,9	22	22,2
	unbekannt	11	10,1	10	10,1
M-Stadium	0	64	58,7	55	55,6
	1	27	24,8	27	27,3
	unbekannt	18	16,5	17	17,2
Metastasenort	keine/ unbekannte Metastasierung	80	73,4	72	72,7
	LK	7	6,4	6	6,1
	Leber-Typ	7	6,4	7	7,1
	Lungen-Typ	8	7,3	8	8,1
	Multiple Metastasen	7	6,4	6	6,1
Tumormarker Erstdiagnose	bei nicht pathologisch	19	17,4	15	15,2
	pathologisch	15	13,8	14	14,1
	nicht bestimmt/ fehlend	75	68,8	70	70,7
HP-Status	HP negativ	100	91,7	92	92,9
	HP positiv	9	8,3	7	7,1
HPV-Status	HPV negativ	105	96,3	96	97
	HPV positiv	4	3,7	3	3

7.1.2. Darstellungen zu 4.1.1

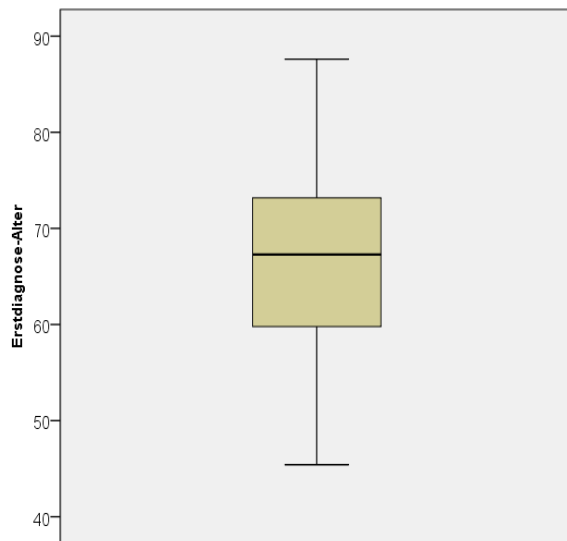


Abbildung 27 Erstdiagnosealter im ausgewerteten Kollektiv

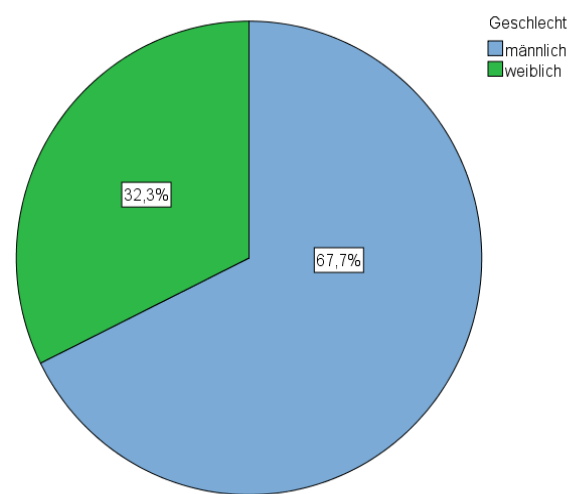


Abbildung 28 Geschlechterverteilung im ausgewerteten Kollektiv

7.2. Darstellungen zu 4.1.2

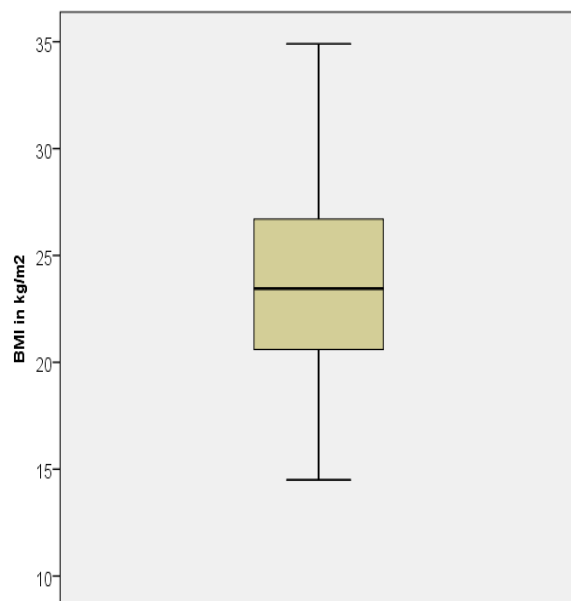


Abbildung 29 BMI-Verteilung im ausgewerteten Kollektiv

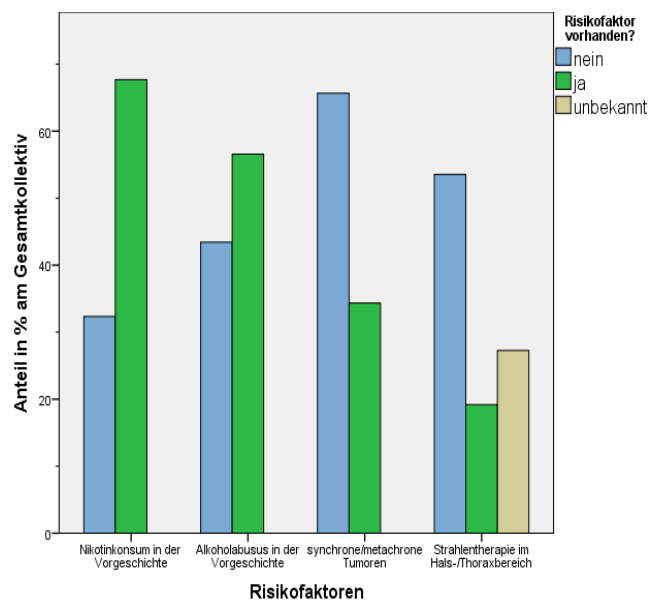


Abbildung 30 Verteilung der Risikofaktoren im ausgewerteten Kollektiv

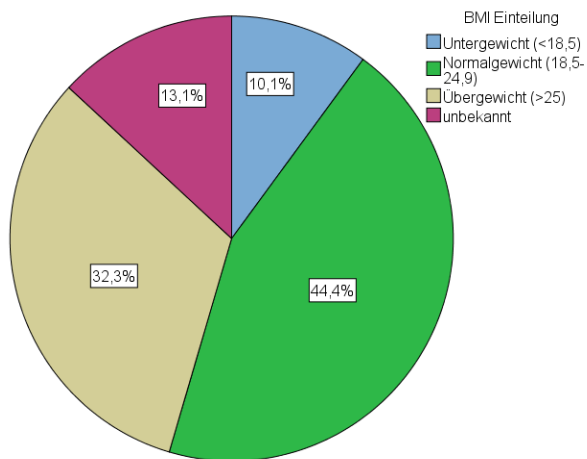


Abbildung 31 Verteilung auf die BMI-Gruppen im ausgewerteten Kollektiv

7.3. Darstellungen zu 4.1.3

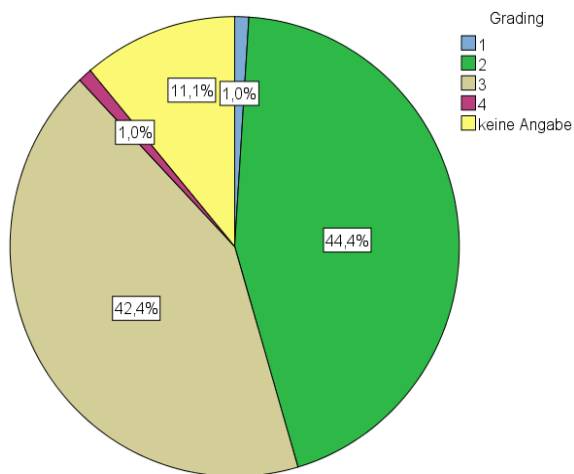


Abbildung 33 Grading im ausgewerteten Kollektiv

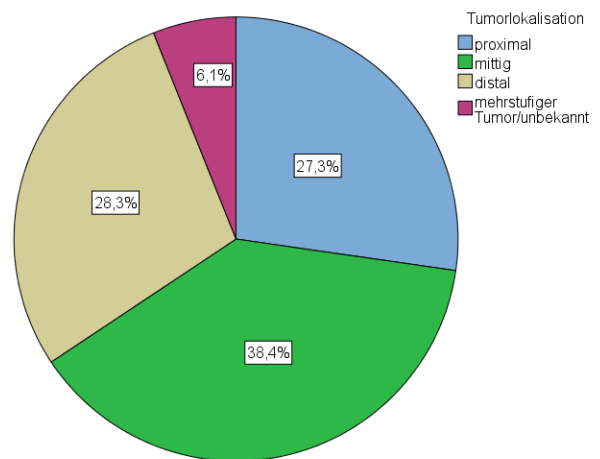


Abbildung 34 Tumorlokalisation im ausgewerteten Kollektiv

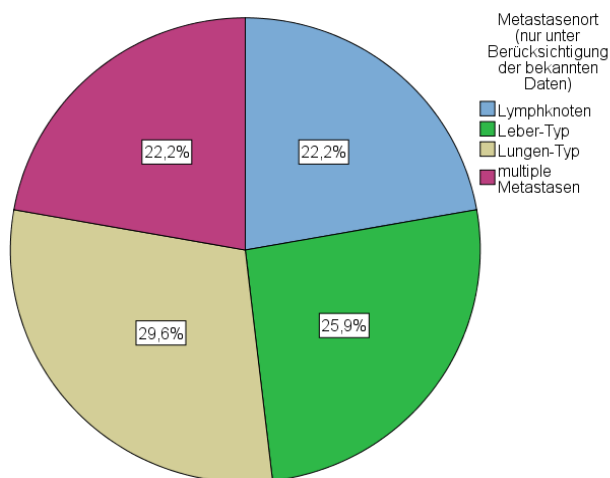


Abbildung 32 Metastasenort im ausgewerteten Kollektiv

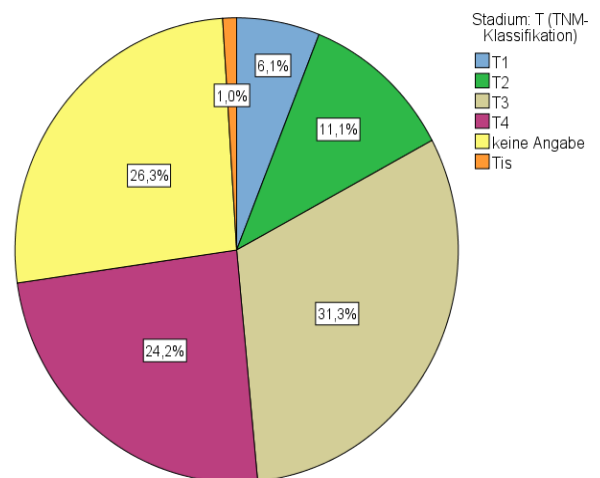


Abbildung 35 T-Stadium im ausgewerteten Kollektiv

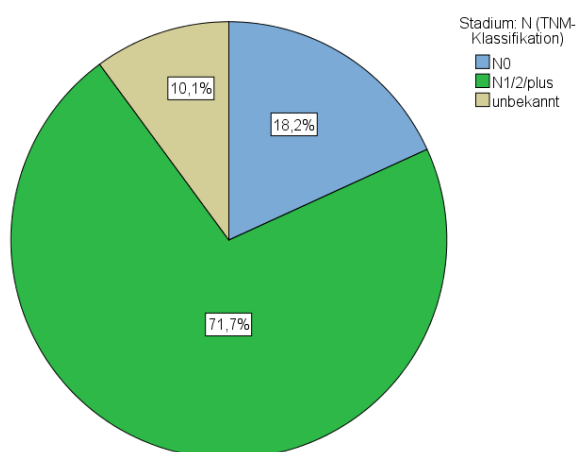


Abbildung 37 N-Stadium im ausgewerteten Kollektiv

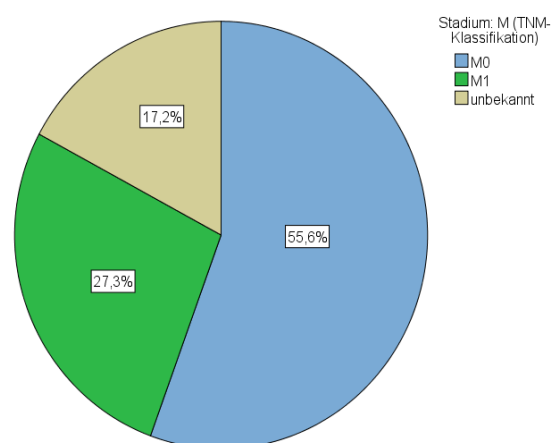


Abbildung 36 M-Stadium im ausgewerteten Kollektiv

7.4. Darstellungen zu 4.1.4

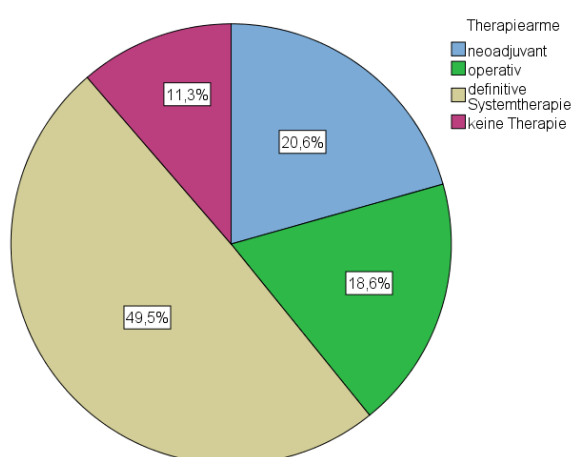


Abbildung 38 Verteilung auf die Therapiearme

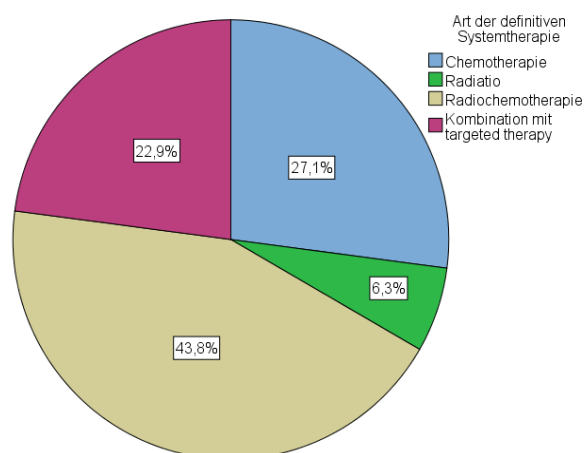


Abbildung 39 Art der definitiven Systemtherapie

7.5. Ergänzungen zu 4.2: Deskription der IHC-Ergebnisse

7.5.1. Darstellungen zu 4.2.1

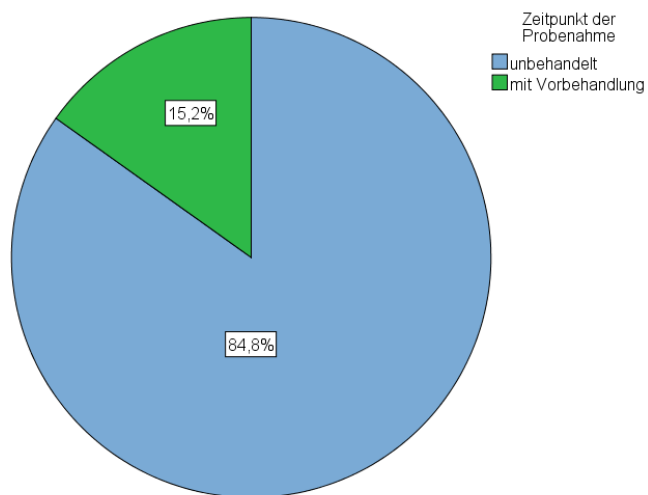


Abbildung 40 Zeitpunkt der Probenahme

7.5.2. Darstellungen zu 4.2.2

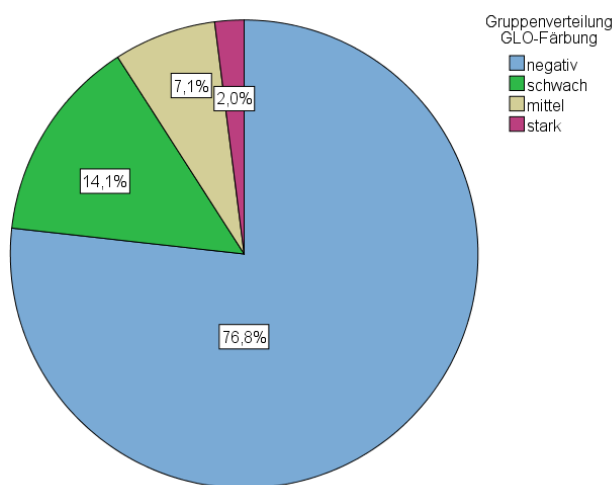


Abbildung 41 Verteilung in die Gruppen negativ, schwach, moderat und stark für die GLO-Färbung

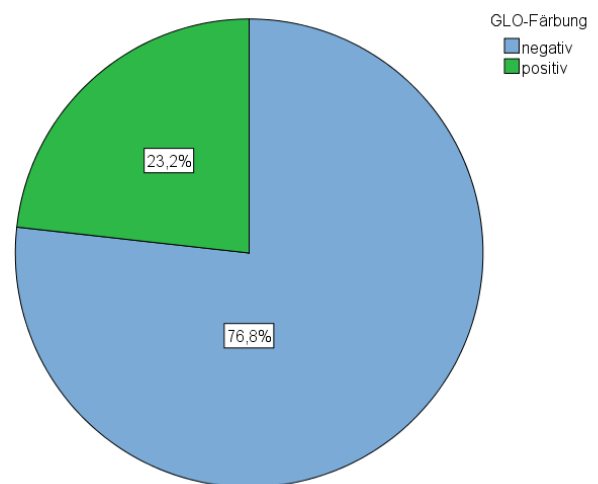


Abbildung 42 Verteilung in die Gruppen negativ und positiv für die GLO-Färbung

7.5.3. Darstellungen zu 4.2.3

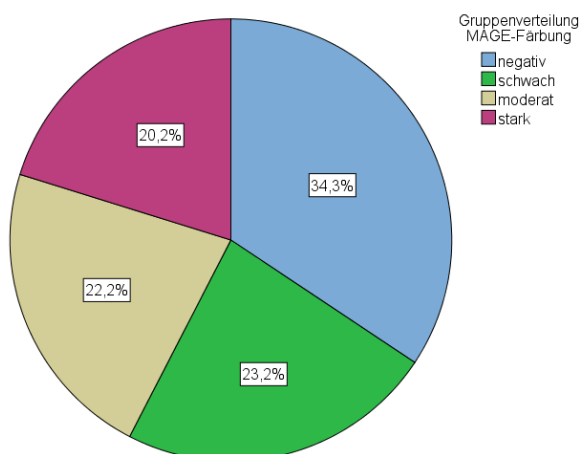


Abbildung 44 Verteilung in die Gruppen negativ, schwach, moderat und stark für die MAGE-Färbung

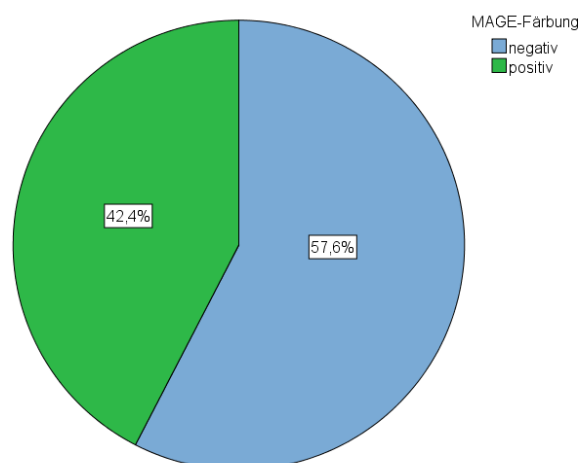


Abbildung 43 Verteilung in die Gruppen negativ und positiv für die MAGE-Färbung

7.6. Ergänzungen zu 4.3: Zusammenhänge zwischen IHC-Färbeergebnissen und den erhobenen Variablen

7.6.1. Vollständige statistische Analyse der Zusammenhänge zwischen den Färbungen und den Patient:innendaten

Tabelle 35 Kreuztabellen für die GLO- und MAGE-Färbung hinsichtlich des Geschlechts

Kategoriale Patient*innen-daten		GLO-Färbung			MAGE-Färbung		
		negativ	positiv	Sign. nach Fisher	negativ	positiv	Sign. nach Fisher
Geschlecht	männlich	54	13	0,211	39	28	1
		71,10%	56,50%		68,40%	66,70%	
	weiblich	22	10		18	14	
		28,90%	43,50%		31,60%	33,30%	

Tabelle 36 Zusammenhänge zwischen dem Geschlecht und dem GLO- und MAGE-IRS-Score

Kategoriale Patient:innendaten		GLO-IRS-Score		MAGE-IRS-Score	
		Rang-Mittelwert	Sign. nach MWUT	Rang-Mittelwert	Sign. nach MWUT
Geschlecht	männlich	48	0,263	50,1	0,974
	weiblich	54,2		49,9	

Tabelle 37 Korrelation zwischen dem Alter und dem GLO- und MAGE-IRS-Score

Stetige Patient:innendaten	GLO-IRS-Score		MAGE-IRS-Score	
	Korrelation (Spearman)	Signifikanz	Korrelation (Spearman)	Signifikanz
Alter	0,14	0,167	-0,24	0,017

7.6.2. Vollständige statistische Analyse der Zusammenhänge zwischen den Färbungen und den Risikofaktoren

Tabelle 38 Kreuztabellen für die GLO- und MAGE-Färbung hinsichtlich der Risikofaktoren

Kategoriale Risikofaktoren		GLO-Färbung		Sign. nach Fisher/Chi Quadrat	MAGE-Färbung		Sign. nach Fisher/Chi Quadrat
		negativ	positiv		negativ	positiv	
Nikotinkonsum	nein	25	7	1	21	11	0,286
		32,90%	30,40%		36,80%	26,20%	
	ja	51	16		36	31	
		67,10%	69,60%		63,20%	73,80%	
Alkoholkonsum	nein	34	9	0,811	23	20	0,54
		44,70%	39,10%		40,40%	47,60%	
	ja	42	14		34	22	
		55,30%	60,90%		59,60%	52,40%	
synchrone/ metachrone Tumoren	nein	50	15	1	36	29	0,669
		65,80%	65,20%		63,20%	69,00%	
	ja	26	8		21	13	
		34,20%	34,80%		36,80%	31,00%	
Strahlentherapie im Hals-/Thorax-bereich	nein	42	11	0,747	31	22	0,79
		72,40%	78,60%		72,10%	75,90%	
	ja	16	3		12	7	
		27,60%	21,40%		27,90%	24,10%	
Gastroösophagealer Reflux (Prozente hier zeilenweise wegen ungleicher Verteilung)	nein	1	0	0,433	0	1	0,617
		100,00%	0,00%		0,00%	100,00%	
	ja	20	3		14	9	
		87,00%	13,00%		60,90%	39,10%	
	Un-bekannt	55	20		43	32	
		73,30%	26,70%		57,30%	42,70%	
Übergewicht (BMI>25)	nein	44	10	0,122	29	25	0,502
		67,70%	47,60%		59,20%	67,60%	
	ja	21	11		20	12	
		32,30%	52,40%		40,80%	32,40%	
Untergewicht (BMI<18,5)	nein	58	18	0,701	45	31	0,316
		89,20%	85,70%		91,80%	83,80%	
	ja	7	3		4	6	
		10,80%	14,30%		8,20%	16,20%	

Tabelle 39 Zusammenhänge zwischen dem GLO- und MAGE-IRS-Score und dem Vorkommen von Risikofaktoren

Kategoriale Risikofaktoren		GLO-IRS-Score		MAGE-IRS-Score	
		Rang-Mittelwert	Sign. nach MWUT	Rang-Mittelwert	Sign. nach MWUT
Nikotinkonsum	nein	53,13	0,404	44,5	0,184
	ja	48,51		52,63	
Alkoholkonsum	nein	50,72	0,807	51,29	0,694
	ja	49,45		49,01	
synchrone/metachrone Tumoren	nein	48,84	0,536	50,59	0,776
	ja	52,22		48,87	
Strahlentherapie im Hals-/Thoraxbereich	nein	36,06	0,74	37,04	0,718
	ja	37,74		35	
Übergewicht	nein	39,17	0,02	43,06	0,828
	ja	50,81		44,23	
Untergewicht	nein	43,65	0,875	42,11	0,148
	ja	42,35		54,1	

Tabelle 40 Korrelationen zwischen dem GLO- und MAGE-IRS-Score und dem BMI bzw. den pack years

Stetige Risikofaktoren	GLO-IRS-Score		MAGE-IRS-Score	
	Korrelation (Spearman)	Signifikanz	Korrelation (Spearman)	Signifikanz
BMI	0,188	0,082	-0,058	0,599
Pack years	0,135	0,375	-0,115	0,451

7.6.3. Vollständige statistische Analyse der Zusammenhänge zwischen den Färbungen und den Tumordaten

Tabelle 41 Kreuztabellen für die GLO- und MAGE-Färbung hinsichtlich der Tumordaten

Tumordaten		GLO-Färbung		Sign. nach Fisher/Chi Quadrat	MAGE-Färbung		Sign. nach Fisher/Chi Quadrat
		negativ	positiv		negativ	positiv	
Tumorhöhe	proximal	25	2	0,009	15	12	0,964
		35,7%	8,7		27,8%	30,8%	
	mittig	29	9		22	16	
		41,4%	39,1		40,7%	41,0%	
	distal	16	12		17	11	
		22,9%	52,2		31,5%	28,2%	
T-Stadium	T1/2	14	4	0,766	11	7	0,594
		25,90%	21,10%		27,50%	21,20%	
	T3/4	40	15		29	26	
		74,10%	78,90%		72,50%	78,80%	
N-Stadium	N0	14	4	1	10	8	1
		20,90%	18,20%		20,40%	20,00%	

	N+	53	18		39	32	
		79,10%	81,80%		79,60%	80,00%	
M-Stadium	M0	44	11	0,406	29	26	0,479
		69,80%	57,90%		63,00%	72,20%	
	M1	19	8		17	10	
		30,20%	42,10%		37,00%	27,80%	
Metastasenort	LK	5	1	0,341	5	1	0,727
		26,30%	12,50%		29,40%	10,00%	
	Leber	3	4		4	3	
		15,80%	50,00%		23,50%	30,00%	
	Lunge	6	2		5	3	
		31,60%	25,00%		29,40%	30,00%	
	multiple	5	1		3	3	
		26,30%	12,50%		17,60%	30,00%	
Grading	G1/2	34	11	1	27	18	1
		51,50%	50,00%		51,90%	50,00%	
	G3/4	32	11		25	18	
		48,50%	50,00%		48,10%	50,00%	
Tumormarker pathologisch	nein	11	4	0,651	8	7	0,45
		47,80%	66,70%		44,40%	63,60%	
	ja	12	2		10	4	
		52,20%	33,30%		55,60%	36,40%	
HP-Status	negativ	70	22	1	52	40	0,695
		92,10%	95,70%		91,20%	95,20%	
	positiv	6	1		5	2	
		7,90%	4,30%		8,80%	4,80%	
HPV-Status	negativ	74	22	0,552	54	42	0,26
		97,40%	95,70%		94,70%	100,00%	
	positiv	2	1		3	0	
		2,60%	4,30%		5,30%	0,00%	
R-Status	R0	16	8	0,601	13	11	0,613
		88,90%	80,00%		81,30%	91,70%	
	R1	2	2		3	1	
		11,10%	20,00%		18,80%	8,30%	

Tabelle 42 Zusammenhänge zwischen dem GLO- und MAGE-IRS-Score und den Tumordaten

Tumordaten		GLO-IRS-Score		MAGE-IRS-Score	
		Rang-Mittelwert	Sign. nach MWUT/KWT	Rang-Mittelwert	Sign. nach MWUT/KWT
Tumorhöhe	proximal	41,96	0,275	48,76	0,814
	mittig	46,59		44,88	
	distal	52,41		48,18	
T-Stadium	T1/2	33,86	0,422	34,72	0,602
	T3/4	38,03		37,75	

N-Stadium	N0	39,53	0,274	47	0,716
	N+	46,39		44,49	
M-Stadium	M0	39,06	0,141	44,58	0,091
	M1	46,46		35,22	
Metastasenort	LK	10,67	0,076	11,67	0,87
	Leber	17,43		14,14	
	Lunge	17,19		14,94	
	multiple	9,08		14,92	
Grading	G1/2	41,83	0,269	46,16	0,532
	G3/4	47,29		42,77	
Tumormarker pathologisch	ja	15,33	0,847	17,57	0,093
	nein	14,64		12,25	
HP-Status	negativ	49,67	0,652	50,27	0,745
	positiv	54,29		46,5	
HPV-Status	negativ	49,23	0,141	50,54	0,308
	positiv	74,67		32,83	
R-Status	R0	14,25	0,728	15,19	0,291
	R1	16		10,38	

7.6.4. Vollständige statistische Analyse der Zusammenhänge zwischen den Färbungen und der Art der Probenahme

Tabelle 43 Kreuztabellen für die GLO- und MAGE-Färbung hinsichtlich der Art der Probenahme

Art der Probenahme		GLO-Färbung		Sign. nach Fisher	MAGE-Färbung		Sign. nach Fisher
		negativ	positiv		negativ	positiv	
Zeitpunkt der Probenahme	unbehandelt	65	19	0,745	54	30	0,003
		85,53%	82,61%		94,74%	71,43 %	
	mit Vorbehandlung	11	4		3	12	
		14,47%	17,39%		5,26%	28,57 %	
Biopsie oder Großpräparat	Biopsie	59	12	0,032	44	27	0,181
		77,60%	52,20%		77,20%	64,30%	
	Großpräparat	17	11		13	15	
		22,40%	47,80%		22,80%	35,70%	

Tabelle 44 Zusammenhänge zwischen dem GLO- und MAGE-IRS-Score und der Art der Probenahme

Art der Probenahme		GLO-IRS-Score		MAGE-IRS-Score	
		Rang-Mittelwert	Sign. nach MWUT	Rang-Mittelwert	Sign. nach MWUT
Zeitpunkt der Probenahme	unbehandelt	49,89	0,931	47,17	0,018
	mit Vorbehandlung	50,6		65,87	
		Biopsie	47,85	0,186	46,98

Biopsie oder Großpräparat	55,45	57,66
----------------------------------	-------	-------

7.7. Ergänzungen zu 4.4: Überlebenszeitanalysen

7.7.1. Vollständige Überlebenszeitanalysen hinsichtlich der Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten

Tabelle 45 Überleben hinsichtlich der Patient:innendaten, Risikofaktoren und Tumordaten

Variable		Anzahl	medianes Überleben	log rank
Geschlecht	männlich	67	21,7	0,736
	weiblich	32	21,7	
Alter bei Erstdiagnose über/unter 65 Jahre	Alter <65 Jahre	43	22,1	0,457
	Alter >= 65 Jahre	56	21,7	
Nikotinkonsum in der Vorgeschichte	nein	32	29,5	0,27
	ja	67	18,3	
Alkoholabusus in der Vorgeschichte	nein	43	21,7	0,74
	ja	56	22,1	
synchrone/metachrone Kopf-/Halstumore/andere Tumore	nein	65	25,3	0,72
	ja	34	17,6	
Strahlentherapie im Hals-/Thoraxbereich	nein	53	29,5	0,43
	ja	19	17,6	
BMI Einteilung	Untergewicht	10	5,9	0,002
	Normalgewicht	44	21,7	
	Übergewicht	32	39,9	
Tumorhöhe	proximal	27	22,6	0,779
	mittig	38	21,7	
	distal	28	15,5	
T-Stadium	T1/2	18	40	0,159
	T3/4	55	18,3	
N-Stadium	N0	18	53,3	0,063
	N+	71	18,3	
M-Stadium	M0	55	25,3	0,288
	M1	27	13,1	
Grading	G1/2	45	25,3	0,511
	G3/4	43	15,5	
Tumormarker pathologisch	nein	15	25,3	0,806
	ja	14	21,7	
R-Status	R0	24	40	0,048
	R1	4	6,3	

8. Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Herrn. Prof. M. Möhler bedanken für die Begutachtung dieser Dissertation und für die freundliche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. A. Maderer, die mich von Anfang an bei meiner Arbeit begleitet hat und zu jeder Zeit für Fragen offenstand. Ich habe mich in der AG Möhler sowohl fachlich als auch menschlich immer sehr gut aufgehoben gefühlt.

Außerdem möchte ich mich beim Institut für Pathologie für die Unterstützung in der Beurteilung der Immunhistochemie sowie dem Institut für medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik der Universitätsmedizin Mainz für die Hilfe bei der statistischen Auswertung bedanken.

Ein großer Dank gilt auch meiner Familie, meinen Freunden und Freundinnen und meinem Partner, die mir all die Jahre unterstützend zur Seite standen und mich zu dieser Arbeit ermutigt haben.

9. Literaturverzeichnis

1. Krebs in Deutschland für 2019/2020. 14. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2023.
2. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Diagnostik und Therapie der Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome des Ösophagus, Langversion 4.0, 2023, AWMF-Registernummer: 021-023OL
<https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/oesophaguskarzinom/>;
Zugriff am 25.07.2024.
3. Krebs in Deutschland für 2017/2018. 13. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2021
https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2021/krebs_in_deutschland_2021.pdf?__blob=publicationFile
Zugriff am 22.10.2022.
4. Sewram V, Sitas F, O'Connell D, Myers J. Tobacco and alcohol as risk factors for oesophageal cancer in a high incidence area in South Africa. *Cancer Epidemiol.* 2016;41:113-21.
5. Herold G. *Innere Medizin* 2019. Berlin 2019. p. 441-3.
6. Leone A, Nigro C, Nicolò A, Prevezano I, Formisano P, Beguinot F, et al. The Dual-Role of Methylglyoxal in Tumor Progression - Novel Therapeutic Approaches. *Front Oncol.* 2021;11:645686.
7. Kold-Christensen R, Johannsen M. Methylglyoxal Metabolism and Aging-Related Disease: Moving from Correlation toward Causation. *Trends Endocrinol Metab.* 2020;31(2):81-92.
8. He Y, Zhou C, Huang M, Tang C, Liu X, Yue Y, et al. Glyoxalase system: A systematic review of its biological activity, related-diseases, screening methods and small molecule regulators. *Biomed Pharmacother.* 2020;131:110663.
9. Rabbani N, Xue M, Weickert MO, Thornalley PJ. Multiple roles of glyoxalase 1-mediated suppression of methylglyoxal glycation in cancer biology-Involvement in tumour suppression, tumour growth, multidrug resistance and target for chemotherapy. *Semin Cancer Biol.* 2018;49:83-93.
10. Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal cancer. *N Engl J Med.* 2003;349(23):2241-52.
11. Piper W. *Innere Medizin. Springer-Lehrbuch.* 2nd ed. 2013 ed. Berlin, Heidelberg 2013.
12. Stöver I, Feyer P. Ösophaguskarzinom. *Praxismanual Strahlentherapie.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018. p. 179-88.
13. TNM - Klassifikation maligner Tumoren. In: Wittekind C, editor. *Achte Auflage* ed. Weinheim, Germany 2017.
14. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
15. Arnold M, Laversanne M, Brown LM, Devesa SS, Bray F. Predicting the Future Burden of Esophageal Cancer by Histological Subtype: International Trends in Incidence up to 2030. *Am J Gastroenterol.* 2017;112(8):1247-55.
16. Eileen Morgan IS, Harriet Rumgay, Helen G. Coleman, Aaron P. Thrift, Jérôme Vignat, Mathieu Laversanne, Jacques Ferlay, Melina Arnold. The Global Landscape of Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Esophageal Adenocarcinoma Incidence and Mortality in 2020 and Projections to 2040: New Estimates From GLOBOCAN 2020. *Gastroenterology.* 2022;163(3):649-58.

17. McCormack VA MD, Munishi MO, et al. Informing etiologic research priorities for squamous cell esophageal cancer. *Int J Cancer*. 2017;140:259-71.
18. Abnet CC, Arnold M, Wei WQ. Epidemiology of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Gastroenterology*. 2018;154(2):360-73.
19. Naseri A, Salehi-Pourmehr H, Majidazar R, Seraji P, Rezazadeh-Gavgani E, Zehtabi M, et al. Systematic Review and Meta-analysis of the Most Common Genetic Mutations in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *J Gastrointest Cancer*. 2022;53(4):1040-9.
20. Allgemeine und Spezielle Pathologie. In: Riede U-N, Werner M, editors. Springer-Lehrbuch. 2nd ed. 2017 ed. Berlin, Heidelberg 2017.
21. Steevens J, Schouten LJ, Goldbohm RA, van den Brandt PA. Alcohol consumption, cigarette smoking and risk of subtypes of oesophageal and gastric cancer: a prospective cohort study. *Gut*. 2010;59(1):39-48.
22. Yuan JM, Knezevich AD, Wang R, Gao YT, Hecht SS, Stepanov I. Urinary levels of the tobacco-specific carcinogen N'-nitrosonornicotine and its glucuronide are strongly associated with esophageal cancer risk in smokers. *Carcinogenesis*. 2011;32(9):1366-71.
23. Abedi-Ardekani B, Kamangar F, Hewitt SM, Hainaut P, Sotoudeh M, Abnet CC, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in oesophageal tissue and risk of oesophageal squamous cell carcinoma in north-eastern Iran. *Gut*. 2010;59(9):1178-83.
24. Lubin JH, Cook MB, Pandeya N, Vaughan TL, Abnet CC, Giffen C, et al. The importance of exposure rate on odds ratios by cigarette smoking and alcohol consumption for esophageal adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in the Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma Consortium. *Cancer Epidemiol*. 2012;36(3):306-16.
25. Islami F, Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, Jenab M, Scotti L, et al. Alcohol drinking and esophageal squamous cell carcinoma with focus on light-drinkers and never-smokers: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 2011;129(10):2473-84.
26. Ohashi S, Miyamoto S, Kikuchi O, Goto T, Amanuma Y, Muto M. Recent Advances From Basic and Clinical Studies of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Gastroenterology*. 2015;149(7):1700-15.
27. Yang SJ, Yokoyama A, Yokoyama T, Huang YC, Wu SY, Shao Y, et al. Relationship between genetic polymorphisms of ALDH2 and ADH1B and esophageal cancer risk: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2010;16(33):4210-20.
28. Zendehdel K, Nyrén O, Edberg A, Ye W. Risk of esophageal adenocarcinoma in achalasia patients, a retrospective cohort study in Sweden. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(1):57-61.
29. Okonta KE, Tettey M, Abubakar U. In patients with corrosive oesophageal stricture for surgery, is oesophagectomy rather than bypass necessary to reduce the risk of oesophageal malignancy? *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2012;15(4):713-5.
30. Zablotska LB, Chak A, Das A, Neugut AI. Increased risk of squamous cell esophageal cancer after adjuvant radiation therapy for primary breast cancer. *Am J Epidemiol*. 2005;161(4):330-7.
31. Steinberg J, Schwertner C, de Villiers EM, Mir-Salim P, Kiesslich R, Stoelzel U, et al. [Coincidental squamous cell cancers of the esophagus and head and neck: risk and surveillance]. *Z Gastroenterol*. 2007;45(8):710-4.
32. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med*. 2007;356(19):1944-56.
33. Zhang SK, Guo LW, Chen Q, Zhang M, Liu SZ, Quan PL, et al. Prevalence of human papillomavirus 16 in esophageal cancer among the Chinese population: a systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(23):10143-9.
34. Integrated genomic characterization of oesophageal carcinoma. *Nature*. 2017;541(7636):169-75.
35. Chen T, Cheng H, Chen X, Yuan Z, Yang X, Zhuang M, et al. Family history of esophageal cancer increases the risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Sci Rep*. 2015;5:16038.

36. Blaydon DC, Etheridge SL, Risk JM, Hennies HC, Gay LJ, Carroll R, et al. RHBDF2 mutations are associated with tylosis, a familial esophageal cancer syndrome. *Am J Hum Genet.* 2012;90(2):340-6.
37. Rosenberg PS, Alter BP, Ebell W. Cancer risks in Fanconi anemia: findings from the German Fanconi Anemia Registry. *Haematologica.* 2008;93(4):511-7.
38. Wen CP, Tsai MK, Chung WS, Hsu HL, Chang YC, Chan HT, et al. Cancer risks from betel quid chewing beyond oral cancer: a multiple-site carcinogen when acting with smoking. *Cancer Causes Control.* 2010;21(9):1427-35.
39. Islami F, Ren JS, Taylor PR, Kamangar F. Pickled vegetables and the risk of oesophageal cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer.* 2009;101(9):1641-7.
40. Islami F, Boffetta P, Ren JS, Pedoeim L, Khatib D, Kamangar F. High-temperature beverages and foods and esophageal cancer risk--a systematic review. *Int J Cancer.* 2009;125(3):491-524.
41. Liu J, Wang J, Leng Y, Lv C. Intake of fruit and vegetables and risk of esophageal squamous cell carcinoma: a meta-analysis of observational studies. *Int J Cancer.* 2013;133(2):473-85.
42. Rubenstein JH, Taylor JB. Meta-analysis: the association of oesophageal adenocarcinoma with symptoms of gastro-oesophageal reflux. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;32(10):1222-7.
43. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, Sørensen HT, Funch-Jensen P. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med.* 2011;365(15):1375-83.
44. Turati F, Tramacere I, La Vecchia C, Negri E. A meta-analysis of body mass index and esophageal and gastric cardia adenocarcinoma. *Ann Oncol.* 2013;24(3):609-17.
45. Aymaz S HU, Mueller-Gerbes D, Dormann A. Maligne Obstruktion im Gastrointestinaltrakt. *Gastroenterologe.* 2011;6:387-93.
46. Kidambi T, Toto E, Ho N, Taft T, Hirano I. Temporal trends in the relative prevalence of dysphagia etiologies from 1999-2009. *World J Gastroenterol.* 2012;18(32):4335-41.
47. Gerdes C, Reinecke J, Neeße A, Borggrefe J, Kröger JR. [State of the Art Diagnostics of the Esophagus]. *Ther Umsch.* 2022;79(3-4):121-31.
48. Park WG, Shaheen NJ, Cohen J, Pike IM, Adler DG, Inadomi JM, et al. Quality indicators for EGD. *Gastrointest Endosc.* 2015;81(1):17-30.
49. Meves V, Behrens A, Pohl J. Diagnostics and Early Diagnosis of Esophageal Cancer. *Viszeralmedizin.* 2015;31(5):315-8.
50. Eisen GM, Baron TH, Dominitz JA, Faigel DO, Goldstein JL, Johanson JF, et al. Complications of upper GI endoscopy. *Gastrointest Endosc.* 2002;55(7):784-93.
51. Silvis SE, Nebel O, Rogers G, Sugawa C, Mandelstam P. Endoscopic complications. Results of the 1974 American Society for Gastrointestinal Endoscopy Survey. *Jama.* 1976;235(9):928-30.
52. Qumseya BJ, Wang H, Badie N, Uzomba RN, Parasa S, White DL, et al. Advanced imaging technologies increase detection of dysplasia and neoplasia in patients with Barrett's esophagus: a meta-analysis and systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11(12):1562-70.e1-2.
53. Wetzka J, May, A. Ösophaguskarzinome. *Hessisches Ärzteblatt.* 5/2020:283-7.
54. Hori K, Okada H, Kawahara Y, Takenaka R, Shimizu S, Ohno Y, et al. Lugol-voiding lesions are an important risk factor for a second primary squamous cell carcinoma in patients with esophageal cancer or head and neck cancer. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(5):858-66.
55. Muto M, Hironaka S, Nakane M, Boku N, Ohtsu A, Yoshida S. Association of multiple Lugol-voiding lesions with synchronous and metachronous esophageal squamous cell carcinoma in patients with head and neck cancer. *Gastrointest Endosc.* 2002;56(4):517-21.
56. Uedo N, Fujishiro M, Goda K, Hirasawa D, Kawahara Y, Lee JH, et al. Role of narrow band imaging for diagnosis of early-stage esophagogastric cancer: current consensus of experienced endoscopists in Asia-Pacific region. *Dig Endosc.* 2011;23 Suppl 1:58-71.
57. Sharma P, Hawes RH, Bansal A, Gupta N, Curvers W, Rastogi A, et al. Standard endoscopy with random biopsies versus narrow band imaging targeted biopsies in Barrett's oesophagus: a prospective, international, randomised controlled trial. *Gut.* 2013;62(1):15-21.

58. Kumagai Y, Takubo K, Kawada K, Ohue M, Higashi M, Ishiguro T, et al. Endocytoscopic Observation of Esophageal Lesions: Our Own Experience and a Review of the Literature. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(9).
59. Canto MI, Anandasabapathy S, Brugge W, Falk GW, Dunbar KB, Zhang Z, et al. In vivo endomicroscopy improves detection of Barrett's esophagus-related neoplasia: a multicenter international randomized controlled trial (with video). *Gastrointest Endosc*. 2014;79(2):211-21.
60. Fugazza A, Gaiani F, Carra MC, Brunetti F, Lévy M, Sobhani I, et al. Confocal Laser Endomicroscopy in Gastrointestinal and Pancreatobiliary Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2016;2016:4638683.
61. Hatta W, Uno K, Koike T, Yokosawa S, Iijima K, Imatani A, et al. Optical coherence tomography for the staging of tumor infiltration in superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Gastrointest Endosc*. 2010;71(6):899-906.
62. de Groof AJ, Struyvenberg MR, van der Putten J, van der Sommen F, Fockens KN, Curvers WL, et al. Deep-Learning System Detects Neoplasia in Patients With Barrett's Esophagus With Higher Accuracy Than Endoscopists in a Multistep Training and Validation Study With Benchmarking. *Gastroenterology*. 2020;158(4):915-29.e4.
63. Stiles BM, Mirza F, Coppolino A, Port JL, Lee PC, Paul S, et al. Clinical T2-T3N0M0 esophageal cancer: the risk of node positive disease. *Ann Thorac Surg*. 2011;92(2):491-6; discussion 6-8.
64. Jenssen C, Alvarez-Sánchez MV, Napoléon B, Faiss S. Diagnostic endoscopic ultrasonography: assessment of safety and prevention of complications. *World J Gastroenterol*. 2012;18(34):4659-76.
65. Puli SR, Reddy JB, Bechtold ML, Antillon D, Ibdah JA, Antillon MR. Staging accuracy of esophageal cancer by endoscopic ultrasound: a meta-analysis and systematic review. *World J Gastroenterol*. 2008;14(10):1479-90.
66. Pech O, Günter E, Dusemund F, Origer J, Lorenz D, Ell C. Accuracy of endoscopic ultrasound in preoperative staging of esophageal cancer: results from a referral center for early esophageal cancer. *Endoscopy*. 2010;42(6):456-61.
67. Makarawo TP, Negussie E, Malde S, Tilak J, Gayagoy J, Watson J, et al. Water as a contrast medium: a re-evaluation using the multidetector-row computed tomography. *Am Surg*. 2013;79(7):728-33.
68. Gollub MJ, Lefkowitz R, Moskowitz CS, Ilson D, Kelsen D, Felderman H. Pelvic CT in patients with esophageal cancer. *AJR Am J Roentgenol*. 2005;184(2):487-90.
69. Lowe VJ, Booya F, Fletcher JG, Nathan M, Jensen E, Mullan B, et al. Comparison of positron emission tomography, computed tomography, and endoscopic ultrasound in the initial staging of patients with esophageal cancer. *Mol Imaging Biol*. 2005;7(6):422-30.
70. van Vliet EP, Heijenbrok-Kal MH, Hunink MG, Kuipers EJ, Siersema PD. Staging investigations for oesophageal cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2008;98(3):547-57.
71. Wu LF, Wang BZ, Feng JL, Cheng WR, Liu GR, Xu XH, et al. Preoperative TN staging of esophageal cancer: comparison of miniprobe ultrasonography, spiral CT and MRI. *World J Gastroenterol*. 2003;9(2):219-24.
72. Kinkel K, Lu Y, Both M, Warren RS, Thoeni RF. Detection of hepatic metastases from cancers of the gastrointestinal tract by using noninvasive imaging methods (US, CT, MR imaging, PET): a meta-analysis. *Radiology*. 2002;224(3):748-56.
73. Westwood M, Joore M, Grutters J, Redekop K, Armstrong N, Lee K, et al. Contrast-enhanced ultrasound using SonoVue® (sulphur hexafluoride microbubbles) compared with contrast-enhanced computed tomography and contrast-enhanced magnetic resonance imaging for the characterisation of focal liver lesions and detection of liver metastases: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess*. 2013;17(16):1-243.
74. Piscaglia F, Corradi F, Mancini M, Giangregorio F, Tamberi S, Ugolini G, et al. Real time contrast enhanced ultrasonography in detection of liver metastases from gastrointestinal cancer. *BMC Cancer*. 2007;7:171.
75. Schreurs LM, Verhoef CC, van der Jagt EJ, van Dam GM, Groen H, Plukker JT. Current relevance of cervical ultrasonography in staging cancer of the esophagus and gastroesophageal junction. *Eur J Radiol*. 2008;67(1):105-11.

76. Omloo JM, van Heijl M, Smits NJ, Phoa SS, van Berge Henegouwen MI, Sloof GW, et al. Additional value of external ultrasonography of the neck after CT and PET scanning in the preoperative assessment of patients with esophageal cancer. *Dig Surg*. 2009;26(1):43-9.
77. van Overhagen H, Laméris JS, Berger MY, van Pel R, Tilanus HW, Klooswijk AI, et al. Assessment of distant metastases with ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy and cytologic study in carcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Gastrointest Radiol*. 1992;17(4):305-10.
78. Flamen P, Lerut A, Van Cutsem E, De Wever W, Peeters M, Stroobants S, et al. Utility of positron emission tomography for the staging of patients with potentially operable esophageal carcinoma. *J Clin Oncol*. 2000;18(18):3202-10.
79. Quint LE. Thoracic complications and emergencies in oncologic patients. *Cancer Imaging*. 2009;9 Spec No A(Special issue A):S75-82.
80. Wakamatsu T, Tsushima K, Yasuo M, Yamazaki Y, Yoshikawa S, Koide N, et al. Usefulness of preoperative endobronchial ultrasound for airway invasion around the trachea: esophageal cancer and thyroid cancer. *Respiration*. 2006;73(5):651-7.
81. Findlay JM, Bradley KM, Maile EJ, Braden B, Maw J, Phillips-Hughes J, et al. Pragmatic staging of oesophageal cancer using decision theory involving selective endoscopic ultrasonography, PET and laparoscopy. *Br J Surg*. 2015;102(12):1488-99.
82. Wang GQ, Abnet CC, Shen Q, Lewin KJ, Sun XD, Roth MJ, et al. Histological precursors of oesophageal squamous cell carcinoma: results from a 13 year prospective follow up study in a high risk population. *Gut*. 2005;54(2):187-92.
83. Schnell TG, Sontag SJ, Chejfec G, Aranha G, Metz A, O'Connell S, et al. Long-term nonsurgical management of Barrett's esophagus with high-grade dysplasia. *Gastroenterology*. 2001;120(7):1607-19.
84. Kodama M, Kakegawa T. Treatment of superficial cancer of the esophagus: a summary of responses to a questionnaire on superficial cancer of the esophagus in Japan. *Surgery*. 1998;123(4):432-9.
85. Mandard AM, Dalibard F, Mandard JC, Marnay J, Henry-Amar M, Petiot JF, et al. Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. Clinicopathologic correlations. *Cancer*. 1994;73(11):2680-6.
86. Becker K, Mueller JD, Schulmacher C, Ott K, Fink U, Busch R, et al. Histomorphology and grading of regression in gastric carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*. 2003;98(7):1521-30.
87. Meredith KL, Weber JM, Turaga KK, Siegel EM, McLoughlin J, Hoffe S, et al. Pathologic response after neoadjuvant therapy is the major determinant of survival in patients with esophageal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(4):1159-67.
88. Davies AR, Gossage JA, Zylstra J, Mattsson F, Lagergren J, Maisey N, et al. Tumor stage after neoadjuvant chemotherapy determines survival after surgery for adenocarcinoma of the esophagus and esophagogastric junction. *J Clin Oncol*. 2014;32(27):2983-90.
89. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2010;376(9742):687-97.
90. Kamarajah SK, Marson EJ, Zhou D, Wyn-Griffiths F, Lin A, Evans RPT, et al. Meta-analysis of prognostic factors of overall survival in patients undergoing oesophagectomy for oesophageal cancer. *Dis Esophagus*. 2020;33(11).
91. Ancona E, Rampado S, Cassaro M, Battaglia G, Ruol A, Castoro C, et al. Prediction of lymph node status in superficial esophageal carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2008;15(11):3278-88.
92. Stein HJ, Feith M, Bruecher BL, Naehrig J, Sarbia M, Siewert JR. Early esophageal cancer: pattern of lymphatic spread and prognostic factors for long-term survival after surgical resection. *Ann Surg*. 2005;242(4):566-73; discussion 73-5.
93. Pech O, Bollschweiler E, Manner H, Leers J, Ell C, Hölscher AH. Comparison between endoscopic and surgical resection of mucosal esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus at two high-volume centers. *Ann Surg*. 2011;254(1):67-72.

94. Ngamruengphong S, Wolfsen HC, Wallace MB. Survival of patients with superficial esophageal adenocarcinoma after endoscopic treatment vs surgery. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(11):1424-9.e2; quiz e81.
95. Ishihara R, Iishi H, Uedo N, Takeuchi Y, Yamamoto S, Yamada T, et al. Comparison of EMR and endoscopic submucosal dissection for en bloc resection of early esophageal cancers in Japan. *Gastrointest Endosc*. 2008;68(6):1066-72.
96. Guo HM, Zhang XQ, Chen M, Huang SL, Zou XP. Endoscopic submucosal dissection vs endoscopic mucosal resection for superficial esophageal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20(18):5540-7.
97. Probst A MB, Anthuber M, Messmann H. Endoskopische Submukosadisektion (ESD) im Ösophagus. *Z Gastroenterol*. 2013;51:K233.
98. May A, Gossner L, Pech O, Fritz A, Günter E, Mayer G, et al. Local endoscopic therapy for intraepithelial high-grade neoplasia and early adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: acute-phase and intermediate results of a new treatment approach. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2002;14(10):1085-91.
99. Pech O, Behrens A, May A, Nachbar L, Gossner L, Rabenstein T, et al. Long-term results and risk factor analysis for recurrence after curative endoscopic therapy in 349 patients with high-grade intraepithelial neoplasia and mucosal adenocarcinoma in Barrett's oesophagus. *Gut*. 2008;57(9):1200-6.
100. Peerally MF, Bhandari P, Ragunath K, Barr H, Stokes C, Haidry R, et al. Radiofrequency ablation compared with argon plasma coagulation after endoscopic resection of high-grade dysplasia or stage T1 adenocarcinoma in Barrett's esophagus: a randomized pilot study (BRIDE). *Gastrointest Endosc*. 2019;89(4):680-9.
101. Metzger R, Bollschweiler E, Vallböhmer D, Maish M, DeMeester TR, Hölscher AH. High volume centers for esophagectomy: what is the number needed to achieve low postoperative mortality? *Dis Esophagus*. 2004;17(4):310-4.
102. Weimann A, Braga M, Harsanyi L, Laviano A, Ljungqvist O, Soeters P, et al. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Surgery including organ transplantation. *Clin Nutr*. 2006;25(2):224-44.
103. Kurokawa Y, Sasako M, Sano T, Yoshikawa T, Iwasaki Y, Nashimoto A, et al. Ten-year follow-up results of a randomized clinical trial comparing left thoracoabdominal and abdominal transhiatal approaches to total gastrectomy for adenocarcinoma of the oesophagogastric junction or gastric cardia. *Br J Surg*. 2015;102(4):341-8.
104. Omloo JM, Lagarde SM, Hulscher JB, Reitsma JB, Fockens P, van Dekken H, et al. Extended transthoracic resection compared with limited transhiatal resection for adenocarcinoma of the mid/distal esophagus: five-year survival of a randomized clinical trial. *Ann Surg*. 2007;246(6):992-1000; discussion -1.
105. Leers JM, Knepper L, van der Veen A, Schröder W, Fuchs H, Schiller P, et al. The CARDIA-trial protocol: a multinational, prospective, randomized, clinical trial comparing transthoracic esophagectomy with transhiatal extended gastrectomy in adenocarcinoma of the gastroesophageal junction (GEJ) type II. *BMC Cancer*. 2020;20(1):781.
106. Maas KW, Cuesta MA, van Berge Henegouwen MI, Roig J, Bonavina L, Rosman C, et al. Quality of Life and Late Complications After Minimally Invasive Compared to Open Esophagectomy: Results of a Randomized Trial. *World J Surg*. 2015;39(8):1986-93.
107. van der Sluis PC, van der Horst S, May AM, Schippers C, Brosens LAA, Joore HCA, et al. Robot-assisted Minimally Invasive Thoracoscopic Esophagectomy Versus Open Transthoracic Esophagectomy for Resectable Esophageal Cancer: A Randomized Controlled Trial. *Ann Surg*. 2019;269(4):621-30.
108. Espinoza-Mercado F, Imai TA, Borgella JD, Sarkissian A, Serna-Gallegos D, Alban RF, et al. Does the Approach Matter? Comparing Survival in Robotic, Minimally Invasive, and Open Esophagectomies. *Ann Thorac Surg*. 2019;107(2):378-85.
109. Straatman J, van der Wielen N, Cuesta MA, Daams F, Roig Garcia J, Bonavina L, et al. Minimally Invasive Versus Open Esophageal Resection: Three-year Follow-up of the

- Previously Reported Randomized Controlled Trial: the TIME Trial. *Ann Surg.* 2017;266(2):232-6.
110. de Groot EM, van der Horst S, Kingma BF, Goense L, van der Sluis PC, Ruurda JP, et al. Robot-assisted minimally invasive thoracoscopic esophagectomy versus open esophagectomy: long-term follow-up of a randomized clinical trial. *Dis Esophagus.* 2020;33(Supplement_2).
111. Mariette C, Markar SR, Dabakuyo-Yonli TS, Meunier B, Pezet D, Collet D, et al. Hybrid Minimally Invasive Esophagectomy for Esophageal Cancer. *N Engl J Med.* 2019;380(2):152-62.
112. Mariette C, Markar S, Dabakuyo-Yonli TS, Meunier B, Pezet D, Collet D, et al. Health-related Quality of Life Following Hybrid Minimally Invasive Versus Open Esophagectomy for Patients With Esophageal Cancer, Analysis of a Multicenter, Open-label, Randomized Phase III Controlled Trial: The MIRO Trial. *Ann Surg.* 2020;271(6):1023-9.
113. Evans R, Bundred JR, Kaur P, Hodson J, Griffiths EA. Meta-analysis of the influence of a positive circumferential resection margin in oesophageal cancer. *BJS Open.* 2019;3(5):595-605.
114. Speicher PJ, Ganapathi AM, Englum BR, Hartwig MG, Onaitis MW, D'Amico TA, et al. Induction therapy does not improve survival for clinical stage T2N0 esophageal cancer. *J Thorac Oncol.* 2014;9(8):1195-201.
115. van Hagen P, Hulshof MC, van Lanschot JJ, Steyerberg EW, van Berge Henegouwen MI, Wijnhoven BP, et al. Preoperative chemoradiotherapy for esophageal or junctional cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(22):2074-84.
116. Shapiro J, van Lanschot JJB, Hulshof M, van Hagen P, van Berge Henegouwen MI, Wijnhoven BPL, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy plus surgery versus surgery alone for oesophageal or junctional cancer (CROSS): long-term results of a randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(9):1090-8.
117. Hoeppe J, Lordick F, Brunner T, Glatz T, Bronsert P, Röthling N, et al. ESOPEC: prospective randomized controlled multicenter phase III trial comparing perioperative chemotherapy (FLOT protocol) to neoadjuvant chemoradiation (CROSS protocol) in patients with adenocarcinoma of the esophagus (NCT02509286). *BMC Cancer.* 2016;16:503.
118. Hoeppe J, Brunner T, Lordick F, Schmoor C, Kulemann B, Neumann UP, et al. Prospective randomized multicenter phase III trial comparing perioperative chemotherapy (FLOT protocol) to neoadjuvant chemoradiation (CROSS protocol) in patients with adenocarcinoma of the esophagus (ESOPEC trial). *Journal of Clinical Oncology.* 2024;42(17_suppl):LBA1-LBA.
119. Montagnani F, Fornaro L, Frumento P, Vivaldi C, Falcone A, Fioretto L. Multimodality treatment of locally advanced squamous cell carcinoma of the oesophagus: A comprehensive review and network meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017;114:24-32.
120. Safran HP, Winter K, Ilson DH, Wigglesworth D, DiPetrillo T, Haddock MG, et al. Trastuzumab with trimodality treatment for oesophageal adenocarcinoma with HER2 overexpression (NRG Oncology/RTOG 1010): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2022;23(2):259-69.
121. Takebayashi K, Tsubosa Y, Matsuda S, Kawamorita K, Niihara M, Tsushima T, et al. Comparison of curative surgery and definitive chemoradiotherapy as initial treatment for patients with cervical esophageal cancer. *Dis Esophagus.* 2017;30(2):1-5.
122. Pöttgen C, Stuschke M. Radiotherapy versus surgery within multimodality protocols for esophageal cancer--a meta-analysis of the randomized trials. *Cancer Treat Rev.* 2012;38(6):599-604.
123. Hulshof M, Geijssen ED, Rozema T, Oppedijk V, Buijsen J, Neelis KJ, et al. Randomized Study on Dose Escalation in Definitive Chemoradiation for Patients With Locally Advanced Esophageal Cancer (ARTDECO Study). *J Clin Oncol.* 2021;39(25):2816-24.
124. Ohri N, Garg MK, Aparo S, Kaubisch A, Tome W, Kennedy TJ, et al. Who benefits from adjuvant radiation therapy for gastric cancer? A meta-analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2013;86(2):330-5.

125. Kelly RJ, Ajani JA, Kuzdzal J, Zander T, Van Cutsem E, Piessen G, et al. Adjuvant Nivolumab in Resected Esophageal or Gastroesophageal Junction Cancer. *N Engl J Med*. 2021;384(13):1191-203.
126. Webb A, Cunningham D, Scarffe JH, Harper P, Norman A, Joffe JK, et al. Randomized trial comparing epirubicin, cisplatin, and fluorouracil versus fluorouracil, doxorubicin, and methotrexate in advanced esophagogastric cancer. *J Clin Oncol*. 1997;15(1):261-7.
127. Janjigian YY, Shitara K, Moehler M, Garrido M, Salman P, Shen L, et al. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2021;398(10294):27-40.
128. Moehler M, Xiao H, Blum SI, Elimova E, Cella D, Shitara K, et al. Health-Related Quality of Life With Nivolumab Plus Chemotherapy Versus Chemotherapy in Patients With Advanced Gastric/Gastroesophageal Junction Cancer or Esophageal Adenocarcinoma From CheckMate 649. *J Clin Oncol*. 2023;41(35):5388-99.
129. Sun JM, Shen L, Shah MA, Enzinger P, Adenis A, Doi T, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for first-line treatment of advanced oesophageal cancer (KEYNOTE-590): a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet*. 2021;398(10302):759-71.
130. Doki Y, Ajani JA, Kato K, Xu J, Wyrwicz L, Motoyama S, et al. Nivolumab Combination Therapy in Advanced Esophageal Squamous-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2022;386(5):449-62.
131. Amdal CD, Jacobsen AB, Sandstad B, Warloe T, Bjordal K. Palliative brachytherapy with or without primary stent placement in patients with oesophageal cancer, a randomised phase III trial. *Radiother Oncol*. 2013;107(3):428-33.
132. Rosenblatt E, Jones G, Sur RK, Donde B, Salvajoli JV, Ghosh-Laskar S, et al. Adding external beam to intra-luminal brachytherapy improves palliation in obstructive squamous cell oesophageal cancer: a prospective multi-centre randomized trial of the International Atomic Energy Agency. *Radiother Oncol*. 2010;97(3):488-94.
133. Rupinski M, Zagorowicz E, Regula J, Fijuth J, Kraszewska E, Polkowski M, et al. Randomized comparison of three palliative regimens including brachytherapy, photodynamic therapy, and APC in patients with malignant dysphagia (CONSORT 1a) (Revised II). *Am J Gastroenterol*. 2011;106(9):1612-20.
134. Giacco F, Du X, D'Agati VD, Milne R, Sui G, Geoffrion M, et al. Knockdown of glyoxalase 1 mimics diabetic nephropathy in nondiabetic mice. *Diabetes*. 2014;63(1):291-9.
135. Morgenstern J, Fleming T, Schumacher D, Eckstein V, Freichel M, Herzig S, et al. Loss of Glyoxalase 1 Induces Compensatory Mechanism to Achieve Dicarboxyl Detoxification in Mammalian Schwann Cells. *J Biol Chem*. 2017;292(8):3224-38.
136. Bollong MJ, Lee G, Coukos JS, Yun H, Zambaldo C, Chang JW, et al. A metabolite-derived protein modification integrates glycolysis with KEAP1-NRF2 signalling. *Nature*. 2018;562(7728):600-4.
137. Masania J, Malczewska-Malec M, Razny U, Goralska J, Zdzienicka A, Kiec-Wilk B, et al. Dicarboxyl stress in clinical obesity. *Glycoconj J*. 2016;33(4):581-9.
138. McLellan AC, Thornalley PJ, Benn J, Sonksen PH. Glyoxalase system in clinical diabetes mellitus and correlation with diabetic complications. *Clin Sci (Lond)*. 1994;87(1):21-9.
139. Hanssen NMJ, Westerink J, Scheijen J, van der Graaf Y, Stehouwer CDA, Schalkwijk CG. Higher Plasma Methylglyoxal Levels Are Associated With Incident Cardiovascular Disease and Mortality in Individuals With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2018;41(8):1689-95.
140. Beisswenger PJ, Howell SK, Russell GB, Miller ME, Rich SS, Mauer M. Early progression of diabetic nephropathy correlates with methylglyoxal-derived advanced glycation end products. *Diabetes Care*. 2013;36(10):3234-9.
141. Andersen ST, Witte DR, Dalsgaard EM, Andersen H, Nawroth P, Fleming T, et al. Risk Factors for Incident Diabetic Polyneuropathy in a Cohort With Screen-Detected Type 2 Diabetes Followed for 13 Years: ADDITION-Denmark. *Diabetes Care*. 2018;41(5):1068-75.

142. Xue M, Weickert MO, Qureshi S, Kandala NB, Anwar A, Waldron M, et al. Improved Glycemic Control and Vascular Function in Overweight and Obese Subjects by Glyoxalase 1 Inducer Formulation. *Diabetes*. 2016;65(8):2282-94.
143. Alhujaily M, Abbas H, Xue M, de la Fuente A, Rabbani N, Thornalley PJ. Studies of Glyoxalase 1-Linked Multidrug Resistance Reveal Glycolysis-Derived Reactive Metabolite, Methylglyoxal, Is a Common Contributor in Cancer Chemotherapy Targeting the Spliceosome. *Front Oncol*. 2021;11:748698.
144. Takeuchi M, Kimura S, Kuroda J, Ashihara E, Kawatani M, Osada H, et al. Glyoxalase-I is a novel target against Bcr-Abl+ leukemic cells acquiring stem-like characteristics in a hypoxic environment. *Cell Death Differ*. 2010;17(7):1211-20.
145. Fonseca-Sánchez MA, Rodríguez Cuevas S, Mendoza-Hernández G, Bautista-Piña V, Arechaga Ocampo E, Hidalgo Miranda A, et al. Breast cancer proteomics reveals a positive correlation between glyoxalase 1 expression and high tumor grade. *Int J Oncol*. 2012;41(2):670-80.
146. Cheng WL, Tsai MM, Tsai CY, Huang YH, Chen CY, Chi HC, et al. Glyoxalase-I is a novel prognosis factor associated with gastric cancer progression. *PLoS One*. 2012;7(3):e34352.
147. Shafie A, Xue M, Thornalley PJ, Rabbani N. Copy number variation of glyoxalase I. *Biochem Soc Trans*. 2014;42(2):500-3.
148. Schröter D, Höhn A. Role of Advanced Glycation End Products in Carcinogenesis and their Therapeutic Implications. *Curr Pharm Des*. 2018;24(44):5245-51.
149. Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature*. 2006;441(7092):431-6.
150. Nankali M, Karimi J, Goodarzi MT, Saidijam M, Khodadadi I, Razavi AN, et al. Increased Expression of the Receptor for Advanced Glycation End-Products (RAGE) Is Associated with Advanced Breast Cancer Stage. *Oncol Res Treat*. 2016;39(10):622-8.
151. Vazzana N, Santilli F, Cuccurullo C, Davì G. Soluble forms of RAGE in internal medicine. *Intern Emerg Med*. 2009;4(5):389-401.
152. Thornalley PJ, Ladan MJ, Ridgway SJ, Kang Y. Antitumor activity of S-(p-bromobenzyl)glutathione diesters in vitro: a structure-activity study. *J Med Chem*. 1996;39(17):3409-11.
153. Sakamoto H, Mashima T, Sato S, Hashimoto Y, Yamori T, Tsuruo T. Selective activation of apoptosis program by S-p-bromobenzylglutathione cyclopentyl diester in glyoxalase I-overexpressing human lung cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2001;7(8):2513-8.
154. Sharkey EM, O'Neill HB, Kavarana MJ, Wang H, Creighton DJ, Sentz DL, et al. Pharmacokinetics and antitumor properties in tumor-bearing mice of an enediol analogue inhibitor of glyoxalase I. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2000;46(2):156-66.
155. Santel T, Pflug G, Hemdan NY, Schäfer A, Hollenbach M, Buchold M, et al. Curcumin inhibits glyoxalase 1: a possible link to its anti-inflammatory and anti-tumor activity. *PLoS One*. 2008;3(10):e3508.
156. Rabbani N, Xue M, Thornalley PJ. Activity, regulation, copy number and function in the glyoxalase system. *Biochem Soc Trans*. 2014;42(2):419-24.
157. Speer O, Morkunaite-Haimi S, Liobikas J, Franck M, Hensbo L, Linder MD, et al. Rapid suppression of mitochondrial permeability transition by methylglyoxal. Role of reversible arginine modification. *J Biol Chem*. 2003;278(37):34757-63.
158. Dobler D, Ahmed N, Song L, Eboigbodin KE, Thornalley PJ. Increased dicarbonyl metabolism in endothelial cells in hyperglycemia induces anoikis and impairs angiogenesis by RGD and GFOGER motif modification. *Diabetes*. 2006;55(7):1961-9.
159. Chiavarina B, Nokin MJ, Durieux F, Bianchi E, Turtoi A, Peulen O, et al. Triple negative tumors accumulate significantly less methylglyoxal specific adducts than other human breast cancer subtypes. *Oncotarget*. 2014;5(14):5472-82.
160. Burdelski C, Shihada R, Hinsch A, Angerer A, Göbel C, Friedrich E, et al. High-Level Glyoxalase 1 (GLO1) expression is linked to poor prognosis in prostate cancer. *Prostate*. 2017;77(15):1528-38.

161. Michel M, Hollenbach M, Pohl S, Ripoll C, Zipprich A. Inhibition of Glyoxalase-I Leads to Reduced Proliferation, Migration and Colony Formation, and Enhanced Susceptibility to Sorafenib in Hepatocellular Carcinoma. *Front Oncol.* 2019;9:785.
162. Kreytz N, Gotzian C, Fleming T, Flechtenmacher C, Grabe N, Plinkert P, et al. Glyoxalase 1 expression is associated with an unfavorable prognosis of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *BMC Cancer.* 2017;17(1):382.
163. Hosoda F, Arai Y, Okada N, Shimizu H, Miyamoto M, Kitagawa N, et al. Integrated genomic and functional analyses reveal glyoxalase I as a novel metabolic oncogene in human gastric cancer. *Oncogene.* 2015;34(9):1196-206.
164. Hu L, Wu Y, Tan D, Meng H, Wang K, Bai Y, et al. Up-regulation of long noncoding RNA MALAT1 contributes to proliferation and metastasis in esophageal squamous cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2015;34(1):7.
165. Guo Z, Hu L, Luo J, Xu Y, Diao Y, Ji S, et al. Glyoxalase 1, regulated by LncRNA MALAT1, promotes malignant development of esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2018;11(5):2337-46.
166. Hu L, Xie K, Zheng C, Qiu B, Jiang Z, Luo C, et al. Exosomal MALAT1 promotes the proliferation of esophageal squamous cell carcinoma through glyoxalase 1-dependent methylglyoxal removal. *Noncoding RNA Res.* 2024;9(2):330-40.
167. Claus JF, Carsten; Zimpfer, Annette; Erbersdobler, Andreas. *Kurs Allgemeine Pathologie.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2019.
168. Rice TW, Chen LQ, Hofstetter WL, Smithers BM, Rusch VW, Wijnhoven BP, et al. Worldwide Esophageal Cancer Collaboration: pathologic staging data. *Dis Esophagus.* 2016;29(7):724-33.
169. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome des Ösophagus, Langversion 1.0, 2015, AWMF Registernummer: 021/023OL, <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html> (Zugriff am: 05.03.2025).
170. Rades D, Bartscht T, Hunold P, Schmidberger H, König L, Debus J, et al. Radiochemotherapy with or without cetuximab for unresectable esophageal cancer: final results of a randomized phase 2 trial (LEOPARD-2). *Strahlenther Onkol.* 2020;196(9):795-804.
171. Moehler M, Maderer A, Thuss-Patience PC, Brenner B, Meiler J, Ettrich TJ, et al. Cisplatin and 5-fluorouracil with or without epidermal growth factor receptor inhibition panitumumab for patients with non-resectable, advanced or metastatic oesophageal squamous cell cancer: a prospective, open-label, randomised phase III AIO/EORTC trial (POWER). *Ann Oncol.* 2020;31(2):228-35.
172. Sakellariou S, Fragkou P, Levidou G, Gargalionis AN, Piperi C, Dalagiorgou G, et al. Clinical significance of AGE-RAGE axis in colorectal cancer: associations with glyoxalase-I, adiponectin receptor expression and prognosis. *BMC Cancer.* 2016;16:174.
173. van Heijst JW, Niessen HW, Musters RJ, van Hinsbergh VW, Hoekman K, Schalkwijk CG. Argpyrimidine-modified Heat shock protein 27 in human non-small cell lung cancer: a possible mechanism for evasion of apoptosis. *Cancer Lett.* 2006;241(2):309-19.
174. Simm A, Müller B, Nass N, Hofmann B, Bushnaq H, Silber RE, et al. Protein glycation - Between tissue aging and protection. *Exp Gerontol.* 2015;68:71-5.
175. Peppas M, Uribarri J, Vlassara H. Aging and glycoxidant stress. *Hormones (Athens).* 2008;7(2):123-32.
176. Nicholl ID, Stitt AW, Moore JE, Ritchie AJ, Archer DB, Bucala R. Increased levels of advanced glycation endproducts in the lenses and blood vessels of cigarette smokers. *Mol Med.* 1998;4(9):594-601.
177. Turki Jalil A, Alameri AA, Iqbal Doewes R, El-Sehrawy AA, Ahmad I, Ramaiah P, et al. Circulating and dietary advanced glycation end products and obesity in an adult population: A paradox of their detrimental effects in obesity. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:966590.

178. Sakamoto H, Mashima T, Kizaki A, Dan S, Hashimoto Y, Naito M, et al. Glyoxalase I is involved in resistance of human leukemia cells to antitumor agent-induced apoptosis. *Blood*. 2000;95(10):3214-8.

179. Krebs in Deutschland 2007/2008.

8. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft

der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2012.

180. Yu SS, Zheng X, Li XS, Xu QJ, Zhang W, Liao ZL, et al. Development of a nomogram for overall survival in patients with esophageal carcinoma: A prospective cohort study in China. *World J Gastrointest Oncol*. 2025;17(1):96686.

181. Wu J, Chen QX, Teng LS, Krasna MJ. Prognostic significance of positive circumferential resection margin in esophageal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Thorac Surg*. 2014;97(2):446-53.

182. Sakamoto H, Mashima T, Yamamoto K, Tsuruo T. Modulation of heat-shock protein 27 (Hsp27) anti-apoptotic activity by methylglyoxal modification. *J Biol Chem*. 2002;277(48):45770-5.

