

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Kinderchirurgie

(Univ.-Prof. Dr. B. Michael Ghadimi)

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Das Ausmaß der Fibrose beim duktalem  
Pankreaskopfkarzinom korreliert mit der  
Prognose**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

**Julia Müller**

aus

Göttingen

Göttingen 2021

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück  
Referent/in: Univ.-Prof. Dr. Jochen Gaedcke  
Ko-Referent/in: PD Dr. Alexander Otto König  
Promotor: Prof. Dr. Ralf Dressel

Datum der mündlichen Prüfung: 06.12.2022

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Das Ausmaß der Fibrose beim duktalem Pankreaskarzinom korreliert mit der Prognose" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den 01.05.2021

.....

(Unterschrift)

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>2</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>16</b>
2.1. Patienten .....	16
2.2. Histopathologische Auswertung .....	20
2.2.1. Fibroseanteil im Normal- und Tumorgewebe.....	20
2.2.2. Vorhandensein von Nekrose.....	21
2.2.3. Differenzierungsgrad (Grading).....	21
2.2.4. Morphologische Subtypen .....	22
2.3. Statistik.....	22
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>24</b>
3.1 Grading .....	24
3.1.1 Korrelation histologisches Grading mit T-Kategorie (Abb. 9) .....	24
3.1.2 Korrelation histologisches Grading mit Nodalstatus (Abb. 10) .....	25
3.1.3 Korrelation histologisches Grading mit Gesamtüberleben (Abb. 11).....	26
3.2 Fibrose .....	27
3.2.1 Korrelation Fibrose im Normalgewebe mit T-Kategorie sowie Nodalstatus (Abb. 12 a+b) .....	27
3.2.2 Korrelation Fibrose im Normalgewebe zum Gesamtüberleben (Abb. 13).....	29
3.2.3 Korrelation Tumorfibrose mit T-Kategorie (Abb. 14).....	30
3.2.4 Korrelation Tumorfibrose mit Nodalstatus (Abb. 15).....	31
3.2.5 Korrelation Tumorfibrose zum Gesamtüberleben (Abb. 16).....	32
3.3 Nekrose.....	33
3.3.1 Verteilung Tumornekrose zur T-Kategorie (Abb. 17) .....	33
3.3.2 Korrelation Tumornekrose zum Gesamtüberleben (Abb. 18).....	34
3.4 Morphologie .....	35
3.4.1 Korrelation Morphologie (1, 2, 4) zum Gesamtüberleben (Abb. 19).....	36
<b>4. Diskussion</b> .....	<b>37</b>
<b>5. Zusammenfassung</b> .....	<b>44</b>
<b>6. Literatur</b> .....	<b>46</b>

# ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

5-FU	5-Fluoruracil
BMI	<i>Body Mass Index</i>
CT	Computertomographie
DKG	Deutsche Krebsgesellschaft
ECOG	<i>Eastern Co-operative of Oncology group</i>
EUS	Endoskopischer Ultraschall
FAP	Fibroblasten-Aktivierungs-Protein
IPMN	Intraduktale papillär muzinöse Neoplasie
LAE	Lymphadenektomie
LK	Lymphknoten
MDSC	<i>Myeloid-Derived suppressor cells</i>
MRCP	Magnetresonanzcholangiopankreatikographie
MRT	Magnetresonanztomographie
OS	<i>Overall Survival</i>
PanIN	Pankreatische Intraepitheliale Neoplasie
PSC	<i>Pancreatic stellate cells</i>
TAM	Tumorassoziierte Makrophagen
TGF	<i>Transforming growth factor</i>

# 1. EINLEITUNG

Das Pankreaskarzinom gehört zum siebthäufigsten Tumor bei Männern und Frauen und zeigt dabei die niedrigste Überlebensrate aller Krebserkrankungen. So beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate derzeit geschlechterübergreifend nur 5 % (Stewart und Wild 2014). In Deutschland versterben so etwa 17.000 Menschen pro Jahr mit einer annähernd gleichen Geschlechterverteilung (Barnes et al. 2016). Die Inzidenz der Pankreastumore scheint dabei in den letzten Jahren leicht zugenommen zu haben. Ob dies durch verbesserte Diagnostik oder tatsächlich durch eine Steigerung der Neuerkrankungen zu erklären ist, ist noch nicht genügend validiert (Horstmann und Becker 2006). Die genaue Ätiologie des Pankreaskarzinoms ist noch nicht hinreichend geklärt. Als etablierter Risikofaktor gilt lediglich vermehrter Tabakrauch, so dass Raucher zwei- bis viermal häufiger als Nichtraucher erkranken. Insgesamt gehen Schätzungen davon aus, dass jeder fünfte Fall direkt auf Tabakkonsum zurückzuführen ist (Qiu et al. 2005; Larsson et al. 2005; Coughlin et al. 2000; Lin et al. 2002 a und b; Yun et al. 2005; Chiu et al. 2001; Bonelli et al. 2003; Duell et al. 2002; Miyasaka et al. 2005; Wang et al. 2005; Villeneuve et al. 2004). Ob regelmäßiger und erhöhter Konsum von alkoholischen Getränken, ein BMI (*Body Mass Index*) über 30 und fettreiche Ernährung, sowie die Exposition von Chemikalien Risikofaktoren darstellen ist nicht geklärt (Lin et al. 2002; Michaud et al. 2001a; Silverman 2001; Brown 2005; Berrington et al. 2003; Michaud et al. 2001b; Patel et al. 2005; Rapp et al. 2005; Larsson et al. 2005; Berrington et al. 2006; Silverman et al. 1998). Eine Diabetes-Erkrankung oder ein Blutgruppentyp, der analog des AB0-Systems nicht null entspricht, gelten weiterhin als Faktoren, welche die Entstehung von Bauchspeicheldrüsenkrebs günstig beeinflussen (Larsson et al. 2005; Gullo et al. 1994; Rousseau et al. 2006; Coughlin et al. 2004; Huxley et al. 2005; Stolzenberg et al. 2005; Wideroff et al. 1997; Calle et al. 1998; Chow et al. 1995; Silverman et al. 1999; Everhart und Wright 1995; Chari et al 2005). Als familiärer Risikofaktor zählt weiterhin eine chronische Pankreatitis. Hier findet sich dann ein – im Falle von Rauchern – um den Faktor 150 erhöhtes Risiko. Obwohl nur wenige von ihnen bisher erfasst worden sind, bieten diese Familien die Möglichkeit, genetische Faktoren als mögliche Ursachen der Pankreastumore zu erkennen (Bansal und Sonnenberg 1995; Karlsson et al. 1997; Lowenfels et al. 1993; Malka et al. 2002; Talamini et al. 1999; McWilliams et al. 2005; Klein et al. 2004).

Auch bei Pankreaskarzinomen konnten in Analogie zur Adenom-Karzinom-Sequenz beim Dickdarmkrebs wichtige Veränderungen von Schlüsselgenen in der Pathogenese identifiziert werden. Mutationen in Onkogenen und Tumorsuppressorgen akkumulieren und führen so über Dysplasie zu einer Neoplasie. So gibt es im *KRAS*-Gen eine Mutationsfrequenz von 58 %, im p53-Gen von 37 % und im *SMAD4/DPC* Gen von 22 % (Zavoral et al. 2011). Auch veränderte Regelmechanismen bei Wachstumsfaktoren und/oder deren Rezeptoren, wie der *Transforming Growth Factor* (TGF), spielen wahrscheinlich eine Rolle für die Entstehung des Pankreaskarzinoms. Hier finden sich verschiedene Studien in der Literatur, die diesen oben genannten Genen auf den Grund gehen um auch gegebenenfalls target spezifische Therapien zu entwickeln (Liu et al. 2017). Grundsätzlich lassen sich bei den Pankreastumoren gutartige und bösartige Tumoren sowie Tumoren ausgehend vom exokrinen sowie vom endokrinen Pankreasgewebe unterscheiden. Im Vordergrund, mit ca. 85 %, stehen die bösartigen duktaalen Adenokarzinome, die von dem exokrinen Teil der Bauchspeicheldrüse ausgehen. Seltener epitheliale Neoplasien des exokrinen Drüsensystems sind Azinuszell-Karzinome, serös oder muzinös zystische Tumore sowie intraduktale papillär-muzinöse Neoplasien (IPMN) (siehe Tab.1). Nur 1-2 % aller Pankreastumore sind endokrine Tumoren.

**Tabelle 1:** Histologische Klassifikation von exokrinen Pankreaskarzinomen (Auswahl).

benigne	<ul style="list-style-type: none"> <li>– seröses Zystadenom</li> <li>– muzinöses Zystadenom</li> </ul>
borderline	<ul style="list-style-type: none"> <li>– muzinös zystischer Tumor</li> <li>– intraduktal papillär-muzinöse Neoplasie (IPMN)</li> </ul>
maligne	<ul style="list-style-type: none"> <li>– duktales Adenokarzinom</li> <li>(Varianten: muzinöses nicht zystisches Karzinom, Siegelringzellkarzinom, adenosquamöses Karzinom, undifferenziertes Karzinom, schwere duktaale Dysplasie, Carcinoma in situ)</li> <li>– Zystadenokarzinom (serös, muzinös)</li> <li>– Intraduktal papillär muzinöses Karzinom</li> <li>– Azinuszellkarzinom</li> </ul>

Quelle: Horstmann und Becker (2006). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier GmbH, Urban & Fischer.

Neben der histologischen Klassifikation erfolgt die Einteilung der Pankreastumoren weiterhin gemäß ihres Differenzierungsgrades und ihrer Ausbreitung (TNM-Klassifikation). Die Einteilung der Differenzierungsgrade gemäß G1 bis G4 beschreibt im Allgemeinen den feingeweblichen Differenzierungsgrad des Tumors. G1 steht hier für gut differenziertes Gewebe, G2 für mäßig differenziertes Gewebe, G3 für schlecht differenziertes Gewebe und G4 für undifferenziertes Gewebe. Diese wird durch eine mikroskopische Untersuchung festgestellt, wobei erfasst wird, in wie weit verdächtige von gesunden Zellen abweichen. Je weniger also eine Krebszelle dem Normalgewebe ähnelt, desto geringer differenziert ist sie und desto bösartiger ist der Tumor.

Weiterhin wird das duktales Pankreas Adenokarzinom charakterisiert durch die Einteilung in unterschiedliche histomorphologische Subtypen, welche ebenfalls in der hier durchgeführten Analyse berücksichtigt wurden (siehe Tab. 2).

**Tabelle 2:** Histologische Klassifikation maligner epithelialer Pankreastumoren (Auszug).

<b>Histologischer Subtyp</b>	<b>ICD</b>
Duktales Adenokarzinom	8500/3
– adenosquamöses Karzinom	8560/3
– kolloides Karzinom	8480/3
– hepatoides Karzinom	8576/3
– medulläres Karzinom	8510/3
– siegelringzelliges Karzinom	8490/3
– undifferenziertes Karzinom	8020/3
– undifferenziertes Karzinom mit osteoklastenartigen Riesenzellen	8035/3

Quelle: Bosman et al. (2010)

Die TNM-Klassifikation der Pankreaskarzinome ist in der Tabelle 3 angeführt. Hierbei handelt es sich um die 7. Auflage der TNM-Klassifikation. Bei Verwendung retrospektiver Daten wurde diese im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit verwendet im Hinblick auf die aktuelle Auflage zum Zeitpunkt der Datenaufnahme. Sie wurde im Januar 2017 überarbeitet und erneuert. In der aktuellen TNM-Klassifikation, der 8. Auflage, erfolgte zusätzlich eine Unterteilung der pT1 Kategorie in unterschiedliche Tumorgößen gemäß pT1a-c. Hier entsprechend definiert als Tumorgößen  $\leq 0,5$  cm,  $> 0,5$  cm und  $\leq 1$  cm sowie  $> 1$  cm und  $\leq 2$  cm. Weiterhin wurden Tumorgößen in den pT2 und pT3 Kategorien beschrieben entsprechend einer Größeneinteilung von  $> 2$  cm,  $\leq 4$  cm und  $> 4$  cm.



Die peripankreatische Weichgewebsinfiltration ist hier bereits mit eingeschlossen und verliert somit im Vergleich zur Größe an Bedeutung. Für die Kategorie pT4 wurde zur Infiltration noch die *A. hepatica communis* hinzugefügt und bezüglich des Nodalstatus ist in der aktuellen Version nicht nur das Vorhandensein, sondern auch die Anzahl an Lymphknotenmetastasen entscheidend (Ueno et al. 2019).

**Tabelle 3:** TNM-Klassifikation des Pankreaskarzinoms (7. Auflage).

T	Primärtumor
pTx	Primärtumor nicht zu beurteilen
pT0	kein Primärtumor
pTis	Carcinoma in situ (einschließlich PanIN III)
pT1	Primärtumor auf Pankreas beschränkt, Größe $\leq 2$ cm
pT2	Primärtumor auf Pankreas beschränkt, Größe $> 2$ cm
pT3	organübergreifende Tumorausbreitung, Infiltration des peripankreatischen Gewebes, ohne Infiltration des Truncus coeliacus oder der Arteria mesenterica superior
pT4	Infiltration des Truncus coeliacus oder der Arteria mesenterica superior
N	regionäre Lymphknoten
pNx	regionäre Lymphknoten nicht zu beurteilen
pN0	keine regionären Lymphknotenmetastasen in mindestens zehn untersuchten Lymphknoten
pN1	regionale Lymphknotenmetastasen
M	Fernmetastasen

T entspricht Tumor, p vorangestellt bedeutet durch Pathologen verifiziert, N = nodal (LK-Befall) (Horstmann und Becker 2006). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier GmbH, Urban & Fischer.

Ein UICC-Stadium I entspricht dann der Tumorklassifikation T1-T2, N0, M0, das Stadium IIa entspricht T3, N0, M0, Stadium IIb T1-3 N1 M0, Stadium III entspricht T4 N0-1 M0 und Stadium IV entspricht jedem T, jedem N, M1 (Hackert et al. 2012).

Daneben gibt es die sogenannte R-Klassifikation (R = Resektion), die durch den Pathologen am Resektat beschrieben wird. Das Stadium R0 bedeutet dabei, dass sich histopathologisch keine Tumorzellen am Resektionsrand befinden, R1 entspricht dem Vorhandensein von Tumorzellen am Resektionsrand und R2 bedeutet, dass das verbleibende Tumorgewebe makroskopisch durch den Chirurgen festzustellen ist (DKG 2013).

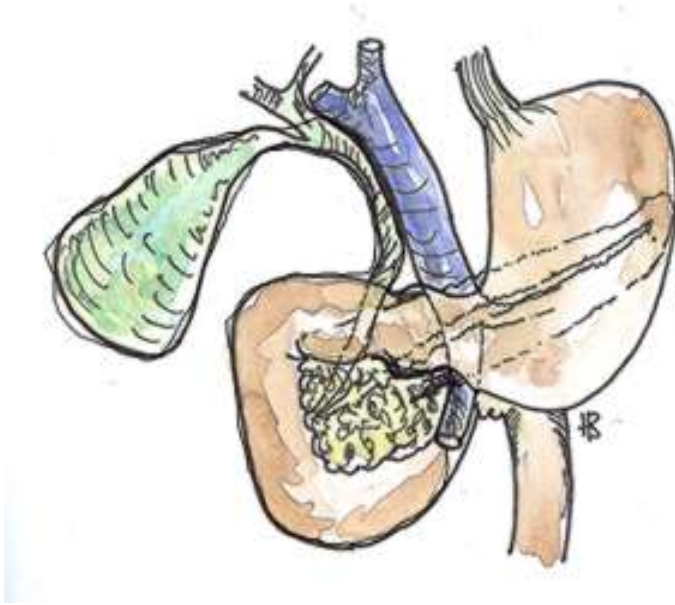
Zur näheren Beurteilung von Prognose als auch Rezidivrisiko ist eine Erweiterung der R-Klassifikation von entscheidender Bedeutung. Hier wurde die CRM-Klassifikation hinzugezogen. Dabei handelt es sich um den zirkumferenziellen Resektionsrand, bestehend aus einem medialen Resektionsrand (*Processus uncinatus, A./V. mesenterica superior*), einer dorsalen Resektionsfläche (ehemalige retropankreatische Resektionsfläche) und einer ventralen Resektionsfläche (falls der Tumor ventral lokalisiert ist). Dieser gibt den Abstand des Tumors zum Resektionsrand in Millimeter wieder. Von CRM-Positivität wird gesprochen, wenn bei R0-resezierten Pankreaskarzinomen der Abstand des Resektionsrandes von der Tumorzelle weniger als 1 mm entspricht, ihn aber nicht erreicht. Dies wird als R0 *narrow* bezeichnet. CRM-negativ sind R0 resezierte Tumore, welche einen Abstand von Tumorzelle zu Resektionsrand von >1 mm besitzen (R0 *wide*). Sowohl zur näheren Beurteilung von Prognose als auch Rezidivrisiko ist diese Erweiterung der R-Klassifikation von entscheidender Bedeutung (DKG 2013).

In der klinischen Diagnostik und als einfachstes und leicht zugängliches sowie preiswertes apparatives Untersuchungsverfahren steht die Ultraschalldiagnostik zur Verfügung. Diese ist jedoch limitiert. Zum einen aufgrund möglicher fehlender Erfahrung des Untersuchers und zum Anderen durch häufig auftretende Luftüberlagerungen, welche es nahezu unmöglich machen kleinere retroperitoneal gelegene Prozesse detektieren zu können. Ihre Bedeutung hat sie daher eher im Bereich des Staging um beispielsweise bereits vorhandene Metastasen in der Leber darzustellen (Horstmann und Becker 2006). Deutlich überlegen ist eine Endosonografie (EUS). Gerade in der Hand eines sehr erfahrenen Untersuchers hat diese zum Teil eine sehr hohe Sensitivität und ist auch für Folgeuntersuchungen geeignet. Durch den Einsatz von linearen Sonden können darüber hinaus suspekte Areale direkt punktiert werden (Zhang et al. 2018).

Weitere sensitive Verfahren zur Diagnostik und Staging sind Computertomographie (CT), die Magnetspintomographie (MRT) und die Magnetresonananzcholangiopankreatikographie (MRCP). Mit dem MRT können Pankreastumore, nahezu äquivalent zum CT, mit einer Sensitivität von 89 % dargestellt werden und bieten den Vorteil gegenüber der EUS auch Fernmetastasen darzustellen zu können. Es kann jedoch ökonomisch nicht als Früherkennungsmaßnahme durchgeführt werden. Insbesondere zur Beurteilung einer Irresektabilität hat sich die CT-Diagnostik bewährt (Zhang et al. 2018). Ein weiteres diagnostisches Verfahren ist der intraoperative Ultraschall, welcher mit einer Sensitivität von 93% besonders geeignet ist in der Beurteilung der Tumorausbreitung und der Gefäßinfiltration bei bereits bekanntem Pankreastumor (Chan et al. 2009).

Die Möglichkeit und Auswahl der Therapie des Pankreaskarzinoms ist wie bei allen anderen Malignomen entscheidend von dem TMN-Stadium zum Zeitpunkt der Diagnosestellung abhängig. Die R0-Resektion ist dabei der einzige kurative Ansatz. Dabei kann eine Laparoskopie vor der definitiven Operationsplanung durchgeführt werden, um insbesondere eine Peritonealkarzinose nachzuweisen. Hinweise auf Fernmetastasen und Infiltrationen der arteriellen Gefäße erweisen sich oft als ausschlaggebend für eine nicht mehr kurative Therapie. Somit sollte beispielsweise ein Tumor, welcher die *A. mesenterica superior* oder den *Truncus coeliacus* infiltriert, nicht reseziert werden. Hier existiert eine Definition der *National Comprehensive Cancer Network Guidelines* (NCCN), wo eine Empfehlung ausgesprochen wird, bei welchem Infiltrationsausmaß eine chirurgische Resektion noch sinnvoll erscheint. Als nicht mehr resektabel werden hier Tumore eingeschätzt, welche die *A. mesenterica superior* oder den *Truncus coeliacus* um mehr als 180 Grad ummauern (Callery et al. 2009). Insgesamt ist also chirurgisch eine Infiltration der arteriellen Gefäße keine absolute Kontraindikation zur Durchführung einer Resektion. Zu erwarten ist hier allerdings eine erhöhte Mortalität und Morbidität (Ouaissi et al. 2010). Sobald von einer Resektabilität des Pankreaskarzinoms auszugehen ist, gibt es unterschiedliche Möglichkeiten der chirurgischen Resektion. Hier gibt es zum einen die klassische partielle Pankreatikoduodenektomie (Operation nach Kausch Whipple). Im Jahre 1912 wurde mit einer zweizeitig durchgeführten Duodenopankreatektomie erstmals ein chirurgischer Durchbruch von Kausch erzielt. A.O. Whipple entwickelte dieses Verfahren weiter und es galt lange Zeit als der Goldstandard. Dabei wird eine Resektion des Duodenums, eine distale Resektion des Magens und eine Entfernung der Gallenblase bis zur Zystikuseinmündung durchgeführt. Die Rekonstruktion lässt dem Operateur einen gewissen Spielraum.

Ein Jejunalsegment wird mit dem Pankreas als terminoterminaler Pankreatikojejunostomie anastomosiert. Aboral wird eine terminolaterale Hepatikojejunostomie durchgeführt. Schließlich erfolgt die Gastroenteroanastomose mit einer zweiten Jejunalschlinge und Y-Roux-Anlage (Horstmann und Becker 2006). Andere Rekonstruktionen, beispielsweise über eine als Omega hochgezogene Schlinge an den Magen mit Braun'scher Fußpunktanastomose, ist ebenfalls möglich (Abb. 1 und 2).



**Abb. 1:** Bildliche Darstellung des Ausgangssitus (Becker und Ghadimi 2015). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier GmbH, Urban & Fischer.



**Abb. 2:** Resektionsausmaß und Rekonstruktion nach Whipple (Becker und Ghadimi 2015). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier GmbH, Urban & Fischer.

1978 modifizierten W. Traverso und W. Longmire die Operationstechnik in der Pankreaschirurgie. Anders als bei der Duodenopankreatektomie nach Whipple bleibt hierbei der Pylorus erhalten und auf die 2/3 Magenresektion wird verzichtet. Diese Methode, die heute als Standardtherapie praktiziert wird, ist durch Erhalt der physiologischen Nahrungspassage aus dem Magen gekennzeichnet. Auch wenn im Vergleich gezeigt werden konnte, dass beide Methoden hinsichtlich postoperativen Komplikationen und Letalität gleichwertig sind, scheint der Erhalt des Pylorus für die postoperative Rekonvaleszenz von enormen Vorteil (Diener et al. 2007; Klaiber et al. 2017).

Bei Lokalisation des Tumors im Bereich der Korpusmitte oder des Schwanzes wird eine Pankreaslinksresektion erforderlich. Ausgedehnte, über die gesamte Drüse verstreute Tumoren, erfordern die totale Pankreatektomie. Der makroskopische Sicherheitsabstand zwischen Pankreasresektionsebene und Tumor sollte hier die vorgeschriebenen zwei Zentimeter nicht unterschreiten und wird durch intraoperative Schnellschnittuntersuchung überprüft (Klemer et al. 1999). Standardisiert umfasst die Lymphadenektomie (LAE) die Lymphknoten der ersten Station (supra- und infrapankreatisch, pankreatikoduodenal und pylorisch). Im Falle einer Pankreaslinksresektionen oder totalen Pankreatektomie umfasst diese auch die Splenektomie um die Lymphknotenstationen entlang der Milzgefäße und des Milzhilus (Horstmann und Becker 2006).

Aufgrund verschiedener Studien gilt heute eine adjuvante Chemotherapie auch nach R0-Resektion als Standard (Oettle et al. 2007; Ueno et al. 2009; Neoptolemos et al. 2004; Stocken et al. 2005). Diese Therapie sollte sechs Wochen nach der Resektion über insgesamt sechs Monate mindestens mit Gemcitabin durchgeführt werden (Oettle et al. 2007; Ueno et al. 2009; Neoptolemos et al. 2004). Eine ebenfalls halbjährlich verabreichte 5-FU(5-Fluoruracil)-basierte Therapie (mit Folinsäuregaben) ist zwar am Gesamtüberleben gemessen fast genauso effektiv, was die 1088 Patienten umfassende ESPAC-3-Studie mit nahezu identischem medianem *Overall Survival* (OS) von 23,6 Monaten (Gemcitabin) gegenüber 23 Monaten (5-FU) belegt, allerdings schlechter vertragen wird (Neoptolemos et al. 2012). Während bei einer Gemcitabin-Therapie mit höhergradiger hämatologischer Toxizität (Grad 3-4) zu rechnen ist, entfallen die unerwünschten Nebenwirkungen bei 5-FU-Gabe vor allem auf Stomatitiden sowie schwere Diarrhoen (Neoptolemos et al. 2012). Somit wurde in einer weiteren Studie, der ESPAC-4 Studie, die Wirkung einer adjuvanten Kombinationschemotherapie aus Gemcitabine und Capecitabine im Vergleich zur Gemcitabin Monotherapie bei resezierten duktalem Pankreaskarzinomen verglichen.

Von 730 Patienten erhielten hier 364 eine adjuvante Chemotherapie mit Gemcitabin und Capecitabin. Das durchschnittliche Gesamtüberleben (*median overall survival*) dieser Patienten betrug hier 28,0 Monate und im Vergleich dazu betrug das Gesamtüberleben bei Patienten die eine Gemcitabin Monotherapie erhielten 25,5 Monate und zeigte sich somit im Vergleich deutlich überlegen und wird entsprechend als Therapie empfohlen (Neoptolemos et al. 2017). Neueste Daten zeigen die hohe Effektivität einer Chemotherapiekombination aus Gemcitabin alternierend mit Albumin-gebundenem Paclitaxel (Nab-Paclitaxel) oder ein Regime genannt FOLFIRIONX. Die Effektivität beider Therapien ist aktuell im Rahmen palliativer Konzepte intensiv untersucht worden. Die randomisierten Phase III Studien zum Stellenwert in der adjuvanten Situation wurde bisher noch nicht abgeschlossen.

Bei inoperablen oder nicht resektablen Tumoren sind die operativen Maßnahmen primär auf die durch den Tumor hervorgerufenen Komplikationen gerichtet. So stellen eine Gastroenterostomie bei Infiltration des Tumors in das Duodenum mit Duodenalobstruktion mit dem Ziel des Erhaltes der Nahrungspassage und die biliodigestive Anastomose bei Verschlussikterus zur dauerhaften Ableitung der Galle einen operativen Ansatz dar (Horstmann und Becker 2006). Die biliodigestive Anastomose, einhergehend mit einer heutzutage niedrigen Komplikations- und Letalitätsrate, stellt besonders bei Patienten mit einer Überlebenswahrscheinlichkeit von über sechs Monaten eine sichere Methode zur längerfristigen freien Gallendrainage dar.

In anderen Fällen muss individuell zu einem offenen Verfahren ein endoskopisches Verfahren mit der Möglichkeit einer Stenteinlage diskutiert werden (Stumpf et al. 2001). Im Wesentlichen stehen bei diesen nicht kurativ zu behandelnden Tumoren die Schmerzfreiheit und Ernährungstherapie im Vordergrund.

Eine intensivierete Chemotherapie in einer primär nicht resektablen Situation oder einem bereits metastasierten Stadium erfolgt als Kombinationstherapie aus Gemcitabin alternierend mit Albumin-gebundenem Paclitaxel (Nab-Paclitaxel). Hier zunächst mit 125 mg/m<sup>2</sup> KOF Nab-Paclitaxel, anschließend 1000 mg/m<sup>2</sup> KOF Gemcitabin an den Tagen 1,8 und 15 alle vier Wochen. Dies zeigte einen vielversprechenden Ansatz wie in der randomisierten Multicenterstudie von Hoff et al. (2013) beschrieben. Diese zeigte zumindest gegenüber der bisherigen Standardmonotherapie Gemcitabin bei den 431 Patienten, insgesamt n = 861, ein signifikant verbessertes Gesamtüberleben zu allen Zeitpunkten. Die Überlebensrate stieg im ersten Jahr um 59 % (von 22 % auf 35 %) und im zweiten Jahr sogar um mehr als 100 % (von 4 % auf 9 %). In Anbetracht des aggressiven Charakters der zugrunde liegenden Erkrankung allerdings auf erwartbar niedrigem Niveau.

Ebenfalls in der palliativen Situation angewendet wird eine Chemotherapie nach dem FOLFIRINOX Schema. Diese besteht aus einer Kombination mit Oxaliplatin, Irinotecan, Fluorouracil und Leucovorin. Dies erscheint aktuell als beste Option, wenngleich das Nebenwirkungsprofil sehr ausgeprägt ist und nur bei ausgesprochen fitten Patienten angewendet werden soll bzw. kann (ECOG Index 0-1, Bilirubin weniger als das 1,5-fache vom oberen Normwert und ein Alter bis zu 75 Jahren) (Liu et al. 2017).

Zusammenfassend bleibt jedoch die Prognose nach Feststellung eines Pankreaskarzinoms insgesamt sehr schlecht mit einer relativen 5-Jahres-Überlebensrate in Deutschland von nur 9-10 %. Nur bei ca. 15-20 % der Patienten geht die Erstdiagnose mit einer Resektabilität einher. Bei der Mehrzahl der nicht resezierten Patienten kann durch die Behandlung mit Chemotherapeutika nur eine Verbesserung der Lebensqualität und eine Lebensverlängerung von einigen Monaten erzielt werden (Tannapfel 2010). Dementsprechend richten sich intensive Forschungsmaßnahmen auf die frühzeitige Erkennung von Pankreastumoren sowie auf die Festlegung von möglichen Prognosefaktoren, um dem betroffenen Patienten eine individuell angepasste Therapie zu ermöglichen.

Die klinische Erkennung hat dabei aufgrund der uncharakteristischen Symptome wie Inappetenz, Leistungsknick und unspezifischen Oberbauchschmerzen sowie insbesondere die Differentialdiagnose zur chronischen Pankreatitis nur eine geringe Spezifität. In der Regel wird der Tumor erst dann erkannt, wenn bereits ein fortgeschrittenes Stadium erreicht ist und der Tumor andere Organsysteme beeinträchtigt. So zeigt sich bei der Infiltration in das Gallengangsystem ein Ikterus oder eine Magenausgangsstenose bei Infiltration oder Verlegung des Pylorus (Horstmann und Becker 2006). Es gibt zudem zum jetzigen Zeitpunkt keine eindeutigen und messbaren Laborparameter welche sicher ein Karzinom vermuten lassen oder eine sichere Abgrenzung zur Pankreatitis gewährleisten. Besonders der Tumormarker CA 19-9 lässt bei starker Erhöhung einen Tumor vermuten, ist aber dennoch nicht spezifisch hierfür. Daher eignen sich Tumormarker nur zur Verlaufsbeobachtung und gegebenenfalls zur Erkennung eines Rezidivtumors (Forsmark et al. 1994; Nazli et al. 2000; Ritts et al. 1994; Tessler et al. 2006).

Ist der Tumor dann nach Resektion und histologischer Untersuchung gesichert und als duktales Pankreaskarzinom klassifiziert, bleibt weiterhin die Frage nach der Prognose der Patienten und die Entscheidung darüber, welche weitere adjuvante Therapiestrategien man empfehlen sollte. Dies ist zum einen abhängig von der TNM-Klassifikation, zum Anderen ist die Frage zu stellen, ob es im Rahmen der histopathologischen lichtmikroskopischen Untersuchung Besonderheiten des duktales Pankreaskarzinoms gibt, die gegebenenfalls

Hinweise auf die Prognose der jeweiligen Patienten geben könnten und somit eine Entscheidung über die Art der Adjuvant erleichtern würden.

Bei der histopathologischen Untersuchung liegt der Fokus schnell auf dem Tumorstroma, da es im Vergleich zu anderen Karzinomarten charakteristisch für das duktales Adenokarzinom des Pankreas ist. Es zeichnet sich unter anderem aus durch das Vorhandensein einer starken Fibrose und einer damit einhergehenden und in unterschiedlichem Ausmaß vorhandenen desmoplastischen Stromareaktion welche bis zu 80 % der Tumormasse einnehmen kann (Erkan et al. 2012). Die desmoplastische Stromareaktion ist eine Reaktion des Gewebes welches die Tumorzellen umgibt und aus genetisch nicht veränderten Zellen und extrazellulärer Matrix besteht. Als wesentlicher Bestandteil des Stromas sind ebenfalls infiltrierende Entzündungszellen zu nennen, die mit einer fraglich immunsuppressiven Wirkung einhergehen. Hier zu nennen sind insbesondere die *Myeloid-Derived-Suppressor-Cells* (MDSC), die tumorassoziierte Makrophagen (TAM) und ebenso regulatorische T-Lymphozyten (Chu et al. 2007).

Das Tumorstroma besteht aus unterschiedlichen zellulären sowie azellulären Bestandteilen. Hierzu gehören Fibroblasten, Myofibroblasten, pankreatische Sternzellen (PSC), Immunzellen, Blutgefäße und extrazelluläre Matrix mit Proteinen wie Zytokinen und Wachstumsfaktoren. Dieses Stroma befindet sich immer in Bewegung und verändert fortan seine Zusammensetzung, besonders im Hinblick auf die Entstehung eines invasiven Karzinoms aus Vorläuferläsionen. Häufig beginnt die Stromaentwicklung bereits vor der Karzinomentstehung und ist somit auch schon in Vorläuferläsionen wie den PanIN Läsionen (Intraepitheliale Neoplasien) zu finden (Detlefsen et al. 2005; Hingorani et al. 2003). Somit gehen viele Karzinome aus inflammatorischen Bedingungen hervor welche schon eine Stromareaktion zeigen (Marchegiani et al. 2015).

Pathophysiologisch führt der desmoplastische Umbau des Parenchyms zur exokrinen und endokrinen Pankreasinsuffizienz und beeinflusst Tumorgenese, Angiogenese, Therapieresistenz und Metastasierung. Das Pankreas Adenokarzinom ist im Vergleich zu anderen Tumorentitäten weniger vaskularisiert. Dennoch spielen auch Endothelzellen des Blutgefäßsystems und Lymphgefäßsystems eine entscheidende Rolle bezüglich Sauerstoff- und Nährstoffversorgung, welches zu einem begünstigenden Einfluss der Gefäßdichte auf sowohl die Karzinomgröße als auch auf die Metastasierung führt (Erkan et al. 2012). Bei ausgedehnter desmoplastischer Stromareaktion, infolge eines ausgedehnten Tumorprozesses, kommt es zur Entwicklung von Nekrosearealen.



Diese entstehen durch zunehmende Zerstörung von Zellen infolge Hypovaskularisation und Hypoxie innerhalb des Tumors welche Zeichen einer bereits fortgeschrittenen Gewebeerstörung sind. Hier ist demnach anzunehmen, dass das Vorhandensein von Nekrose mit einer schlechteren Prognose der Patienten einhergeht. Dies konnte bereits an anderen Tumorentitäten wie beispielsweise dem Malignen Melanom nachgewiesen werden (Ladstein et al. 2012).

In besonderem Ausmaß an der Entstehung des Tumorstromas beteiligt sind die pankreatischen Sternzellen (PSC). Diese wurden 1998 als im gesunden Pankreasgewebe liegende Stromazellen identifiziert und können durch unterschiedlichste Mechanismen aktiviert werden und erhalten hierdurch myofibroblastäre Eigenschaften. Sie stellen Aktinfasern her, was eine Migration ermöglicht und setzen Kollagenfasern ins Interstitium frei. Sowohl akute als auch chronische Entzündungen führen zu einer Aktivierung beziehungsweise Formveränderung der pankreatischen Sternzellen.

Aktivierte PSC, erkennbar an einer veränderten Morphologie wie dem Verlust von intrazellulären Fetttropfen oder einer Proliferation von intrazellulärer alpha-SMA, wurden vorwiegend in kollagenreichen Bezirken gefunden. Es ist daher davon auszugehen, dass die PSC an der Entstehung der Pankreasfibrose beteiligt sind, wenn auch der eigentliche Ausgangspunkt der Entstehung bislang noch nicht hinreichend geklärt worden ist (Feig et al. 2012). Die pankreatischen Sternzellen spielen allerdings nicht nur eine Rolle im Rahmen der Fibroseentstehung sondern interagieren auch maßgeblich mit den Tumorzellen des duktales Pankreaskarzinoms. So haben Kokulturen mit PSC und den Tumorzellen zu einer vermehrten Ausschüttung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen geführt und somit zu einer Vermehrung von Tumorzellen. Dies konnte ebenso in in-vivo als auch in-vitro Experimenten festgestellt werden. Ein Zusammenführen dieser beiden Zellreihen führte zum Tumorwachstum sowie zu einer höheren Rate an Metastasierung. Genauso konnte gezeigt werden, dass PSC in der Lage sind die Stammzelllinie von Tumorzellen zu vermehren. Hier wurde sogar ein weiterer Therapieansatz mit den PSC als möglicher Angriffspunkt einer neuen Therapie diskutiert (Feig et al. 2012).

Heutzutage wird nicht mehr davon ausgegangen, dass die Fibrose eine Antwort des Körpers gegen den Tumor ist, sondern dass es eine Wechselwirkung zwischen Fibroblasten und Tumorzellen gibt, die sogar ein Wachstum begünstigen können (Balkwill et al. 2012). Diese Wechselwirkung führt zu einer starken Beeinflussung hinsichtlich Tumorentstehung sowie dessen Entwicklung und Therapieresistenz (Laconi 2007; Albini und Sporn 2007; Tlsty und Coussens 2006).

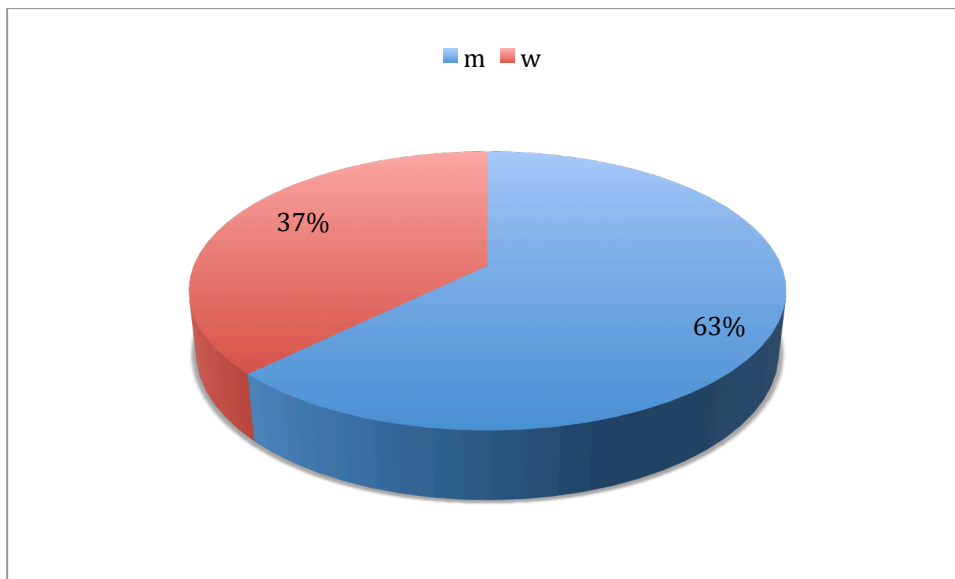
Die Stimuli, welche die pankreatischen Sternzellen zur Fibroseentstehung aktivieren, sind bislang noch nicht hinreichend definiert (Apte et al. 2004; Bachem et al. 2005).

Ziel dieser Arbeit war es daher mit Hilfe von histologisch untersuchbaren Parametern wie dem Ausmaß der desmoplastischen Stromareaktion innerhalb des Tumorgewebes, dem Vorhandensein einer Tumornekrose, sowie aus unterschiedlichen Tumormorphologien, einen Prognosefaktor zu ermitteln, indem diese Parameter mit dem Gesamtüberleben des Patienten korreliert wurden. Dies würde jenseits des klassischen TNM-Stadiums Möglichkeiten zur prognostischen Beurteilung von Pankreaskarzinomen und darüber hinaus einen Ansatz in Richtung individuell angepasster Therapie bieten.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2.1. Patienten

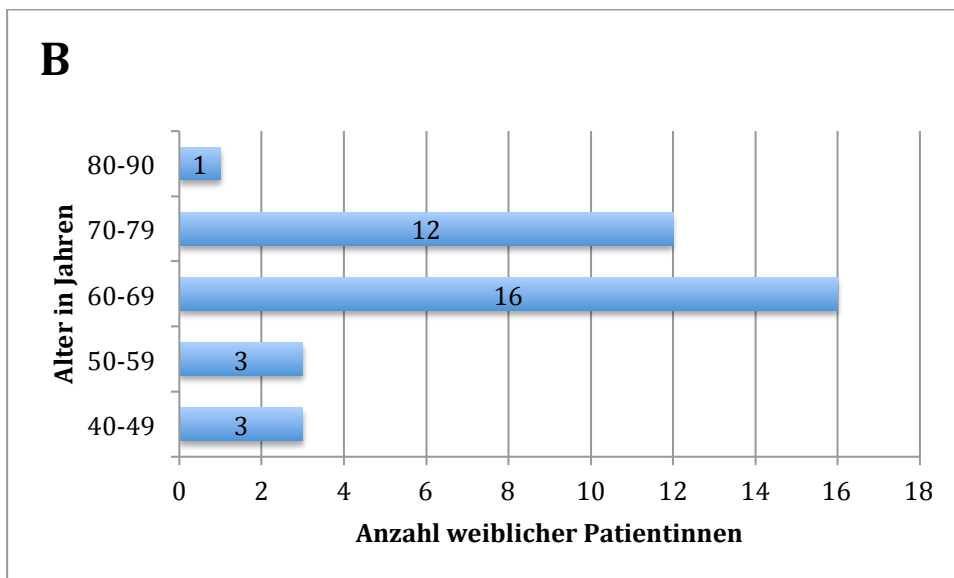
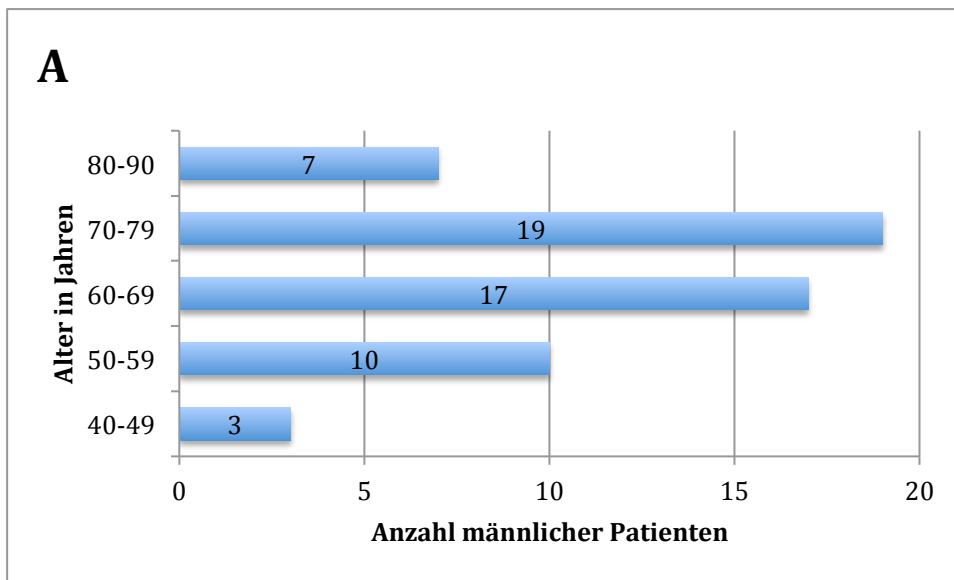
Retrospektiv sind die Daten von 91 Patientinnen und Patienten, die mit der Diagnose eines duktales Pankreaskarzinoms in dem Zeitraum zwischen 2005 und 2012 in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Kinderchirurgie der Universitätsmedizin Göttingen operiert wurden, ausgewertet worden. Hiervon waren  $n = 57$  (63 %) Männer und  $n = 34$  (37 %) Frauen (Abb. 3).



**Abb. 3:** Prozentuale Verteilung der Patienten auf Geschlechtergruppen der Rubriken „männlich“ und „weiblich“.

Bezüglich des Alters der Patienten bei Aufnahme waren, nach Altersgruppen gestaffelt, 5 % der männlichen Patienten zwischen 40 und 49 Jahren, 18 % zwischen 50 und 59 Jahren, 30 % zwischen 60 und 69 Jahren, 34 % zwischen 70 und 79 Jahren und 13 % zwischen 80 und 90 Jahren.

Bei den weiblichen Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der Aufnahme 8 % zwischen 40 und 49 Jahren, 9 % zwischen 50 und 59 Jahren, 46 % zwischen 60 und 69 Jahren, 34 % zwischen 70 und 79 Jahren und 3 % zwischen 80 und 90 Jahren (Abb. 4).

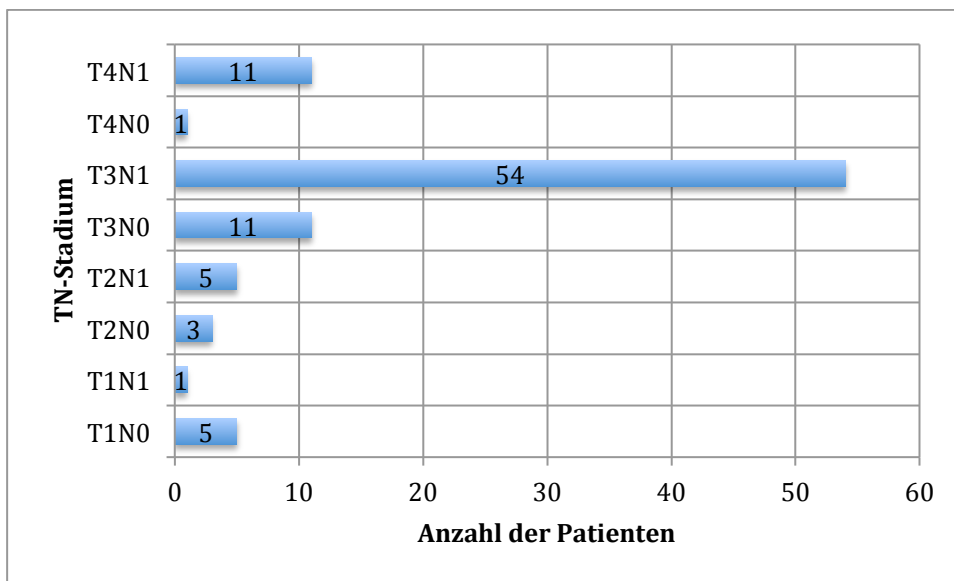


**Abb. 4:** Verteilung des Alters bei Aufnahme.  
**A:** männliche Patienten, **B:** weibliche Patientinnen

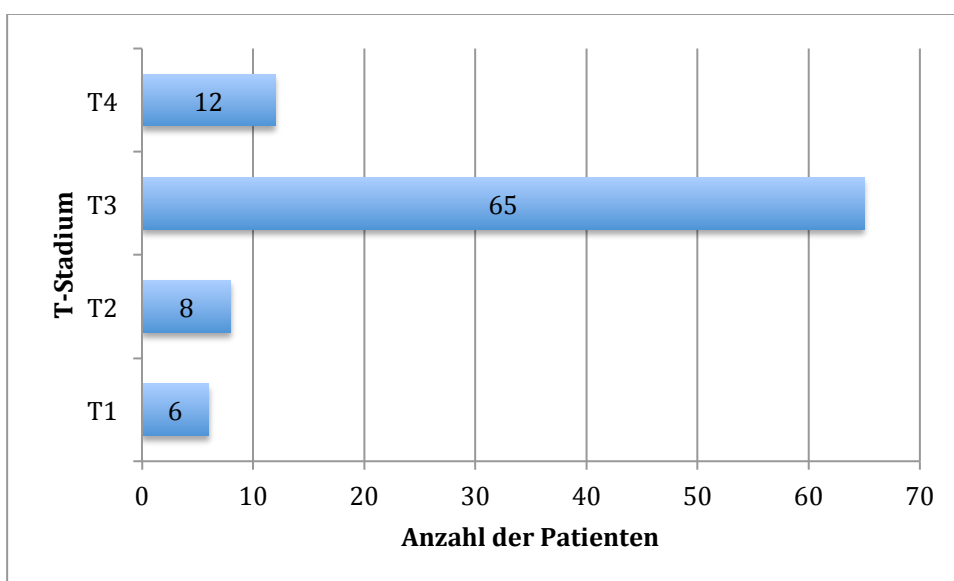
Entsprechend der diagnostizierten Tumorlokalisierung und der präoperativ/operativ festgestellten Tumorausdehnung, erhielten 76 Patienten eine pyloruserhaltende partielle Duodenopankreatektomie nach Traverso-Longmire. Zehn Patienten erhielten eine partielle Duodenopankreatektomie nach Kausch-Whipple und fünf Patienten eine davon abweichende Operation im Sinne einer Pankreaslinksresektion, Restpankreatektomie nach bereits stattgehabter Pankreasoperation oder einer totalen Pankreatektomie.

Bei den meisten Patienten zeigte sich hinsichtlich des TNM-Stadiums ein T3N1-Stadium, diese Gruppe macht  $n = 54$  (59 %) der Patienten aus. Jeweils  $n = 11$  (12 %) Patienten finden sich in den Stadien T3N0 und T4N1.

Jeweils  $n = 5$  (6 %) der Patienten befinden sich in den Stadien T2N1, und T1N0.  $N = 3$  (3 %) der Patienten befinden sich in dem Stadium T2N0 und nur 1 % in dem Stadium T1N1. Insgesamt befinden sich also  $n = 65$  (71 %) Patienten in einer Tumorausdehnung T3 ungeachtet des Nodalstatus (Abb. 5 und 6).

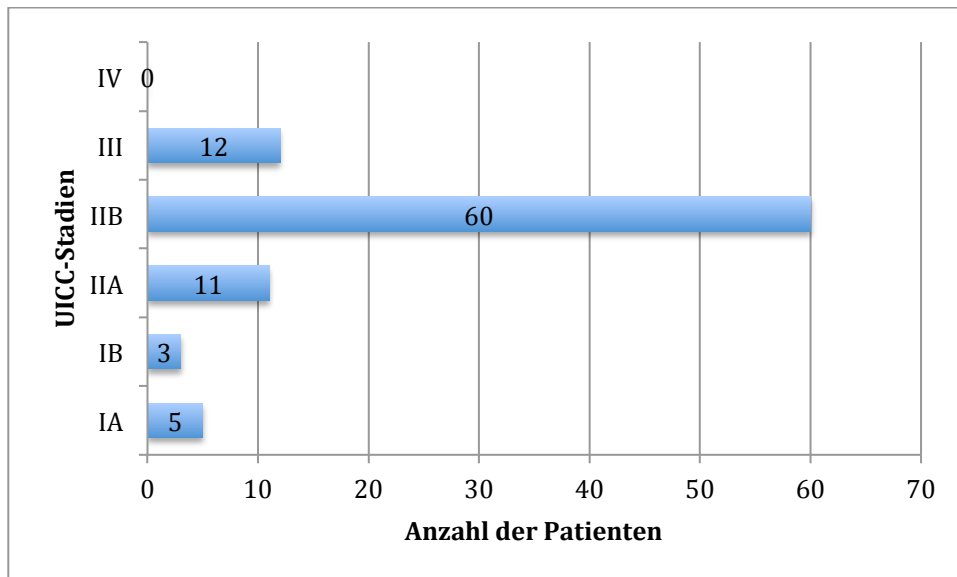


**Abb. 5:** Verteilung der Patienten nach Tumorausdehnung und Nodalstatus T1N0-T4N1.



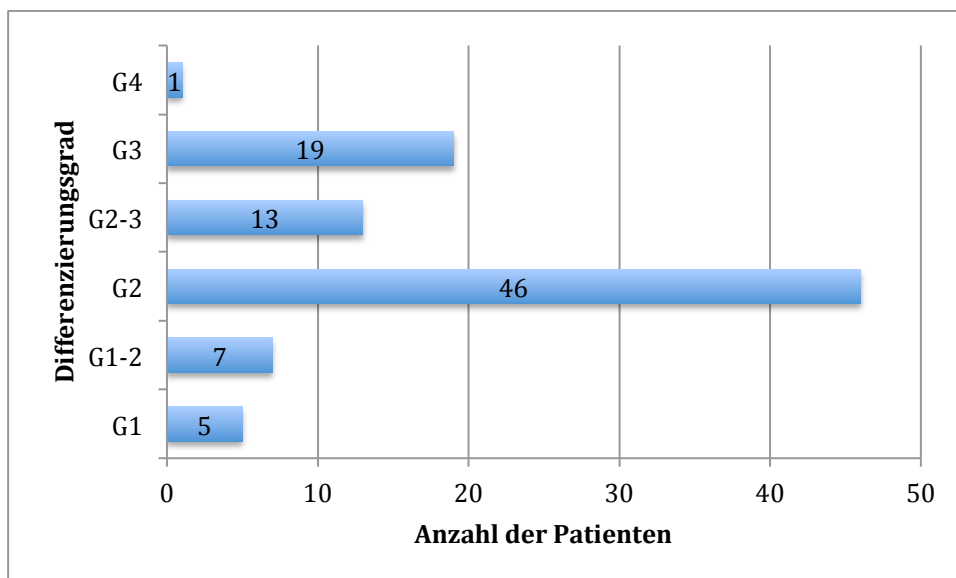
**Abb. 6:** Verteilung der Patienten nach Tumorausdehnung T1-T4.

Weiterhin lassen sich die Patienten auf die unterschiedlichen UICC-Stadien verteilen. Hier befinden sich  $n = 5$  (6 %) im Stadium IA,  $n = 3$  (3 %) im Stadium IB,  $n = 11$  (12 %) im Stadium IIA,  $n = 60$  (66 %) im UICC Stadium IIB,  $n = 12$  (13 %) im Stadium III, und keiner der Patienten befindet sich im Stadium IV, also keiner der Patienten mit den Zeichen einer Fernmetastasierung (Abb. 7).



**Abb. 7:** Verteilung der Patienten auf die UICC Stadien IA-IV.

Histologisch unterscheiden sich die Pankreasresektate außerdem im Hinblick auf den jeweiligen Differenzierungsgrad. 5 % der Patienten befinden sich in der G1-Gruppe, 8 % ( $n = 7$ ) befinden sich in der G1-G2-Gruppe, 51 % ( $n = 46$ ) der Patienten sind der G2-Gruppe zuzuordnen. Bei 14 % ( $n = 13$ ) findet sich der Differenzierungsgrad G2-G3, 21 % ( $n = 19$ ) befinden sich in der G3-Gruppe und 1 % sind G4 differenziert (Abb. 8).



**Abb. 8:** Verteilung der Patienten auf die Stadien der Differenzierungsgrade G1-G4.

## **2.2. Histopathologische Auswertung**

Vor histopathologischer Auswertung erfolgte eine standardisierte Routinepräparation. Diese wurde durch die Klinik für Pathologie der Universitätsmedizin Göttingen durchgeführt. Es wurde demnach erst Gewebe entnommen. Daraufhin erfolgte ein Zuschnitt der Proben in Blöcke mit einer Größe von etwa 1 x 1 x 2 cm. Diese wurden in vierprozentigem gepufferten Formalin fixiert. Dann erfolgte eine Einbettung in spezielle Einbettkassetten (Einbettkassetten, Klinipath, Duiven, Niederlande) mit Paraffin (Paraplast Plus 56 °C, McCormick, St. Louis, USA). Anschließend konnten anhand eines Rotationsmikrotoms (RM2035, Leica, Solms) 1 µm dicke Schnitte erstellt werden, welche dann auf dem Objektträger (Super Frost Plus, Microm, Walldorf) aufgebracht und insgesamt zwölf Stunden getrocknet wurden bei einer Temperatur von 58 °C im Wärmeschrank (Functionsline T12, Hereaus, Hanau). Zur Durchführung der Hämatoxylin-Eosin-Färbung erfolgte eine Rehydrierung der Schnitte entsprechend der absteigenden Alkoholreihe. Dann erfolgte die Färbung in Hämatoxylin nach Meyer zunächst für drei Minuten für das Anfärben der sauren Strukturen. Dann wurde eine Gegenfärbung der basischen Strukturen durchgeführt durch ein Überführen dieser in Eosin.

Abschließend erfolgte ein Durchlauf in entgegengesetzter Richtung der Alkoholreihe und es kam schließlich zum Eindeckeln der Schnitte mit Eukitt.

Die fertigen Präparate wurden nach unterschiedlichen Kriterien ausgewertet. Hierzu erfolgte die Untersuchung des Fibroseanteils im Normal- und Tumorgewebe, des Vorhandenseins von Nekrose im Tumorgewebe, des Differenzierungsgrades (Grading) und der morphologischen Subtypen.

### **2.2.1. FIBROSEANTEIL IM NORMAL- UND TUMORGEWEBE**

Zu Beginn der Untersuchung erfolgte eine Abgrenzung von Normalgewebe zu Tumorgewebe. Tumorgewebe hier erkennbar an dem Vorhandensein von entdifferenzierten Zellen eingebettet in chaotisch konfiguriertem destruiertem Gewebe, irregulärer Gefäßversorgung, Nekrosearealen und einer vermehrten Bildung von zum Teil verdrängender Gewebemasse. Im Gegensatz hierzu das Normalgewebe mit reifen, differenzierten, organotypischen Zellen in einer geordneten und erhaltenen Gewebestruktur.

Unabhängig voneinander wurde sowohl im Normalgewebe als auch im Tumorgewebe des jeweiligen Präparates der prozentuale Fibroseanteil im Verhältnis zu nicht fibrotischen Arealen erfasst.

Fibroseareale zeigten sich durch vermehrte Bildung kollagener Fasern mit zum Teil sichtbarem Untergang exokrinen Pankreasgewebes mit inselförmigen exokrinen Pankreasresten. Das Fibrosegewebe zeigte sich zudem stets zellarm mit Verdrängung benachbarter Strukturen. Zur Ermittlung des prozentualen Fibrosegrades wurde an bis zu acht Präparaten pro Patient unter vollständiger Einsicht des auf dem Objektträger sichtbaren Gewebes durch Einteilung in neun Quadrate mit einer Summe der Quadrate von 100 % der prozentuale Anteil der Fibrose im Verhältnis zum Restgewebe bestimmt.

### **2.2.2. VORHANDENSEIN VON NEKROSE**

Zur Erfassung einer bereits fortgeschrittenen Gewebeerstörung wurde die Nekrose im Tumorgewebe untersucht. Histomorphologisch zeigte sich ein nekrotisches Areal durch die Zerstörung der Läppchenstruktur mit verbreiterten Septen einhergehend mit Ödembildung, Vorkommen von vereinzelt Erythrozyten durch Einblutungen sowie der meist herdförmigen Zerstörung einzelner Azini. Des Weiteren waren häufig blaue Trümmerkerne von Zellen wie den neutrophilen Granulozyten oder Makrophagen zu erkennen sowie das Nebeneinander von intaktem Parenchym zu Inseln von Kolliquationsnekrose. Die Einteilung erfolgte in dichotomer Technik in Vorhandensein/Nichtvorhandensein einer Nekrose im Tumorgewebe ohne Berücksichtigung der Quantität.

### **2.2.3. DIFFERENZIERUNGSGRAD (GRADING)**

Es erfolgte weiterhin eine Einteilung des Tumors in seinen jeweiligen Differenzierungsgrad entsprechend seiner feingeweblichen Differenzierung. Hier wird erfasst, in wie weit verdächtige von gesunden Zellen abweichen. Je weniger eine Krebszelle dem Normalgewebe ähnelt, desto geringer differenziert ist sie.

Die Einteilung erfolgte nach Differenzierungsgrad G1-G4. G1 hier entsprechend einer guten Differenzierung, G2 einer mäßigen Differenzierung, G3 einer schlechten Differenzierung und G4 entsprechend undifferenziert.



#### **2.2.4. MORPHOLOGISCHE SUBTYPEN**

Ebenso wurde eine im Vorfeld festgelegte und von der Abteilung für Pathologie der Universität Göttingen anerkannte Einteilung in eine bestimmte Tumormorphologie-Gruppe vorgenommen. Hierzu gehörten die Gruppe 1, definiert als „normaler“ Subtyp, die Gruppe 2, definiert als extern schleimbildend, welche sich durch schleimbildendes Zylinderepithel mit dem Vorhandensein etlicher Becherzellen mit zum Teil neuroendokrinen Zellen auszeichnet. Die Gruppe 3, definiert durch das Vorhandensein von Siegelringzellen, mit an den Zellrand gedrückten Kernen mit häufig einhergehender Produktion großer Schleimengen, die Gruppe 4 als „undifferenzierter“ Subtyp und die Gruppe 5, definiert durch das Vorhandensein osteoklastärer Riesenzellen entsprechend überdurchschnittlich großer Zellen bestehend aus meist mehreren unförmigen oder gelappten Zellkernen.

### **2.3. Statistik**

Korreliert und statistisch ausgewertet wurde der prozentuale Anteil der Fibrose jeweils im Normal- und Tumorgewebe mit dem Gesamtüberleben (*Overall survival*). Dieses diente als Endpunkt und wurde gemessen ab dem Zeitpunkt der primären Datenerfassung bis zum Todeszeitpunkt des Patienten ohne definierbare Ursache. Erfasst wurde dies an Wiedervorstellungen des Patienten im Rahmen eines posttherapeutischen *Follow-Up*. Weiterhin mit dem Gesamtüberleben (*Overall survival*) korreliert wurden Nodalstatus, Tumornekrose, Tumormorphologie und Grading. Zum T-Stadium korreliert wurden Tumorfibrose, Grading, Tumornekrose und Tumormorphologie. Der Nodalstatus wurde korreliert mit Fibrose im Normalgewebe, Fibrose im Tumorgewebe und Grading.

Die statistische Auswertung erfolgte durch Prof. Dr. Tim Beißbarth, Leiter der Abteilung für medizinische Bioinformatik der Universitätsmedizin Göttingen.

Die Statistik wurde gerechnet in R ([www.R-project.org](http://www.R-project.org)). Zur Korrelation klinischer Variablen wie Fibrose und Grading mit Tumorausdehnung und Nodalstatus wurde der Korrelationstest Kendall's tau verwendet. Ein  $p < 0,05$  wird als signifikant gewertet. Es handelt sich hier um eine explorative Analyse ohne Verwendung einer multiplen Testkorrektur. Gerechnet wurde hiermit die Korrelation von Fibrose im Normalgewebe mit dem Nodalstatus, die Tumorfibrose mit der Tumorausbreitung, die Tumorfibrose mit dem Nodalstatus, das Grading mit der Tumorausbreitung und das Grading mit dem Nodalstatus. Zur Korrelation des Vorhandenseins von Tumornekrose auf die jeweilige Tumorausbreitung wurde der Kruskal-Wallis Test verwendet. Hier erfolgte die Rechnung diskret vs. kontinu-

ierlich und der Plot entsprechend eines scatterplot mit einzelnen Messwerten mit Boxplot (Median, Maximum, Minimum).

Als Survival-Analyse wurde das Cox-Model verwendet. Die Variable ist hier diskretisiert und die Darstellung erfolgte anhand einer Kaplan-Meier-Kurve. Die Ergebnisse wurden anhand der Hazard Ratios (HR) mit 95 %-igem Konfidenzintervall interpretiert. Der Test wurde mit proportionalen Hazards durchgeführt. Das *Overall Survival* (OS) steht für die Zeit von der Erstdiagnose bis zum Tod der Patienten unabhängig von der Ursache. Anhand dieses Testmodells wurde die Fibrose im Normalgewebe, die Tumorfibrose, das Grading, die Tumornekrose und die Morphologie mit dem Gesamtüberleben (OS) korreliert.

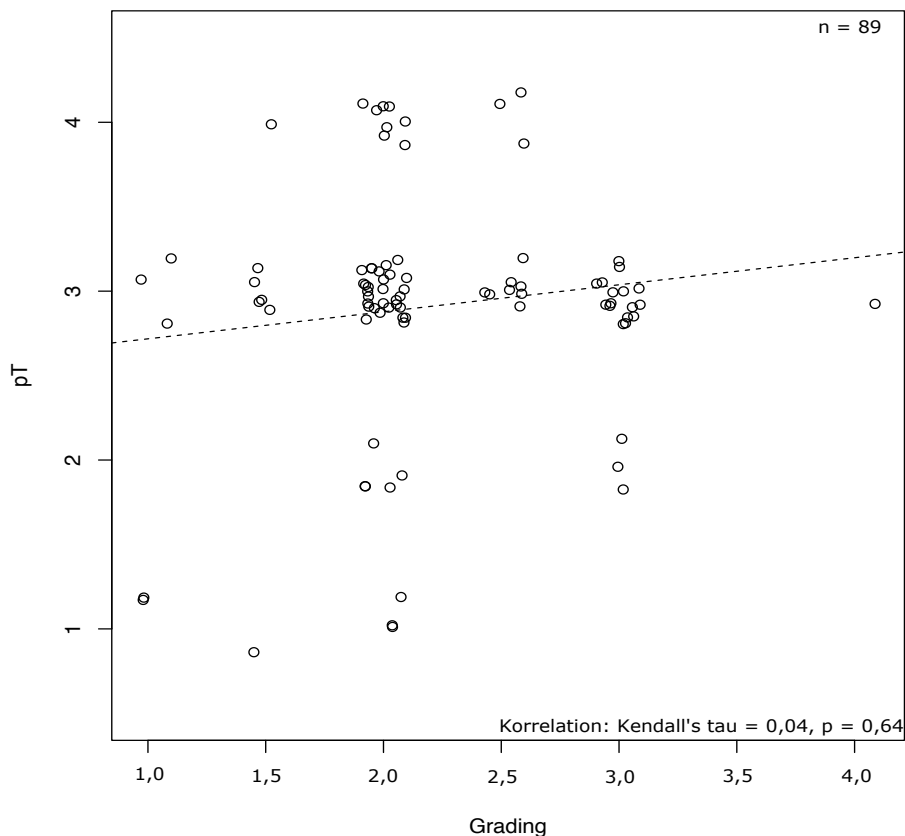
### 3. ERGEBNISSE

Von den 91 ausgewählten Patienten konnte für alle Patienten nach Korrelation o. g. Parameter eine Auswertung gemacht werden.

#### 3.1 Grading

##### 3.1.1 KORRELATION HISTOLOGISCHES GRADING MIT T-KATEGORIE (ABB. 9)

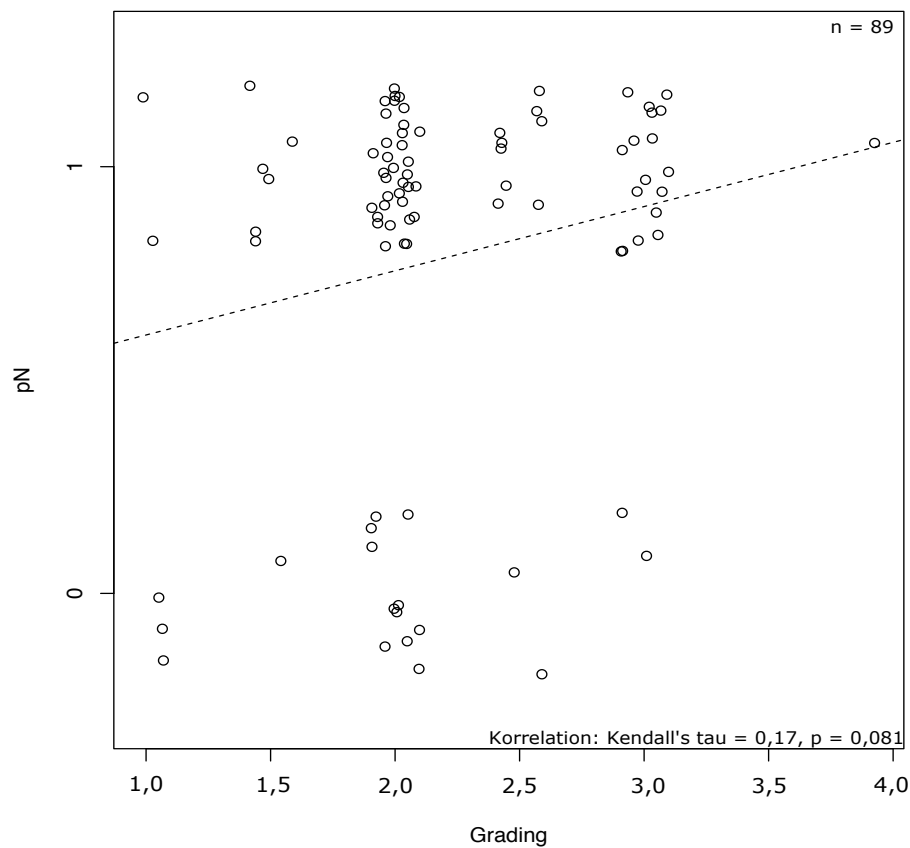
Nachfolgend wurde der Differenzierungsgrad des Tumors, hier eingeteilt in G1-G4, mit der T-Kategorie, hier T1-T4 korreliert. Anhand der Abbildung und mit einem  $p = 0,64$  ergibt sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem histologischen Grading und der T-Kategorie. Somit kann bei einem hoch differenzierten Tumor nicht gleichzeitig von einer geringeren T-Kategorie und somit von einer geringeren Ausbreitung des Tumors ausgegangen werden.



**Abb. 9:** Korrelation histologisches Grading (G1-G4) mit T-Kategorie (T1-T4).

### 3.1.2 KORRELATION HISTOLOGISCHES GRADING MIT NODALSTATUS (ABB. 10)

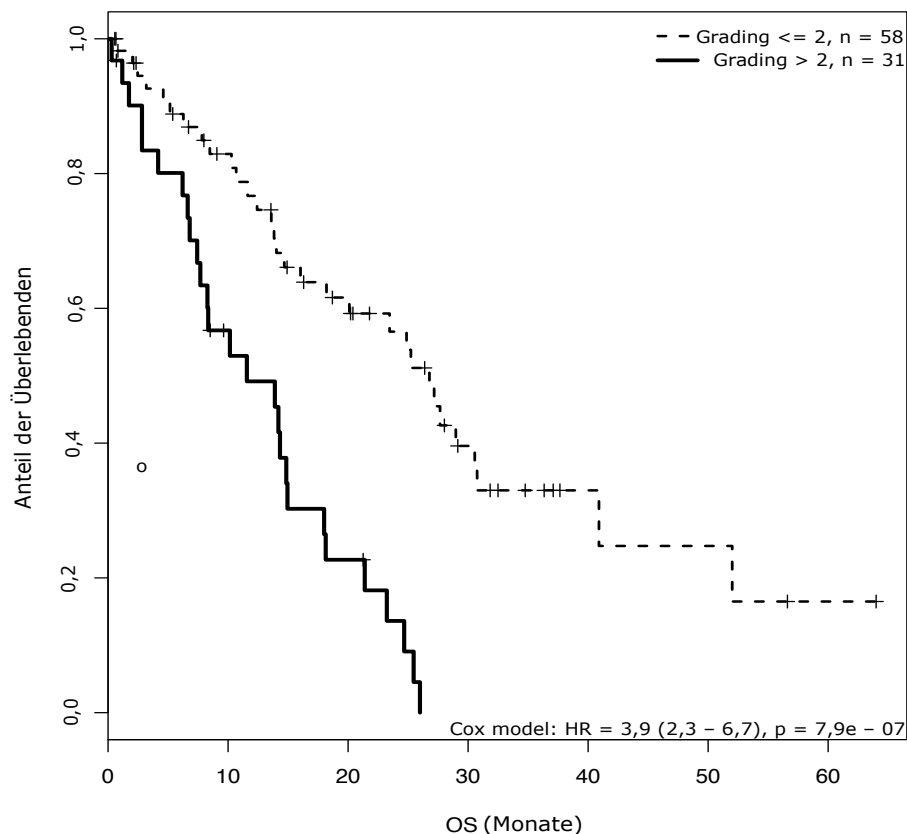
Des Weiteren wurde der Differenzierungsgrad mit dem Nodalstatus, hier N0 bzw. N1, des jeweiligen Tumors korreliert. Bei  $p = 0,081$  konnte hier ebenfalls kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Hier sieht man graphisch eine Tendenz, dass je höher das Grading, desto eher eine nodale Positivität. Dies passt zu der Annahme, dass aggressive Tumoren in der Regel eher nodal positiv sind.



**Abb. 10:** Korrelation histologisches Grading (G1-G4) mit Nodalstatus (N0-N1).

### 3.1.3 KORRELATION HISTOLOGISCHES GRADING MIT GESAMTÜBERLEBEN (ABB. 11)

Wie bereits bekannt gehen entdifferenzierte Tumoren auch mit einer höheren Aggressivität des Tumors und somit mit einem schlechteren Gesamtüberleben einher. Somit wurde der Anteil der Überlebenden Patienten zum Gesamtüberleben dargestellt in Abhängigkeit des histologischen Grading des Tumors. Zur besseren Gruppenbildung bei kleiner Fallzahl wurden die G1 und G2 Tumoren (Grading  $\leq 2$ ) sowie G3 und G4 Tumoren (Grading  $> 2$ ) zusammengefasst. Bei insgesamt 58 Patienten mit einem Grading  $\leq 2$  zeigte sich, gemessen in Monaten, ein deutlich besseres Gesamtüberleben als bei den 31 Patienten mit einem Grading  $> 2$ . Bei  $p = 7,9e-07$  konnte also ein signifikanter Zusammenhang und eine negative Korrelation festgestellt werden. Hier geht also ein Grading  $> 2$  mit einem schlechteren Gesamtüberleben einher und ein Grading von  $\leq 2$  mit einem besseren Gesamtüberleben. Dies bestätigt die höhere Aggressivität des Tumors in Abhängigkeit von dessen Differenzierungsgrad.

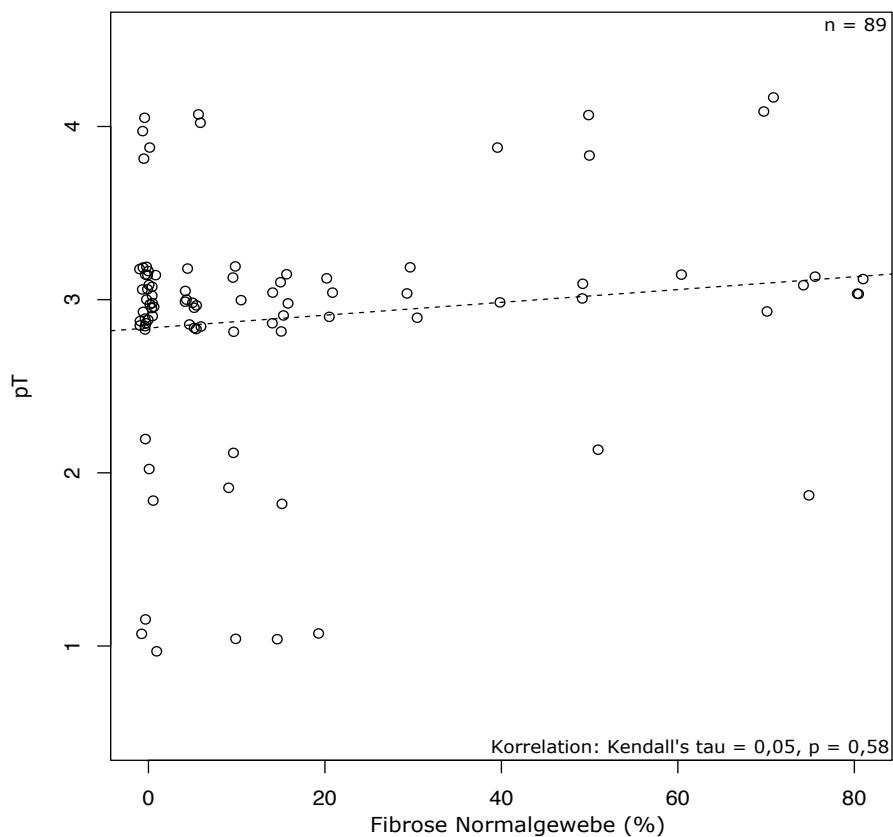


**Abb. 11:** Anteil der Überlebenden gemessen am Gesamtüberleben (OS) in Monaten in Abhängigkeit vom histologischen Grading (G1 und 2 ( $\leq 2$ ) vs. G3 und 4 ( $> 2$ )).

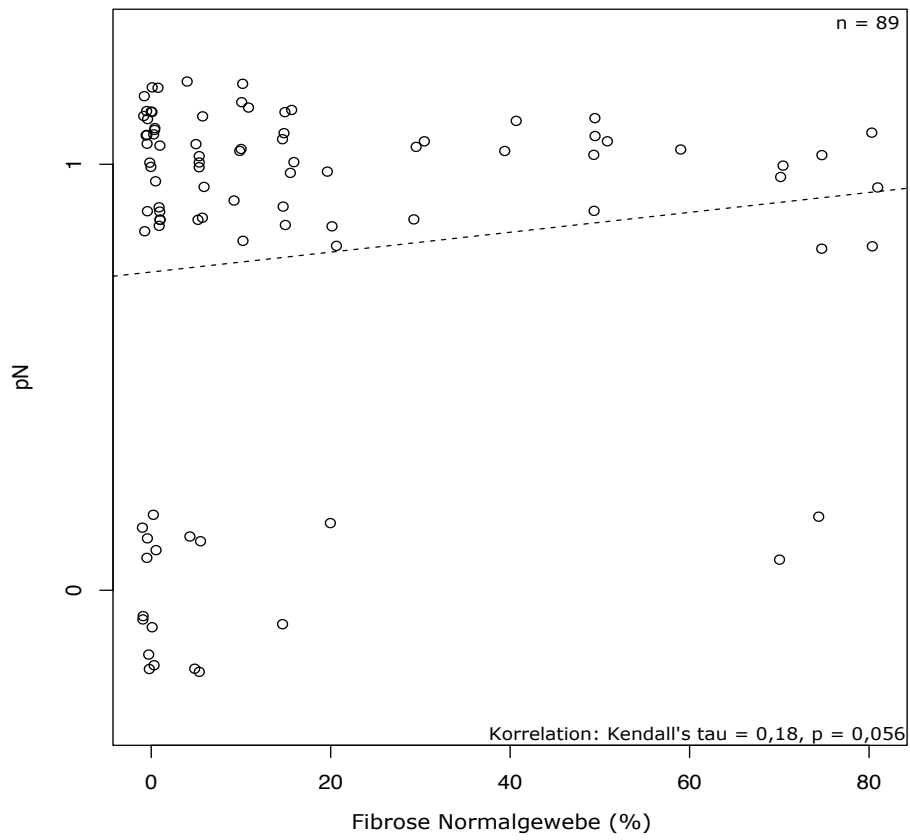
## 3.2 Fibrose

### 3.2.1 KORRELATION FIBROSE IM NORMALGEWEBE MIT T-KATEGORIE SOWIE NODALSTATUS (ABB. 12 A+B)

Aus der Untersuchung des Normalgewebes nach den zuvor genannten Kriterien ergibt sich ein Fibroseanteil von 5 % (*range* 0-80 %). Zur Beurteilung ob es einen Zusammenhang zwischen der Fibrose im Normalgewebe und den bekannten klinischen Parametern T-Kategorie und/oder Nodalstatus gibt erfolgte die Korrelation. Für beide Parameter wird deutlich, dass der Grad der Fibrose überwiegend im niedrigen Bereich verteilt ist. Während der visuelle mutmaßliche Unterschied in der T-Kategorie eine vermehrte Fibrose bei höherer T-Kategorie vermuten lässt, führt die Berechnung zu keiner nennenswerten Korrelation (Abb. 12 a). Ähnlich verhält es sich bei der Korrelation mit dem Nodalstatus. Hier findet sich bei pN1-Patienten wesentlich häufiger ein höherer Grad an Fibrose im Vergleich zu den nodal negativen Patienten. Wenngleich sich mit  $p = 0,056$  keine signifikante Korrelation findet, so meint man jedoch einen Trend erkennen zu können (Abb. 12 b).



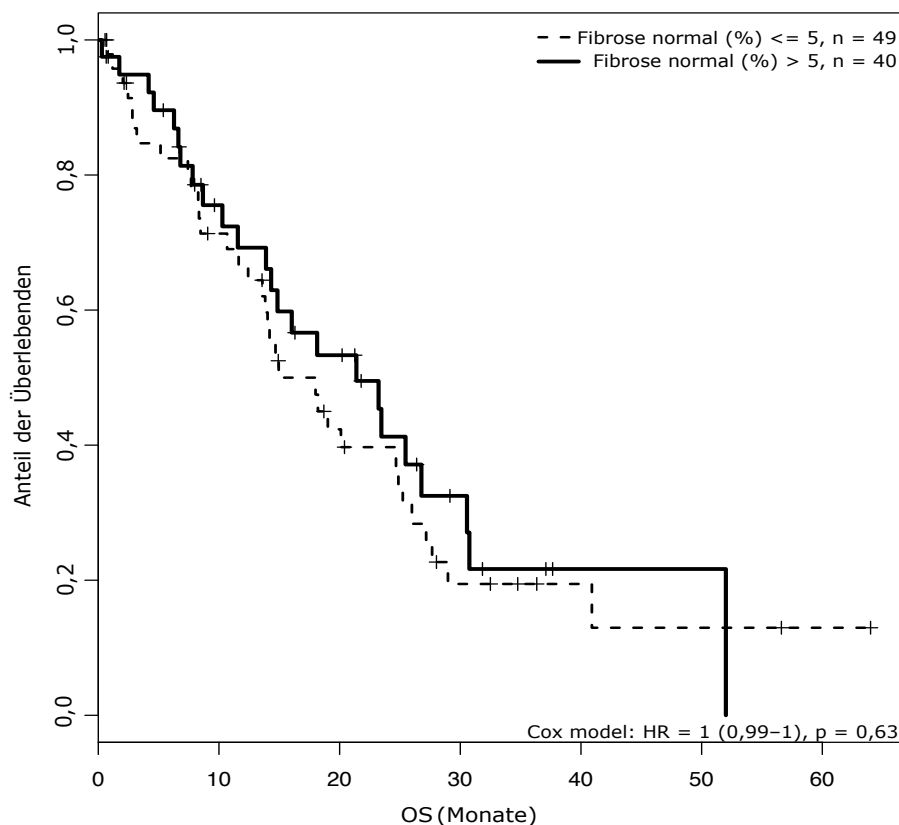
**Abb. 12 a:** Korrelation Fibrose im Normalgewebe (in %) mit T-Kategorie, aufgeteilt in pT1-pT4.



**Abb. 12 b:** Korrelation Fibrose im Normalgewebe (in %) mit Nodalstatus, aufgeteilt in N0/N1.

### 3.2.2 KORRELATION FIBROSE IM NORMALGEWEBE ZUM GESAMTÜBERLEBEN (ABB. 13)

Zur Beurteilung eines Zusammenhanges von Fibrose im Normalgewebe mit dem Gesamtüberleben erfolgte entsprechend des Medians der Fibroseverteilung eine Gruppenbildung beim cut-off Wert von fünf. Mit  $p = 0,63$  ergibt sich kein signifikanter Zusammenhang. Bei einer Fibrose von  $> 5\%$  im Normalgewebe, hier bei insgesamt 40 Patienten, zeigt sich kein signifikant besseres Gesamtüberleben als bei den 49 Patienten mit  $< 5\%$  Fibrose im Normalgewebe. Somit findet sich in diesem Kollektiv bei der Betrachtung des Normalgewebes kein Zusammenhang zwischen Prognose der Patienten und Fibrosegrad im gesunden Gewebe.

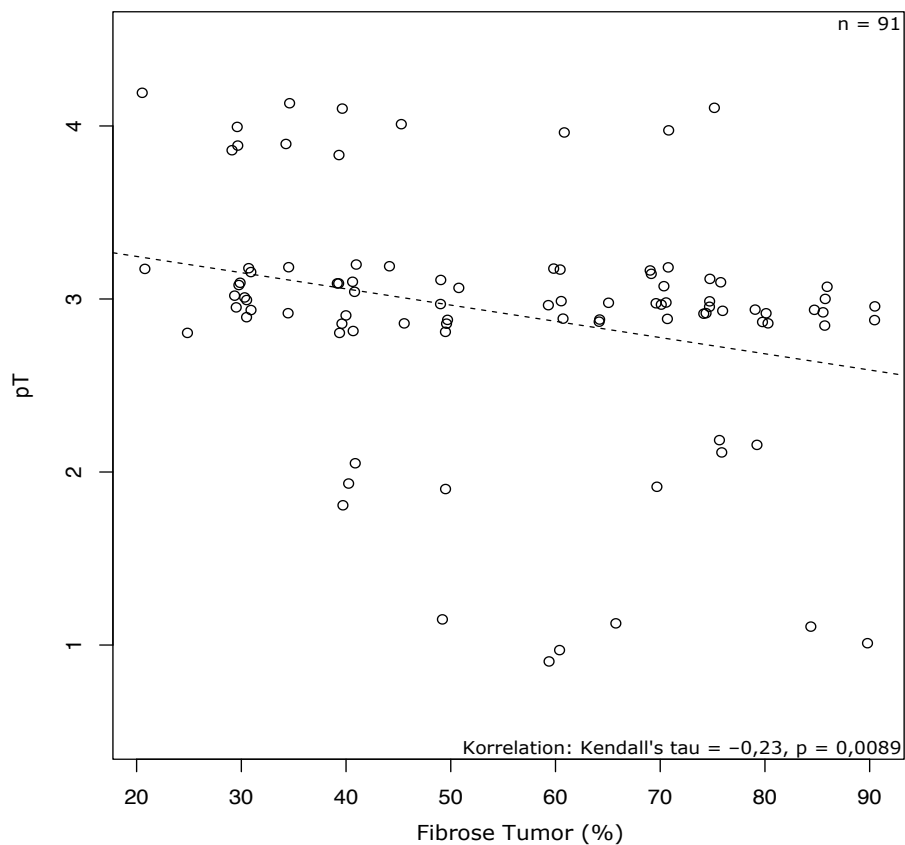


**Abb. 13:** Anteil der Überlebenden gemessen am Gesamtüberleben (in Monaten) in Abhängigkeit der Fibrose im Normalgewebe (in %).



### 3.2.3 KORRELATION TUMORFIBROSE MIT T-KATEGORIE (ABB. 14)

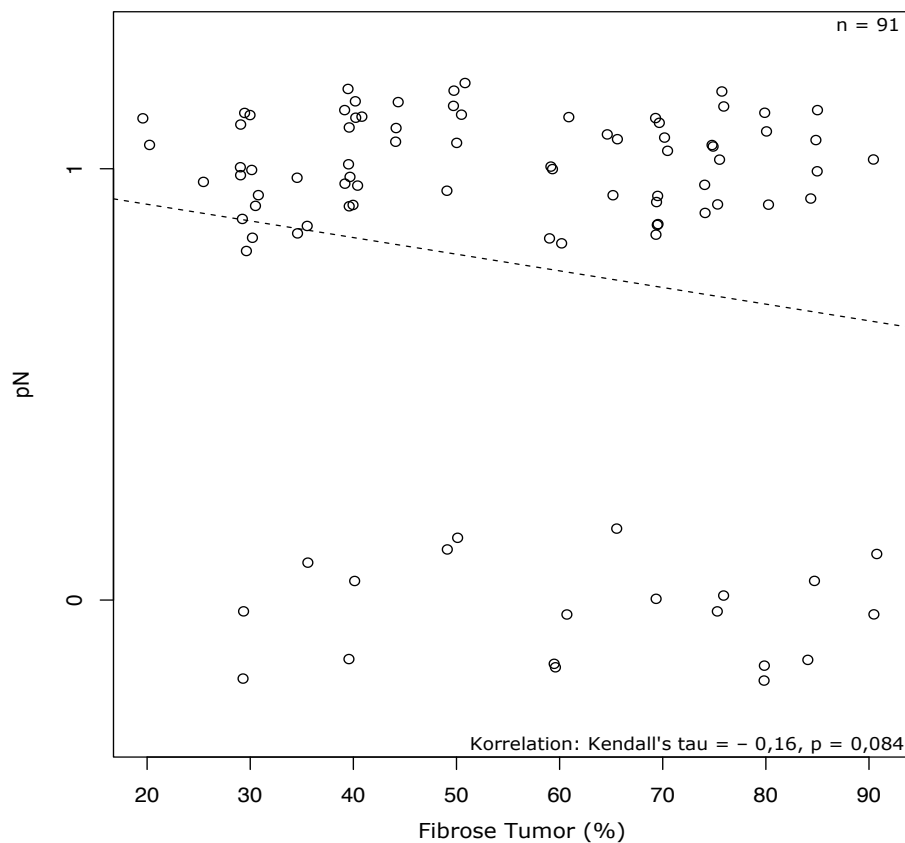
Entsprechend der Untersuchungen am Normalgewebe erfolgte dann die Korrelation der Fibrose im Tumorgewebe mit der T-Kategorie. Insgesamt zeigte das Tumorgewebe im Median eine Fibrose von 60 % (*range* 20 % bis 90 %). Nach Korrelation des prozentualen Anteils der Tumorfibrose mit der jeweiligen T-Kategorie des Tumors zeigte sich mit  $p = 0,0089$  eine signifikante Korrelation. Dabei wird deutlich, dass die Tumorfibrose mit steigender T-Kategorie abnimmt.



**Abb. 14:** Korrelation Tumorfibrose (in %) mit T-Kategorie (aufgeteilt in pT1-4).

### 3.2.4 KORRELATION TUMORFIBROSE MIT NODALSTATUS (ABB. 15)

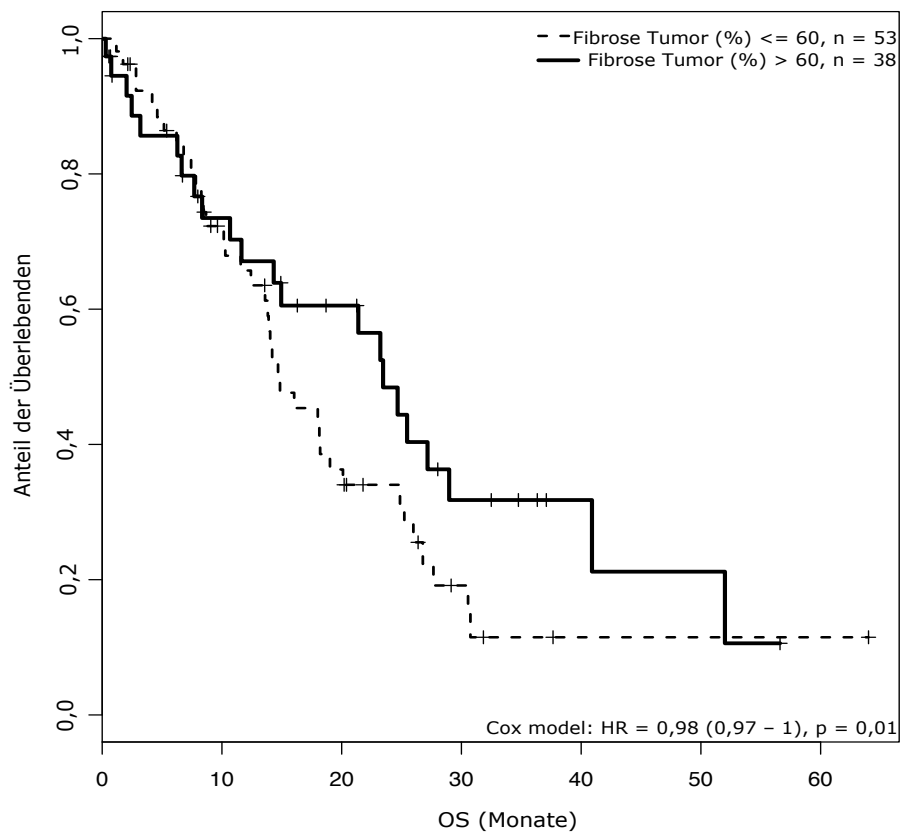
In Analogie zur T-Kategorie wurde die Korrelation zum Nodalstatus ausgewertet. Hierbei findet sich jedoch keine klar signifikante Beziehung zwischen LK (Lymphknoten)-Positivität- und Negativität ( $p = 0,084$ ). Man meint jedoch auch hier eine Tendenz ableiten zu können und somit eine Hypothese aufstellen zu können, dass bei nodal positiven Patienten die Tumorfibrose niedriger ist als bei nodal negativen Patienten. Dies wäre in Anbetracht der Ergebnisse der T-Kategorie deckungsgleich von der Ausrichtung.



**Abb. 15:** Korrelation Tumorfibrose (in %) mit Nodalstatus (aufgeteilt in pN0 und pN1).

### 3.2.5 KORRELATION TUMORFIBROSE ZUM GESAMTÜBERLEBEN (ABB. 16)

Betrachtet man die Fibrose im Tumorgewebe erfolgt zunächst die Einteilung in zwei Gruppen. Dies wurde erneut basierend auf dem Median durchgeführt. Dieser lag für die Tumorfibrose bei 60 % (*range* 20 % bis 90 %). Dabei zeigt sich, dass wenig Fibrose im Tumor mit einem schlechten Gesamtüberleben (*Overall survival*) einhergeht ( $p = 0,01$ ). Dies deckt sich ebenfalls mit den indirekten Parametern von Nodalstatus und T-Kategorie, welche bekanntermaßen ebenfalls mit dem Gesamtüberleben korrelieren.

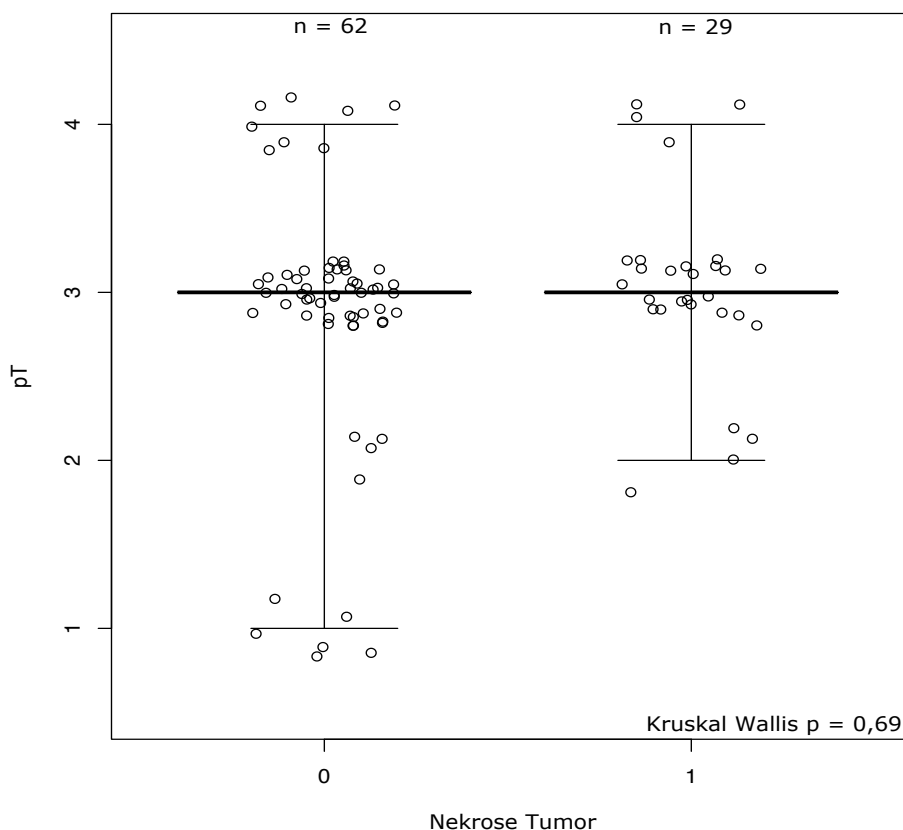


**Abb. 16:** Anteil der Überlebenden gemessen am Gesamtüberleben (OS) (in Monaten) in Abhängigkeit der Tumorfibrose (in %).

### 3.3 Nekrose

#### 3.3.1 VERTEILUNG TUMORNEKROSE ZUR T-KATEGORIE (ABB. 17)

Im Tumorgewebe wurde weiterhin das Vorhandensein von Nekrose untersucht. Hier fanden sich bei 29 Patienten Nekroseareale im Tumorgewebe und bei 62 Patienten konnte keine Nekrose im Tumorgewebe festgestellt werden. Unter der Vorstellung, dass das Vorhandensein einer Tumornekrose mit der Ausdehnung des Tumors selbst zusammenhängen könnte, wurde diese im Folgenden mit der T-Kategorie des Tumors korreliert. Einen klaren Zusammenhang zwischen T-Kategorie und Nekrose findet sich hierbei nicht ( $p = 0,69$ ). Die Anhäufung im Bereich von pT3 ist im Wesentlichen dem typischen Verteilungsmuster der T-Kategorien resezierter Patienten in einem konsekutiven aufgearbeiteten Kollektiv geschuldet.

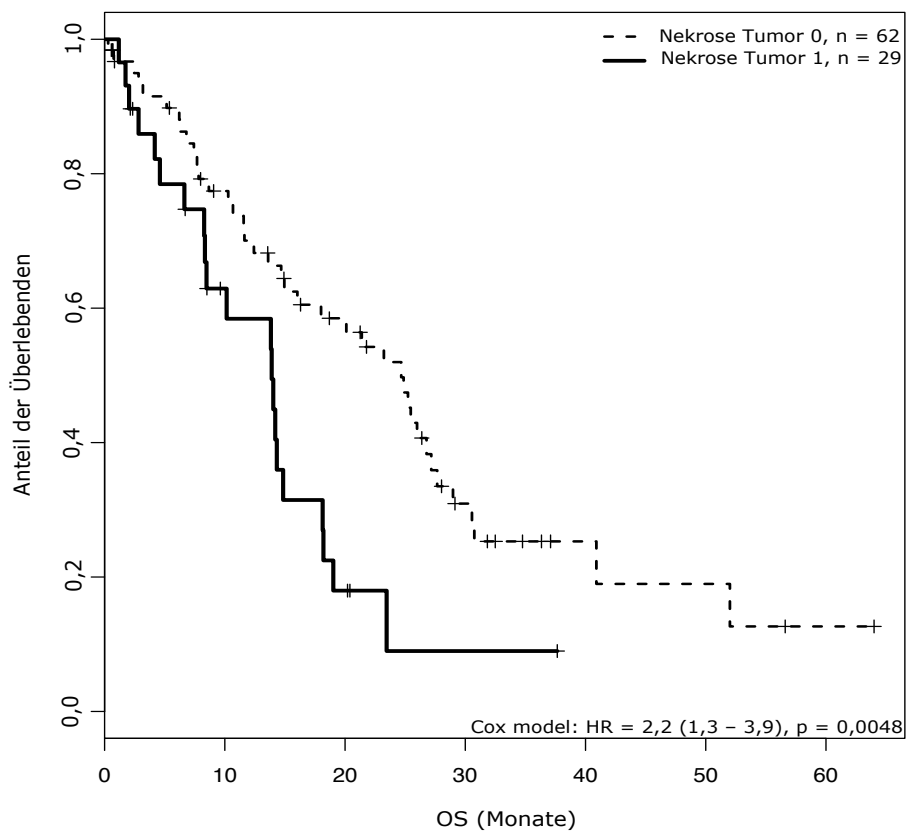


**Abb. 17:** Verteilung Tumornekrose (0 = keine Tumornekrose, 1 = Tumornekrose) zur T-Kategorie (T-Kategorie pT1-4).

### 3.3.2 KORRELATION TUMORNEKROSE ZUM GESAMTÜBERLEBEN (ABB. 18)

Nachdem kein Zusammenhang zwischen Tumornekrose und T-Kategorie festgestellt werden konnte wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer Tumornekrose und dem Gesamtüberleben untersucht. Bei den 29 Patienten mit Nekrosearealen im Tumorgewebe zeigte sich ein deutlich schlechteres Überleben als bei den 62 Patienten ohne Tumornekrose.

Mit  $p = 0,0048$  ergibt sich ein signifikanter Zusammenhang zum Gesamtüberleben. Somit geht das Vorhandensein einer Tumornekrose mit einem schlechteren Gesamtüberleben einher.



**Abb. 18:** Anteil der Überlebenden gemessen am Gesamtüberleben (in Monaten) in Abhängigkeit der Tumornekrose (0 = keine Tumornekrose, 1 = Tumornekrose).

### 3.4 Morphologie

Anhand der histopathologischen Untersuchung der einzelnen Pankreaskopfresektate wurden unterschiedliche Tumormorphologien erfasst (siehe Tab. 4).

**Tabelle 4:** Tumormorphologien 1-5 anhand der histopathologischen Untersuchung

---

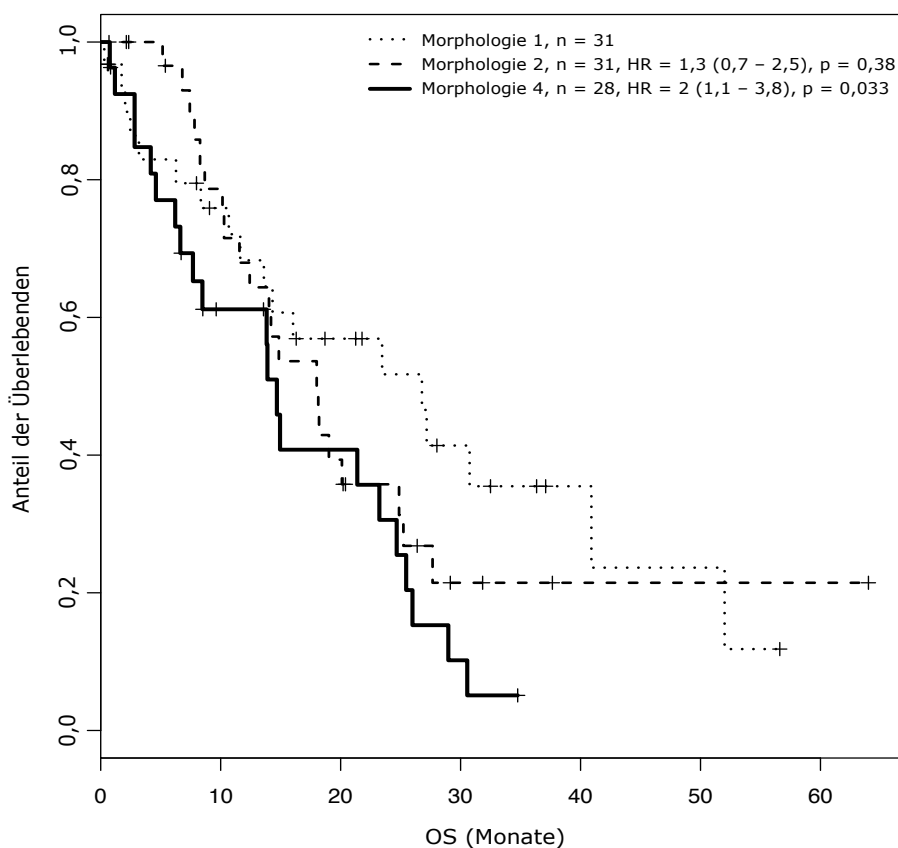
Morphologie 1	normal
Morphologie 2	extern schleimbildend
Morphologie 3	Vorhandensein von Siegelringzellen
Morphologie 4	undifferenziert desmoplastisch
Morphologie 5	Vorhandensein osteoklastärer Riesenzellen

---

Insgesamt 31 Patienten besitzen den normalen Typ, also normales Tumorgewebe. Weitere 31 Patienten zeigen extern schleimbildende Komponenten im Tumorgewebe und bei 28 Patienten findet sich der undifferenzierte desmoplastische Typ. Weiterhin konnte bei keinem der von uns ausgewählten Patienten das Vorhandensein osteoklastärer Riesenzellen nachgewiesen werden. Dieses wurde somit bei nicht vorhandener Fallzahl nicht weiter berücksichtigt und nicht in die statistischen Auswertung mit einbezogen.

### 3.4.1 KORRELATION MORPHOLOGIE (1, 2, 4) ZUM GESAMTÜBERLEBEN (ABB. 19)

Im Weiteren wurden die drei Subtypen „normal“ (Morphologie 1), „extern schleimbil- dend“ (Morphologie 2) und „undifferenziert desmoplastisch“ (Morphologie 4) in Bezug auf das Gesamtüberleben aufgetragen. Hierbei zeigt sich, dass diejenigen Patienten mit einer Typ 4 Morphologie ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben zeigten als diejeni- gen mit einer Typ 2 oder Typ 1 Morphologie. Einen wesentlichen Unterschied zwischen den beiden Typen 1 und 2 fand sich im Bezug auf das Überleben nicht.



**Abb. 19:** Anteil der Überlebenden gemessen am Gesamtüberleben (Overall Survival in Monaten) in Abhängigkeit der jeweiligen Morphologien (1, 2, 4).

## 4. DISKUSSION

Die Beurteilung und Kenntnis von prognostischen und prädiktiven Parametern ist bei malignen Tumoren von großem klinischen Interesse. Valide Parameter, zusammen mit dem klinischen Bild und dem Allgemeinzustand des Patienten, können es im Idealfall erlauben ein individuelles Therapieregime zu erstellen. Somit können unnötige adjuvante oder neoadjuvante Therapien dem Patienten erspart werden, intensivere Therapieregime eingesetzt oder frühzeitig eine Therapieumstellung angestrebt werden. Insbesondere bei den Tumoren die klinisch erst spät entdeckt werden können, wie z.B. dem Pankreaskarzinom, sind sie ein probates Mittel, um frühzeitig eine gezielte Therapie einzuleiten. Mit zunehmendem Verständnis molekularbiologischer Ansätze und Weiterentwicklung diagnostischer Techniken rücken klassische lichtmikroskopische Untersuchungen zunehmend in den Hintergrund. Insbesondere bei Tumoren mit ausgesprochener Tumorerheterogenität und wechselnder Zusammensetzung von Tumorzellen und Tumorstroma erscheint die Analyse auf zellulärer Ebene durch eine allgemeine Einschätzung jedoch weiterhin von Bedeutung. Entsprechend sollte die Bedeutung verschiedener lichtmikroskopisch erhobener Parameter am Operationspräparat in Bezug auf ihre prognostische Bedeutung erhoben werden.

Zur näheren Untersuchung wurden insgesamt 91 Patientinnen und Patienten mit der Diagnose eines Pankreaskarzinoms herangezogen, welche zwischen den Jahren 2005 und 2012 in der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie der Universitätsmedizin Göttingen eine Pankreasoperation erhielten. Entsprechend wurden nur Patienten ohne präoperative Zeichen einer Fernmetastasierung ausgewählt. Hiervon waren  $n = 57$  (63 %) Männer und  $n = 34$  (37 %) Frauen. Der Großteil der sowohl männlichen als auch weiblichen Patienten und Patientinnen des untersuchten Patientenkollektivs befanden sich zwischen dem 60. und 80. Lebensjahr. Dieses entspricht in etwa dem mittleren Alter der Patienten bei Diagnosestellung eines Pankreaskarzinoms (Barnes et al. 2016).

Bei den meisten Patienten des ausgewählten Kollektivs fand sich hinsichtlich des Tumorstadiums ein T3N1-Stadium ( $n = 54$ , 59 %). Ungeachtet des Nodalstatus befanden sich insgesamt 65 Patienten (71 %) in der T3-Kategorie. Dies entspricht ebenfalls den zu erwartenden Ergebnissen, da basierend auf aktuellen klinischen Studien bei der Mehrzahl der Patienten bei Diagnosestellung eines resektablen Pankreaskarzinoms mindestens ein T3-Tumor vorliegt (Okano und Suzuki 2014). Bezüglich des Differenzierungsgrades waren 46 Resektate (51 %) gut (G2) differenziert.



Ebenso findet sich die bereits beschriebene und von anderen Tumorentitäten bekannte Korrelation des Differenzierungsgrades der resezierten Pankreaskarzinome zum Gesamtüberleben der Patienten (Sellner et al. 2011). Somit ist insgesamt die retrospektive Kohorte repräsentativ.

Wesentlicher Kern der Arbeit war die Untersuchung fünf verschiedener Morphologietypen. Dabei wurde zwischen dem „normalen“ duktalem Typ, dem „extern schleimbildenden“ Typ, dem „siegelringzelligen“ Typ, dem „desmoplastischen“ Typ sowie dem „undifferenzierten“ Typ mit osteoklastären Riesenzellen unterschieden.

Den hier genannten „desmoplastischen Typ“ haben wir anhand einer undifferenzierten Stromamasse definiert, dementsprechend gemäß dem Vorhandensein von großen Mengen an desmoplastischer Stromareaktion. Dieser Morphologietyp gehört, anders als die anderen oben genannten Typen, nicht offiziell zu der Einteilung der histomorphologischen Subtypen des duktalem Pankreaskarzinoms und wird hier deswegen gesondert erwähnt. Die Einteilung in diesen von uns definierten Typen versucht noch einmal isoliert die Bedeutung großer Mengen an desmoplastischer Stromareaktion hervorzuheben und hier einen Vergleich zu anderen offiziellen Subtypen zu ziehen.

Entsprechend konnte gezeigt werden, dass es einen Zusammenhang zwischen den unterschiedlichen morphologischen Subtypen und dem Gesamtüberleben der Patienten gibt. Nach jeweiliger Korrelation mit dem Gesamtüberleben der Patienten, konnte für den undifferenzierten desmoplastischen Typ des duktalem Pankreaskarzinoms ein signifikant ( $p=0,033$ ) schlechteres Gesamtüberleben im Vergleich zu Karzinomen mit einem extern schleimbildenden Morphologietyp oder mit einem normalen duktalem Typ gezeigt werden.

Die schlechtere Prognose von Tumoren, die eine ausgeprägte desmoplastische Reaktion aufweisen, konnte in der Vergangenheit in unterschiedlichen Studien am Mausmodell gezeigt werden. In Analogie zum Menschen zeigte sich in den Tumoren der Maus, bedingt durch das Tumorstroma, wenig Perfusion und Vaskularisation. Der Testgruppe an Mäusen wurde ein Medikament verabreicht (IPI 926), welches den Hedgehog-Signalweg hemmt und somit eine pharmakologisch induzierte Reduktion der Stromal Masse herbeiführt. Dies führte zu einer erhöhten Vaskularisation. Nachfolgend erhielten auch diese Mausmodelle eine Chemotherapie. Es konnte gezeigt werden, dass es zwischen dem Therapieansprechen von Chemotherapeutika, eingeschlossen Gemcitabine, an eben diesen Mausmodellen, verglichen mit dem Ansprechen bei menschlichen duktalem Adenokarzinomen, eine Diskrepanz gibt. Als Maß dient dabei die Größe der Tumorumgebung (Olive et al. 2009).

Eine Therapie mit Gemcitabin zeigte sich deutlich wirksamer bei den Mausmodellen mit medikamentös reduzierter Stromaler Masse und führte zu einem signifikanten Anstieg der mittleren Überlebensrate. Das Vorhandensein von desmoplastischem Gewebe scheint also aufgrund der Verschlechterung der Gefäßsituation die Tumorentstehung zu fördern bzw. den Ausgangspunkt für eine Chemotherapie aus oben genannten Gründen zu verschlechtern (Olive et al. 2009). Hier könnte man demnach bereits nach einfacher lichtmikroskopischer Untersuchung und Feststellung großer Mengen desmoplastischer Stromareaktion die Wahl weiterer Therapieoptionen entsprechend anpassen.

Da, wie oben beschrieben, der undifferenzierte desmoplastische Typ mit größeren Mengen desmoplastischer Stromareaktion im Vergleich zu den anderen Morphologietypen einhergeht, kann hieraus anhand der vorliegenden Daten bestätigt werden, dass ein großes Ausmaß an desmoplastischer Stromareaktion mit einer schlechteren Prognose einhergeht, bezogen auf die oben genannte statistische Korrelation des desmoplastischen Typen mit dem Gesamtüberleben im Vergleich zu anderen histomorphologischen Subtypen.

Die prognostische Bedeutung unterschiedlicher histologischer Subtypen wurde in der Vergangenheit bereits durchgeführt. In der Arbeit von Stotz et al. (2013) wurden diese Subtypen mit Parametern wie Tumorstadium, Tumorgrading und der Expression des Tumormarkers CA19-9 studiert und mit dem Gesamtüberleben korreliert. Hier konnte gezeigt werden, dass das duktales Adenokarzinom gemeinsam mit dem Azinuszellkarzinom im Gegensatz zu beispielsweise neuroendokrinen Tumoren mit einem schlechteren Gesamtüberleben einhergehen. Einen Unterschied bezüglich der Überlebensrate bei morphologischen Subtypen des duktales Adenokarzinoms, wie dem muzinösen nicht zystischen Subtyp, konnte allerdings hier nicht festgestellt werden (Stotz et al. 2013).

Ein weiteres, in dieser Arbeit ausgewertetes, morphologisches Kriterium war die Evaluation der Bedeutung von Tumornekrose. Histomorphologisch zeigte sich dies in 32 % (n = 29) der untersuchten Pankreaskopfresektate und war mit einem schlechteren Gesamtüberleben ( $p = 0,0048$ ) korreliert. Auch dieses Ergebnis konnte bereits in der Vergangenheit in Tiermodellen gezeigt werden. Ausgeprägtes Tumorstroma und verminderte Vaskularisation einhergehend mit größeren Mengen an Nekrose bedingen eine schlechtere Prognose. Damit vergesellschaftet erklärt sich auch die verminderte Wirksamkeit sonst gängiger Medikamente (Olive et al. 2009).

Weiterhin konnte bereits an anderen Tumorentitäten, wie beispielsweise dem malignen Melanom, die prognostische Bedeutung isoliert der Tumornekrose nachgewiesen werden. Hier konnte insbesondere bei pT4-Tumoren mit großen Mengen an Tumornekrose eine höhere Mitoserate, ein Anstieg an Ulzerationen und ein schlechteres Gesamtüberleben der Patienten festgestellt werden. Insbesondere im Vergleich zu dem prognostischen Marker der Ulzeration zeigte sich hier die Tumornekrose als weitaus größerer und bedeutenderer Prognosefaktor (Ladstein et al. 2012).

Dies konnte dementsprechend auch an den hiesigen Pankreasresektaten nach Korrelation mit dem Gesamtüberleben gezeigt werden und bestätigt somit die Bedeutung der Tumornekrose als Prognosefaktor an der Entität der duktaalen Pankreaskarzinome.

Nach lichtmikroskopischer Betrachtung und Quantifizierung der Fibrose zeigte sich in den hier vorliegenden Auswertungen bei einem Median von 60 % Fibrose (*range* 20 % bis 90 %) des begutachteten Tumoranteils bei dem o.g. Patientenkollektiv (n = 91) mit einem p = 0,01 ein signifikanter Überlebensvorteil bei anteilig > 60 % Fibrose gegenüber geringgradiger Fibrosierung. Dass ein hoher Fibroseanteil im Tumorgewebe mit einer günstigen Prognose einherzugehen scheint bestätigt eine Studie von Ozdemir et al. (2014) an Mausmodellen. Diese konnte zeigen, dass ein Fehlen jeglicher Fibroblasten, als möglicher Ausgangspunkt der Fibroseentstehung, zu einem beschleunigten Tumorwachstum und dementsprechend einer verminderten Überlebensrate führt. Hier wurden transgene Mäuse entwickelt mit der Möglichkeit Myofibroblasten aus dem Stroma zu eliminieren. Diese Elimination sowohl in Vorläuferläsionen als auch im duktaalen Adenokarzinom selbst führte zur Bildung invasiver entdifferenzierter Tumore mit gesteigerter Hypoxie, einer Anhäufung von Krebsstammzellen und insgesamt zu einem verringerten Überleben der Tiere. So konnte in Mausmodellen mit supprimierten Fibroblasten eine ebenfalls supprimierte Immunkontrolle mit vermehrter Bildung von CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> gezeigt werden. Hier spricht man von regulatorischen T-Zellen, welche die Fähigkeit besitzen das Immunsystem zu unterdrücken. Auch eine fehlende therapeutische Wirkung durch den Einsatz von Gemcitabine konnte an diesen Mausmodellen festgestellt werden.

Kontrovers allerdings dazu wurden in zwei weiteren Studien von Erez et al. (2010) sowie Feig et al. (2012) gegenteilige Ansätze diskutiert. Erez et al. (2010) beschäftigte sich hier mit der Interaktion von Fibroblasten und Tumorzellen, sowie mit den pankreatischen Sternzellen als Produzenten der Fibrose und dessen Aktivierung, welche bislang weiterhin nicht hinreichend geklärt wurde.

Hier stellte sich die Frage, ob es die Tumorzellen sind, welche die Fibroblasten zur Fibrosebildung aktivieren und der Tumor sich dessen zunutze macht um sich selbst zu schützen, oder ob die Fibroblasten durch externe Stimuli von Zellen des gesunden Gewebes aktiviert werden, um die Ausbreitung des Tumors hiermit einzuschränken. Es wurde beispielsweise der Interaktion von inflammatorischen und immunmodulatorischen Zellen mit karzinomasoziierten Fibroblasten eine regulatorische Funktion zugesprochen. Erez et al. (2010) zeigten in diesem Zusammenhang, dass die Fibroblasten über lokale Immunsuppression die Tumorentwicklung und Metastasierung fördern können. So bilden Fibroblasten das Fibroblasten-Aktivierungs-Protein (FAP) und überwachen so zum Beispiel die Immunsuppression durch CxCL12 (CXC-Motiv-Chemokin12). Findet hier eine ungestörte Bindung an den CXC-Motiv-Chemokinrezeptor-4 statt, kommt es zu einer fehlenden T-Zell-Aktivierung und damit zu einer fehlenden Abwehrreaktion gegen Tumorzellen. Bezogen auf die Tumorfibrose könnte hier angenommen werden, dass somit auch diese an sich die Tumorentwicklung durch o.g. Regelmechanismen fördert, allerdings mutmaßlich nur bei tumorassoziierten Fibroblasten, welche durch Stimulation von Tumorzellen das Fibroblasten-Aktivierungs-Protein (FAP) bilden.

Ob hier also als Schlussfolgerung davon auszugehen ist, dass aufgrund dessen ein großes Ausmaß von Tumorfibrose mit einer schlechten Prognose einhergeht, ohne genaue Kenntnis darüber welche Aktivierungswege im Hinblick auf Fibroseentstehung eine Rolle spielen, ist hier allerdings fraglich.

Feig et al.(2012) konnte in diesem Zusammenhang ebenfalls kontrovers zu den hier vorliegenden Ergebnissen zeigen, dass eine Entfernung von FAP (aus den tumorassoziierten Fibroblasten) mit einer Kontrolle des Tumorstadiums und einer gesteigerten Wirksamkeit einer antikörperbasierten Immuntherapie einhergeht. Die FAP-positiven Fibroblasten bilden dabei die einzige tumoreigene Zellentität, die den CXCR-4-Liganden CXCL-12 freisetzt. Eine vermehrte CXCL-12-CXCR-4-Bindung bewirkt eine gesteigerte Metastasenbildung und hat durch Angiogenese einen wachstumsfördernden Effekt auf den Tumor. Dafür spricht ebenfalls die Erkenntnis, dass die Wirksamkeit einer Immuntherapie über den Einsatz eines selektiven CXCR-4-Rezeptor-Antagonisten wie AMD3100 (Plexixafor) gesteigert werden kann und so eine Verringerung der Tumorzellmasse erreicht wird.

Hier könnte also anhand dieser Ergebnisse davon ausgegangen werden, dass es eine Interaktion zwischen Tumorzellen und Fibroblasten gibt und dass es mutmaßlich die Tumorzellen sind, welche durch dessen Aktivierung die Fibroseentstehung induzieren.

Dies könnte dann wiederum mit einer schlechteren Prognose des Patienten einhergehen. Allerdings ist bislang noch nicht hinreichend geklärt, welche externen Stimuli die pankreatischen Sternzellen zur Fibrosebildung aktivieren und welche Rolle genau die Tumorzellen in diesem Zusammenhang spielen.

Ebenso zeigte sich anhand der hier erhobenen Daten, dass der Tumor in Abhängigkeit seiner T-Kategorie, und damit in Abhängigkeit seiner lokalen Ausdehnung, einen unterschiedlich hohen Anteil an Fibrose besitzt, die negativ ( $\tau = -0,23$ ) miteinander korrelieren ( $p = 0,0089$ ). Ein Tumor in einer relativ geringen T-Kategorie weist einen deutlich höheren Fibrosegrad auf als ein Tumor, der bereits das peripankreatische Gewebe und gegebenenfalls angrenzende große Gefäße (*Truncus coeliacus*, *A. mesenterica superior*) infiltriert hat und damit definitionsgemäß eine T3- oder T4-Kategorie einnimmt.

Dies führt zu der Annahme, dass es einen Zusammenhang geben könnte zwischen prognostisch günstigeren kleineren Tumoren und dem damit einhergehenden höheren Fibroseanteil, der somit auch prognostisch günstiger zu sein scheint. Auch dies würde die These der besseren Prognose bei höherem Fibroseanteil bekräftigen.

Eine Bestätigung hierfür und für die Bedeutung der Tumorgöße zeigt weiterhin die Aufnahme der Tumorgöße als Untergliederung der T-Kategorien in die achte und somit aktuelle Auflage der TNM-Klassifikation.

In der hier vorliegenden Arbeit konnten wir zum ersten Mal an menschlichen Pankreasresektaten zeigen, dass eine einfache lichtmikroskopische Untersuchung des Tumorstromas eine prognostische Bedeutung haben kann.

Insgesamt unterstreicht die Arbeit die Bedeutung des Stromagewebes des duktales Pankreaskarzinoms. In Tiermodellen ist bereits gezeigt worden, welche Bedeutung dem Stroma als Immunmodulator zukommt. Die perspektivisch wichtigen Daten dieser Studie sollten in weiteren Studien an einem größeren Patientenkollektiv untersucht werden zur Beurteilung eines soliden *Cut-off* Wertes. Ebenso ist eine multivariate Analyse notwendig, um die Bedeutung der Fibrose als prädiktiven Marker beurteilen zu können. Im Falle der Bestätigung der Daten könnten sich dadurch neue Ansätze bezüglich prognostischer Beurteilung sowie die Möglichkeit der Anpassung individueller Therapieregime ergeben. Hier ließe sich diskutieren, ob nach histopathologischer Beurteilung in Abhängigkeit der Morphologie sowie dem Grad der Tumorfibrose eine individuelle Therapieanpassung sinnvoll wäre.

Insbesondere im Hinblick auf stark nebenwirkungsreiche Chemotherapien könnten eben diese Parameter herangezogen werden um eine Umstellung oder sogar ein Abbruch dessen diskutieren zu können.

Um dies perspektivisch erwirken zu können muss an einem ausreichend großen Patientenkollektiv sowohl retrospektiv als auch prospektiv die Wirksamkeit eben dieser Chemotherapien in Abhängigkeit oben genannter Parameter untersucht und getestet werden.

Im Falle einer Bestätigung dieser Daten könnten perspektivisch schon sehr früh im Rahmen lichtmikroskopischer Untersuchungen der Präparate prognostische Rückschlüsse gezogen werden mit der Möglichkeit individuelle Therapiemöglichkeiten zu entwickeln und besonders im Hinblick stark nebenwirkungsreicher Chemotherapeutika hier Alternativen zu entwickeln oder die jeweilige Applikationsdauer dessen zu verkürzen um individuell ein bestmöglichstes *Outcome* zu erwirken.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Insgesamt unterstreicht diese Arbeit die Bedeutung der einfachen lichtmikroskopischen Begutachtung am Tumorsektat im Hinblick auf eine Prognoseeinschätzung des jeweiligen Patienten. Gewählt wurde hier das duktales Pankreaskarzinom mit der besonderen Eigenschaft der Bildung großer Mengen an Tumorstroma und Fibrose. Eben diese, sowie weitere histopathologische Parameter, waren bezüglich der Prognoseeinschätzung von besonderem Interesse und wurden bereits im Vorfeld in vorausgegangenen Studien anhand anderer Karzinome untersucht und diskutiert.

Die Resektate eines Kollektivs von insgesamt 91 Patientinnen und Patienten wurde untersucht, histomorphologisch ausgewertet und einer Korrelation unterzogen. Bei der histomorphologischen Auswertung und dessen Korrelation mit der Ausdehnung des Primärtumors bzw. dem Nodalstatus kam es zu folgenden Ergebnissen:

Im Normalgewebe zeigte sich eine mediane Fibrose von 5 % (*range* 0 % bis 80 %). In den durchgeführten Analysen kommt dem Fibrosegrad im Normalgewebe keine Bedeutung zu hinsichtlich Korrelation zu T-Kategorie und Nodalstatus.

Im Tumorgewebe fand sich eine mediane Fibrose von 60 % (*range* 20 % bis 90 %). Hier mit negativer Korrelation zur T-Kategorie ( $p = 0,009$ ) und einem signifikanten Überlebensvorteil für Patienten mit  $> 60$  % Fibrose ( $p = 0,01$ ).

Eine externe Schleimbildung im Tumorgewebe fand sich bei 23 % ( $n = 21$ ), eine desmoplastische Reaktion bei 30 % ( $n = 28$ ) sowie eine Tumornekrose bei 32 % ( $n = 29$ ) der Patienten. Das Vorhandensein einer Tumornekrose ( $p = 0,005$ ) sowie die desmoplastische Reaktion ( $p = 0,03$ ) ist mit einem schlechteren Gesamtüberleben korreliert.

Somit konnte festgestellt werden, dass das Vorhandensein bestimmter histomorphologischer Kriterien wie Tumornekrose oder einer desmoplastischen Morphologie mit der Prognose der Patienten korreliert. Ein höheres Maß an Tumorfibrose scheint prognostisch günstiger zu sein. Ebenso scheint auch die Morphologie der Tumore eine prognostische Rolle zu spielen.

Diese Ergebnisse mit der Möglichkeit einer Prognoseabschätzung anhand einer einfachen lichtmikroskopischen Untersuchung am Resektat konnte hier erstmals an dem duktalem Pankreaskarzinom festgestellt werden.

Dies sollte im Folgenden an einem größeren Patientenkollektiv weiter untersucht werden um hieraus eine abschließende Konsequenz bezüglich individueller Therapiemöglichkeiten ziehen zu können.



## 6. LITERATUR

Albini A, Sporn MB (2007): The tumour microenvironment as a target for chemoprevention. *Nat Rev Cancer* 7, 139-47

Apte MV, Park S, Phillips PA, Santucci N, Goldstein D, Kumar RK, Ramm GA, Buchler M, Friess H, McCarroll JA et al. (2004): Desmoplastic reaction in pancreatic cancer: role of pancreatic stellate cells. *Pancreas* 29, 179- 87

Bachem MG, Schunemann M, Ramadani M, Siech M, Beger H, Buck A, Zhou S, Schmid-Kotsas A, Adler G (2005): Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells. *Gastroenterology* 128, 907-21

Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T (2012): The tumor microenvironment at a glance. *J Cell Sci* 125, 5591-96

Bansal P, Sonnenberg A (1995): Pancreatitis is a risk factor for pancreatic cancer. *Gastroenterology* 109, 247-51

Barnes B, Kraywinkel K, Nowossadeck E, Schönfeld I, Starker A, Wienecke A, Wolf U (2016): Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016. Robert Koch-Institut.

Berrington de Gonzalez A, Spencer EA, Bueno-de-Mesquita HB, Roddam A, Stolzenberg-Solomon R, Halkjaer J, Tjonneland A, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC et al. (2006): Anthropometry, physical activity, and the risk of pancreatic cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15, 879-85

Berrington de Gonzalez A, Sweetland S, Spencer E (2003): A meta-analysis of obesity and the risk of pancreatic cancer. *Br J Cancer* 89, 519-23

Bonelli L, Aste H, Bovo P, Cavallini G, Felder M, Gusmaroli R, Morandini E, Ravelli P, Briglia R, Lombardo L et al. (2003): Exocrine pancreatic cancer, cigarette smoking, and diabetes mellitus: a case-control study in northern Italy. *Pancreas* 27, 143-9

Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (Hrsg.): WHO classification of tumours of the digestive system. 4. Auflage; World Health Organization 2010

Brown LM (2005): Epidemiology of alcohol-associated cancers. *Alcohol* 35, 161-8

- Calle EE, Murphy TK, Rodriguez C, Thun MJ, Heath CW Jr. (1998): Diabetes mellitus and pancreatic cancer mortality in a prospective cohort of United States adults. *Cancer Causes Control* 9, 403-10
- Callery MP, Chang KJ, Fishman EK, Talamonti MS, William Traverso L, Linehan DC (2009): Pretreatment assessment of resectable and borderline resectable pancreatic cancer: expert consensus statement. *Ann Surg Oncol* 16, 1727-33
- Chan M, Scaife C, Thaker HM, Adler DG (2009): Adenocarcinoma of the pancreas undetected by multi-detector CT, endoscopic ultrasound, or intraoperative ultrasound. *JOP* 10, 554-56
- Chari ST, Leibson CL, Rabe KG, Ransom J, de Andrade M, Petersen GM (2005): Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study. *Gastroenterology* 129, 504-11
- Chiu BC, Lynch CF, Cerhan JR, Cantor KP (2001): Cigarette smoking and risk of bladder, pancreas, kidney, and colorectal cancers in Iowa. *Ann Epidemiol* 11, 28-37
- Chow WH, Gridley G, Nyren O, Linet MS, Ekblom A, Fraumeni JF Jr., Adami HO (1995): Risk of pancreatic cancer following diabetes mellitus: a nationwide cohort study in Sweden. *J Natl Cancer Inst* 87, 930-1
- Chu GC, Kimmelman AC, Hezel AF, DePinho RA (2007): Stromal biology of pancreatic cancer. *J Cell Biochem* 101, 887-907
- Coughlin SS, Calle EE, Patel AV, Thun MJ (2000): Predictors of pancreatic cancer mortality among a large cohort of United States adults. *Cancer Causes Control* 11, 915-23
- Coughlin SS, Calle EE, Teras LR, Petrelli J, Thun MJ (2004): Diabetes mellitus as a predictor of cancer mortality in a large cohort of US adults. *Am J Epidemiol* 159, 1160-7
- Detlefsen S, Sipos B, Feyerabend B, Klöppel G (2005): pancreatic fibrosis associated with age and ductal papillary hyperplasia. *Virchows Arch* 447, 800-5
- Diener MK, Knaebel HP, Heukaufers C, Antes G, Buchler MW, Seiler CM (2007): A systematic review and meta-analysis of pylorus-preserving versus classical pancreaticoduodenectomy for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma. *Ann Surg* 245, 187-200
- DKG (2013): Leitlinienprogramm Onkologie. S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, Kurzversion 1.0. <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html>, abgerufen am 20.03.2018
- Duell EJ, Holly EA, Bracci PM, Liu M, Wiencke JK, Kelsey KT (2002): A population-based, case-control study of polymorphisms in carcinogen-metabolizing genes, smoking, and pancreatic adenocarcinoma risk. *J Natl Cancer Inst* 94, 297-306

- Erez N, Truitt M, Olson P, Arron ST, Hanahan D (2010): Cancer-Associated Fibroblasts Are Activated in Incipient Neoplasia to Orchestrate Tumor-Promoting Inflammation in an NF-KappaB-Dependent Manner. *Cancer Cell* 17, 135-47
- Erkan M, Hausmann S, Michalski CW, Fingerle AA, Dobritz M, Kleeff J, Friess H (2012): The role of stroma in pancreatic cancer: diagnostic and therapeutic implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 9, 454-67
- Erkan M, Hausmann S, Michalski CW, Schlitter AM, Fingerle AA, Dobritz M, Friess H, Kleeff J (2012): How fibrosis influences imaging and surgical decisions in pancreatic cancer. *Front Physiol* 3, 389
- Everhart J, Wright D (1995): Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis. *Jama* 273, 1605-9
- Feig C, Gopinathan A, Neesse A, Chan DS, Cook N, Tuveson DA (2012): The pancreas cancer microenvironment. *Clin Cancer Res* 18, 4266-76
- Forsmark CE, Lambiase , Vogel SB (1994): Diagnosis of pancreatic cancer and prediction of unresectability using the tumor-associated antigen CA 19-9. *Pancreas* 9, 731-4
- Gullo L, Pezzilli R, Morselli-Labate AM (1994): Diabetes and the risk of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 331, 81-4
- Hackert T, Werner J, Büchler MW: Pankreas. In: Siewert JR, Stein HJ (Hrsg.): *Chirurgie*. 9. Auflage; Springer, Berlin Heidelberg 2012, 775-89
- Hingorani SR, Petricoin EF, Maitra A, Rajapakse V, King C, Jacobetz MA, Ross S, Conrads TP, Veenstra TD, Hitt BA et al. (2003): Preinvasive and invasive ductal pancreatic cancer and its early detection in the mouse. *Cancer Cell* 4, 437-50
- Horstmann O, Becker H: Pankreas. In: Becker H, Encke A, Röhrer HD (Hrsg.): *Viszeralchirurgie*. 2. Auflage; Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, München 2006, 729-53
- Huxley R, Ansary-Moghaddam A, Berrington de Gonzalez A, Barzi F, Woodward M (2005): Type-II diabetes and pancreatic cancer: a meta-analysis of 36 studies. *Br J Cancer* 92, 2076-83
- Karlson BM, Ekblom A, Josefsson S, McLaughlin JK, Fraumeni JF Jr., Nyren O (1997): The risk of pancreatic cancer following pancreatitis: an association due to confounding? *Gastroenterology* 113, 587-92
- Klaiber U, Probst P, Buchler MW, Hackert T (2017): Pylorus preservation pancreatectomy or not. *Transl Gastroenterol Hepatol* 2, 100

Klein AP, Brune KA, Petersen GM, Goggins M, Tersmette AC, Offerhaus GJ, Griffin C, Cameron JL, Yeo CJ, Kern S et al. (2004): Prospective risk of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds. *Cancer Res* 64, 2634-8

Kremer B, Vogel I, Luttges J, Kloppel G, Henne-Bruns D (1999): Surgical possibilities for pancreatic cancer: extended resection. *Ann Oncol* 10 Suppl 4, 252-6

Laconi E (2007): The evolving concept of tumor microenvironments. *Bioessays* 29, 738-44

Ladstein RG, Bachmann IM, Straume O, Akslen LA (2012): Tumor necrosis is a prognostic factor in thick cutaneous melanoma. *Am J Surg Pathol* 36, 1477-82

Larsson SC, Permert J, Hakansson N, Naslund I, Bergkvist L, Wolk A (2005): Overall obesity, abdominal adiposity, diabetes and cigarette smoking in relation to the risk of pancreatic cancer in two Swedish population-based cohorts. *Br J Cancer* 93, 1310-5

Lin Y, Tamakoshi A, Kawamura T, Inaba Y, Kikuchi S, Motohashi Y, Kurosawa M (2002a): A prospective cohort study of cigarette smoking and pancreatic cancer in Japan. *Cancer Causes Control* 13, 249-54

Lin Y, Tamakoshi A, Kawamura T, Inaba Y, Kikuchi S, Motohashi Y, Kurosawa M, Ohno Y (2002b): Risk of pancreatic cancer in relation to alcohol drinking, coffee consumption and medical history: findings from the Japan collaborative cohort study for evaluation of cancer risk. *Int J Cancer* 99, 742-6

Liu Q, Liao Q, Zhao Y (2017): Chemotherapy and tumor microenvironment of pancreatic cancer. *Cancer Cell Int* 17, 68

Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, Ammann RW, Lankisch PG, Andersen JR, Dimagno EP, Andren-Sandberg A, Domellof L (1993): Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* 328, 1433-7

Malka D, Hammel P, Maire F, Rufat P, Madeira I, Pessione F, Levy P, Ruszniewski P (2002): Risk of pancreatic adenocarcinoma in chronic pancreatitis. *Gut* 51, 849-52

Marchegiani G, Malleo G, D'Haese JG, Wenzel P, Keskin M, Pugliese L, Borin A, Benning V, Nilsson L, Oruc N et al. (2015): Association between pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasms and extrapancreatic malignancies. *Clin Gastroenterol Hepatol* 13, 1162-69

McWilliams RR, Rabe KG, Olsword C, De Andrade M, Petersen GM (2005): Risk of malignancy in first-degree relatives of patients with pancreatic carcinoma. *Cancer* 104, 388-94

Michaud DS, Giovannucci E, Willett WC, Colditz GA, Fuchs CS (2001a): Coffee and alcohol consumption and the risk of pancreatic cancer in two prospective United States cohorts. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10, 429-37

Michaud DS, Giovannucci E, Willett WC, Colditz GA, Stampfer MJ, Fuchs (2001b): Physical activity, obesity, height, and the risk of pancreatic cancer. *Jama* 286, 921-9

Miyasaka K, Kawanami T, Shimokata H, Ohta S, Funakoshi A (2005): Inactive aldehyde dehydrogenase-2 increased the risk of pancreatic cancer among smokers in a Japanese male population. *Pancreas* 30, 95-8

Nazli O, Bozdog AD, Tansug T, Kir R, Kaymak E (2000): The diagnostic importance of CEA and CA 19-9 for the early diagnosis of pancreatic carcinoma. *Hepatogastroenterology* 47, 1750-52

Neoptolemos JP, Moore MJ, Cox TF, Valle JW, Palmer DH, McDonald AC, Carter R, Tebbutt NC, Dervenis C, Smith D et al. (2012): Effect of adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid or gemcitabine vs. observation on survival in patients with resected periampullary adenocarcinoma: the ESPAC-3 periampullary cancer randomized trial. *Jama* 308, 147-56

Neoptolemos JP, Palmer DH, Ghaneh P, Psarelli EE, Valle JW, Halloran CM, Faluyi O, O'Reilly DA, Cunningham D, Wadsley J et al. (2017): Comparison of adjuvant gemcitabine and capecitabine with gemcitabine monotherapy in patients with resected pancreatic cancer (ESPAC-4): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet* 389, 1011-24

Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, Bassi C, Dunn JA, Hickey H, Beger H, Fernandez-Cruz L, Dervenis C, Laccaine F et al. (2004): A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 350, 1200-10

Oettle H, Post S, Neuhaus P, Gellert K, Langrehr J, Ridwelski K, Schramm H, Fahlke J, Zuelke C, Burkart C et al. (2007): Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *Jama* 297, 267-77

Okano K, Suzuki Y (2014): Strategies for early detection of resectable pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 20, 11230-40

Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, Gopinathan A, McIntyre D, Honess D, Madhu B, Goldgraben MA, Caldwell ME, Allard D et al. (2009): Inhibition of hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science* 324, 1457-61

Ouaisi M, Hubert C, Verhelst R, Astarci P, Sempoux C, Jouret-Mourin A, Loundou A, Gigot JF (2010): Vascular reconstruction during pancreaticoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the pancreas improves resectability but does not achieve cure. *World J Surg* 34, 2648-61

Ozdemir BC, Pentcheva-Hoang T, Carstens JL, Zheng X, Wu CC, Simpson TR, Laklai H, Sugimoto H, Kahlert C, Novitskiy SV et al. (2014): Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell* 25, 719-34

Patel AV, Rodriguez C, Bernstein L, Chao A, Thun MJ, Calle EE (2005): Obesity, recreational physical activity, and risk of pancreatic cancer in a large U.S. Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14, 459-66

Qiu D, Kurosawa M, Lin Y, Inaba Y, Matsuba T, Kikuchi S, Yagyu K, Motohashi Y, Tamakoshi A (2005): Overview of the epidemiology of pancreatic cancer focusing on the JACC Study. *J Epidemiol* 15 Suppl 2, 157-67

Rapp K, Schroeder J, Klenk J, Stoehr S, Ulmer H, Concin H, Diem G, Oberaigner W, Weiland SK (2005): Obesity and incidence of cancer: a large cohort study of over 145,000 adults in Austria. *Br J Cancer* 93, 1062-7

Ritts RE Jr., Nagorney DM, Jacobsen DJ, Talbot RW, Zurawski VR Jr. (1994): Comparison of preoperative serum CA19-9 levels with results of diagnostic imaging modalities in patients undergoing laparotomy for suspected pancreatic or gallbladder disease. *Pancreas* 9, 707-16

Rousseau MC, Parent ME, Pollak MN, Siemiatycki J (2006): Diabetes mellitus and cancer risk in a population-based case-control study among men from Montreal, Canada. *Int J Cancer* 118, 2105-9

Sellner F, Thalhammer S, Stattner S, Karner J, Klimpfinger M (2011): TNM stage and grade in predicting the prognosis of operated, non-functioning neuroendocrine carcinoma of the pancreas--a single-institution experience. *J Surg Oncol* 104, 17-21

Silverman DT (2001): Risk factors for pancreatic cancer: a case-control study based on direct interviews. *Teratog Carcinog Mutagen* 21, 7-25

Silverman DT, Schiffman M, Everhart J, Goldstein A, Lillemoe KD, Swanson GM, Schwartz AG, Brown LM, Greenberg RS, Schoenberg JB et al. (1999): Diabetes mellitus, other medical conditions and familial history of cancer as risk factors for pancreatic cancer. *Br J Cancer* 80, 1830-7

Silverman DT, Swanson CA, Gridley G, Wacholder S, Greenberg RS, Brown LM, Hayes RB, Swanson GM, Schoenberg JB, Pottern LM et al. (1998): Dietary and nutritional factors and pancreatic cancer: a case-control study based on direct interviews. *J Natl Cancer Inst* 90, 1710-9

Stewart BW, Wild C (Hrsg.): World cancer report 2014; International Agency for Research on Cancer; WHO Press, World Health Organization, Lyon, France, Geneva, Switzerland 2014

Stocken DD, Buchler MW, Dervenis C, Bassi C, Jeekel H, Klinkenbijnl JH, Bakkevold KE, Takada T, Amano H, Neoptolemos JP (2005): Meta-analysis of randomised adjuvant therapy trials for pancreatic cancer. *Br J Cancer* 92, 1372-81

Stolzenberg-Solomon RZ, Graubard BI, Chari S, Limburg P, Taylor PR, Virtamo J, Albanes D (2005): Insulin, glucose, insulin resistance, and pancreatic cancer in male smokers. *Jama* 294, 2872-8

Stotz M, Eisner F, Szkandera J, Absenger G, Kornprat P, Lackner C, Samonigg H, Gerger A, Pichler M (2013): Clinico-pathological characteristics and clinical outcome of different histological types of pancreatic cancer in a large Middle European series. *J Clin Pathol* 66, 753-57

Stumpf M, Kasperk R, Bertram P, Truong S, Schumpelick V (2001): Role of surgical biliary bypass for palliation of pancreatic cancer- a retrospective study of 107 cases. *Zentralbl Chir* 126, 913-16

Talamini G, Falconi M, Bassi C, Sartori N, Salvia R, Caldiron E, Frulloni L, Di Francesco V, Vaona B, Bovo P et al. (1999): Incidence of cancer in the course of chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 94, 1253-60

Tannapfel A (2010): Pancreatic cancer. Molecular and surgical pathology. *Pathologe* 31 Suppl 2, 225-28

Tessler DA, Catanzaro A, Velanovich V, Havstad S, Goel S (2006): Predictors of cancer in patients with suspected pancreatic malignancy without a tissue diagnosis. *Am J Surg* 191, 191-97

Tlsty TD, Coussens LM (2006): Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu Rev Pathol* 1, 119-50

Ueno H, Kosuge T, Matsuyama Y, Yamamoto J, Nakao A, Egawa S, Doi R, Monden M, Hatori T, Tanaka M et al. (2009): A randomised phase III trial comparing gemcitabine with surgery-only in patients with resected pancreatic cancer: Japanese Study Group of Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *Br J Cancer* 101, 908-15

Ueno M, Morizane C, Ikeda M, Okusaka T, Ishii H, Furuse J (2019): A review of changes to and clinical implications of the eighth TNM classification of hepatobiliary and pancreatic cancers. *Jpn J Clin Oncol* 49, 1073-82

Villeneuve PJ, Johnson KC, Mao Y, Hanley AJ (2004): Environmental tobacco smoke and the risk of pancreatic cancer: findings from a Canadian population-based case-control study. *Can J Public Health* 95, 32-7

Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, Chiorean EG, Infante J, Moore M, Seay T, Tjulandin SA, Ma WW, Saleh MN et al. (2013): Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *N Engl J Med* 369, 1691-703

Wang L, Miao X, Tan W, Lu X, Zhao P, Zhao X, Shan Y, Li H, Lin D (2005): Genetic polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase and risk of pancreatic cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 3, 743-51

Wideroff L, Gridley G, Mellekjær L, Chow WH, Linet M, Keehn S, Borch-Johnsen K, Olsen JH (1997): Cancer incidence in a population-based cohort of patients hospitalized with diabetes mellitus in Denmark. *J Natl Cancer Inst* 89, 1360-5

Yun YH, Jung KW, Bae JM, Lee JS, Shin SA, Min Park S, Yoo T, Yul Huh B (2005): Cigarette smoking and cancer incidence risk in adult men: National Health Insurance Corporation Study. *Cancer Detect Prev* 29, 15-24

Zavoral M, Minarikova P, Zavada F, Salek C, Minarik M (2011): Molecular biology of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 17, 2897-908

Zhang L, Sanagapalli S, Stoita A (2018): Challenges in diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 24, 2047-60