

Aus der Klinik für
Allgemein-, Viszeral- und Kinderchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität-Düsseldorf
Direktor: Univ. Prof. Dr. med. W.T. Knoefel

**Prognostischer Einfluss der Gefäßinfiltration bei Patienten
mit Adenokarzinom des Pankreas unter Berücksichtigung der
lymphogenen und hämatogenen Tumorzell dissemination**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Ayse Karatza

2024

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der
medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Alexander Rehders

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Tobias Zeus

Diese Arbeit wurde veröffentlicht in *Surgery September 2012 Volume 152, Issue 3*, Seite 143-151

Zusammenfassung

Um ein wenig Licht in das kontrovers diskutierte Thema zu bringen, ob eine Gefäßinfiltration durch das Pankreasadenokarzinom bedingt ist durch seine enge Nachbarschaft zu umliegenden Strukturen oder die aggressive Tumorbilogie, haben wir uns für die folgende Arbeit entschieden. Ziel war es dabei, die Bedeutung der lymphogenen und hämatogenen Tumorzeldissemination des Adenokarzinoms des Pankreas bei einer Gefäßinfiltration durch den Tumor zu demonstrieren. Anhand von 108 Patienten, welche sich einer Resektion des Pankreas und davon 39, welche sich einer Gefäßresektion unterzogen, konnten wir die Studie erstellen. 2388 Lymphknoten und 49 Aspiate des Knochenmarks konnten wir immunhistochemisch auf disseminierte Tumorzellen (DT) untersuchen. 50% der Patienten wiesen dabei DT in Lymphknoten auf, die zuvor im Rahmen der histopathologischen Routineuntersuchung als tumorfrei bewertet worden waren. Bei den Aspiraten des Knochenmarks konnten wir bei 24,49% der Patienten DT nachweisen. Wir korrelierten die Ergebnisse mit klinisch-pathologischen Parametern und unter Berücksichtigung der Gefäßresektion.

Unsere Ergebnisse demonstrieren 1.), dass mit einem p-Wert = 0,317 DT in Lymphknoten nicht assoziiert sind mit dem Gefäßbefall durch das Pankreaskarzinom 2.), dass mit einem p-Wert = 0,467 DT im Knochenmark nicht assoziiert sind mit der Gefäßinfiltration 3.), dass wichtige klinisch-pathologische Parameter wie der N-Status (p-Wert = 0,664), der R-Status (p-Wert = 0,822), der M-Status (p-Wert = 0,466) und das Grading (p-Wert = 0,736) statistisch nicht in Zusammenhang mit einer Gefäßinfiltration stehen 4.), dass der Aspekt der perineuralen Infiltration die Prognose der Patienten deutlich verschlechtert mit einer mittleren Überlebenszeit verkürzt auf 22,2 versus 32,7 Monate und ebenfalls einer Verkürzung der Zeitspanne bis zum Auftreten von Metastasen und Lokalrezidiven 5.), dass jedoch bei der Korrelation zwischen der perineuralen Infiltration und dem Gefäßbefall mit einem p-Wert = 0,43 kein Zusammenhang darstellbar ist 6.), dass in den multivarianten Analysen DT in Lymphknoten ein eigenständiger Prädiktor für Fernmetastasen sind 7.), dass die Gefäßresektion nicht assoziiert mit perioperativen Komplikationen ist (p-Wert = 0,093).

Mit unseren Ergebnissen konnten wir unsere Hypothese stützen, dass die Gefäßinfiltration durch das Pankreaskarzinom nicht zwangsläufig eine schlechte Prognose für den Patienten bedeutet und eine Gefäßresektion sicher durchführbar ist. Vielmehr zeigen unsere Ergebnisse, dass durch eine Gefäßresektion die Resektion im Gesunden durchführbar ist.

Summary

The aim of this study was to investigate the relationship between vascular infiltration of pancreatic carcinoma and clinical-pathological parameters. It was analyzed whether the invasive growth into the vessels is due to the close topography of the structures or is a marker for aggressive tumor biology.

We created a database with 108 patients who underwent surgical oncological therapy between 2003 and 2010. This allowed us to evaluate pre- and perioperative data. Additionally, we collected postoperative data with a mean follow-up period of 28 months (range: 5-90 months).

To detect disseminated tumor cells in lymph nodes that were not discovered during routine histological examination, we used the antibody BerEp4 against the epithelial adhesion molecule EpCAM. To determine hematogenous spread of the tumor, we employed fluorescence staining with the pan-cytokeratin antibody, which allowed us to detect the epithelial cytokeratin subtypes CK8, CK18, and CK19.

Out of the total of 108 patients in the cohort, 39 underwent vascular resection due to vessel infiltration, while 69 patients had no vascular infiltration. We correlated both groups, vascular-resected (GR) and non-vascular-resected (NGR) patients, with various clinical-pathological parameters. In the GR group, 56% (n = 22) and in the NGR group, 46% (n = 32) had disseminated tumor cells in lymph nodes ($p = 0.317$). Disseminated tumor cells in the bone marrow were detected in 7% of the GR group (n = 3) and 13% of the NGR group (n = 9) ($p = 0.467$). Regarding mortality (GR: 2 patients versus NGR: 9 patients; $p = 0.194$), morbidity (GR: 17 patients versus NGR: 23 patients; $p = 0.093$), and intensive care unit stay (GR: 11 patients versus NGR: 19 patients; $p = 0.986$), there was no statistical significance in the GR group. However, investigations into lymph node status after radical lymphadenectomy, BerEP status of lymph nodes, and perineural infiltration showed statistical significance in terms of recurrence-free survival, metastasis-free survival, and overall survival of patients.

Like many other studies, our work also demonstrated that lymph node involvement is one of the most prognostically significant parameters. However, our results show, in contrast to other studies, that infiltration of local vessels is not correlated with lymphatic and hematogenous tumor spread. Instead, resection of affected vessels achieves an R0 situation, which is of prognostic significance for the patient.

Abkürzung	Bezeichnung
A.	Arterie
Aqua dest.	Aqua destillata
BerEp4	Berkeley Epithelial Antigen-4
BRCA	Breast Cancer
bspw.	beispielsweise
bzgl.	bezüglich
ca.	circa
CD	Cluster of Differentiation
CDKN2A-Gen	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A-Gen
°C	Grad Cesium
CK	Cytokeratin
cm	Zentimeter
d	days
DAB	Diaminobenzidin
DAPI	4'-6-Amidin-2'-Phenylindol-Dihydrochlorid
dest.	destilliert
d.h.	das heisst
DNA	deoxyribonucleic acid

Abkürzung	Bezeichnung
DPBS	Dulbecco's phosphate-buffered saline
DPC4	Deleted in Pancreatic Carcinoma Locus 4
DT	Disseminierte Tumorzellen
EGF	Epidermal Growth Factor
EpCAM	Epithelial Cell Adhesion Molecule
evtl.	eventuell
G	Grading
g	Erdbeschleunigung
HE	Hämatoxylin-Eosin
HR	Hazard Ratio
IgG	Immunglobulin G
insb.	insbesondere
IRS	Immunoreactive Score
kDa	Kilodalton
K-ras-Gen	Kirsten-rat-sarcoma-Gen
kum.	kumulatives
LK	Lymphknoten
M	Fernmetastasen

Abkürzung	Bezeichnung
MEN1-Gen	Multiple Endocrine Neoplasia-Gen
MHC	Major Histocompatibility Complex
min	Minuten
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
myc	Myelocytomatosis virus gene
N	Regionäre Lymphknoten
OP	Operation
PBS	Phosphate-Buffered Saline
p53-gen	Protein53-Gen
pH	potentia Hydrogenii
p16INK4-Gen	Protein16-inhibitor of CDK4-Gen
PTFE	Polytetraflouroethylen
PRSS-1-Gen	Serin Protease Gen 1
R	Residualtumor
sek	Sekunden
sog.	sogenante
STK	Serin- / Threonin-Kinase

Abkürzung	Bezeichnung
T	Primärtumor
TNM	Tumor Nodes Metastasis
UICC	Union Internationale Contre Cancer
WHO	World Health Organization

Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG.....	1
1.1.	EINFÜHRUNG IN DIE PROBLEMATIK	1
1.2.	ZIELE DER ARBEIT	2
1.3.	DAS PANKREASKARZINOM	3
1.4.	STADIENEINTEILUNG	5
1.5.	THERAPIEKONZEPTE.....	9
1.6.	GEFÄßRESEKTION	11
1.7.	CHEMOTHERAPIE	13
1.8.	LYMPHADENEKTOMIE.....	14
2.	MATERIAL UND METHODEN	15
2.1.	PATIENTENKOLLEKTIV.....	15
2.2.	EPICAM	19
2.3.	EPICAM EXPRESSION IN TUMORZELLEN	20
2.4.	SCHNITTHerstellung VON PRIMÄRTUMOR UND LYMPHKNOTEN	21
2.5.	FÄRBUNGSREIHE	22
2.6.	DURCHFÜHRUNG DER FÄRBUNGSREIHE	23
2.7.	AUSWERTUNG	26
2.8.	IMMUNHISTOCHEMISCHE ANALYSE DES KNOCHENMARKS.....	27
2.9.	STATISTISCHE ANALYSE.....	30
2.9.1.	<i>Chi-Quadrat-Test.....</i>	<i>30</i>
2.9.2.	<i>Exakter Test nach Fischer.....</i>	<i>30</i>
2.9.3.	<i>Kaplan-Meier-Methode und Log-Rank-Test.....</i>	<i>30</i>
2.9.4.	<i>Proportionales Hazard Modell nach Cox.....</i>	<i>31</i>
3.	ERGEBNISSE.....	32
3.1.	STRATIFIZIERUNG DER PATIENTEN NACH GEFÄßRESEKTIONSSTATUS	32
3.2.	EPICAM EXPRESSION IN PRIMÄRTUMOR, LYMPHKNOTEN UND KNOCHENMARK.....	37
3.3.	LYMPHOGENE UND HÄMATOGENE DISSEMINATIONSRATE IN ZUSAMMENHANG MIT DER GEFÄßRESEKTION	40
3.4.	POSTOPERATIVE VERLAUFSBEOBACHTUNG	42
3.5.	POSTOPERATIVE VERLAUFSKONTROLLE IM ZUSAMMENHANG MIT DEM LYMPHKNOTENSTATUS	44
3.6.	POSTOPERATIVE VERLAUFSKONTROLLE IM ZUSAMMENHANG MIT DEM BEREP4-STATUS DER LYMPHKNOTEN ...	47
3.7.	POSTOPERATIVE VERLAUFSKONTROLLE IM ZUSAMMENHANG MIT DER PERINEURALINFILTRATION	50
3.8.	EINFLUSS DER POSTOPERATIVEN MORBIDITÄT AUF DIE TUMORNACHSORGEERGEBNISSE/PROGNOSE.....	53
4.	DISKUSSION	55
5.	FAZIT	63

6.	LITERATURVERZEICHNIS	65
----	----------------------------	----

1. Einleitung

1.1. Einführung in die Problematik

Trotz zahlreicher Forschungs- und Therapieansätze bleibt die Prognose des Pankreaskarzinoms schlecht. Frühsymptome fehlen, so dass bei der Erstdiagnose ca. 80% der Patienten ein fortgeschrittenes Erkrankungsstadium mit lokaler Progression oder Metastasierung aufweisen. Die chirurgische Entfernung mit der Zielsetzung der R0-Resektion ist dabei die einzig kurative Maßnahme (Aier et al., 2019). Bei alleiniger chirurgischer Therapie ist eine Fünf-Jahres-Überlebensrate von ca. 11% zu erwarten. Im Gegensatz dazu kann man mit einer zusätzlichen adjuvanten Therapie wie bspw. mit Gemcitabin eine Verbesserung der Rate auf ca. 26% bewirken (Neoptolemos et al., 2010). Bei lokalisiertem Pankreaskarzinom (UICC-Stadien I–IIb) kann heute die Chirurgie gefolgt von adjuvanter Chemotherapie als Standard angesehen werden. Diese Art des Vorgehens konnte in der European Study Group for Pancreatic Cancer (ESPAC III-Studie) (Neoptolemos et al., 2017) anhand einer guten Datenlage bestätigt werden (Oettle and Neuhaus, 2007). Somit kann bei hoher chirurgischer Expertise die mediane Überlebensrate bei potentiell kurativ resezierten Patienten auf 15 bis 20 Monate gesteigert werden (Beger et al., 2008). Die Therapieoption der rein konservativen Form wird aufgrund der schlechten Ergebnisse in mehreren Studien nicht mehr angewendet. Aufgrund der unbefriedigenden Ergebnisse einer rein konservativen Therapie wurde die Indikation zur Durchführung einer operativen Therapie mit kurativer Intention schrittweise ausgedehnt. Dies hatte zur Folge, dass auch Patienten, bei denen sich im Rahmen der präoperativen Bildgebung oder intraoperativ eine Gefäßbeteiligung gezeigt hatte, dennoch einer onkologischen Resektion unterzogen wurden. Allerdings ist dieses Verfahren weiterhin umstritten und wird kontrovers diskutiert. Vereinzelt Studien haben ergeben, dass die Subgruppe der Patienten mit Gefäßbeteiligung eine signifikant schlechtere Prognose aufweisen als das Gesamtkollektiv (Giovinazzo et al., 2016). Andere Studien wiederum haben gezeigt, dass das Vorliegen einer Gefäßbeteiligung keinen Einfluss auf die Prognose hat, wenn der Tumor unter Mitnahme der betroffenen Gefäße im Gesunden (R0) reseziert werden kann (Bachellier et al., 2001).

1.2. Ziele der Arbeit

Es bleibt daher offen, ob das Vorliegen einer Gefäßbeteiligung beim Pankreasadenokarzinom Ausdruck einer besonders aggressiven Tumorbiologie oder eher Ausdruck einer ungünstigen topographischen Lage des Tumors ist.

Primäres Ziel dieser Arbeit ist, wenn ein invasives Wachstum des Pankreaskarzinoms in die nahegelegenen Gefäße stattgefunden hat und solch eine aggressive Tumorbiologie vorhanden sein sollte, diese anhand der lymphogenen und hämatogenen Tumorzell dissemination zu zeigen.

Eine weitere Intention dieser Arbeit ist es im Umkehrschluss, ob Patienten, bei denen eine Gefäßinfiltration durch das Pankreaskarzinom vorliegt, sogar einen Vorteil durch die chirurgische Resektion der Gefäße haben. Hier wurden in der Arbeit mehrere Aspekte wie der Lymphknotenstatus, der BerEp4-Status der Lymphknoten und die Perineuralinfiltration aufgegriffen und deren Auswirkung auf das rezidivfreie, das metastasenfreie, dem Gesamt-/ Überleben beobachtet und die Daten verglichen von Patienten mit und ohne Gefäßbeteiligung.

Eine weitere Kontroverse besteht in der Frage, ob die Patienten, die sich einer Gefäßresektion unterziehen, eine höhere Mortalität und Morbidität aufweisen (Navez et al., 2021; Yu et al., 2014). Dieser Fragestellung widmete sich diese Arbeit zusätzlich, um zu zeigen, wie sich eine Gefäßresektion auf die Mortalität wie auch Morbidität auswirken kann.

1.3. Das Pankreaskarzinom

Die Inzidenz des Pankreaskarzinoms liegt bei 7 bis 8 / 100 000 Einwohnern pro Jahr in Deutschland. In absoluten Zahlen ausgedrückt bedeutet das, dass ca. 19000 Menschen allein im Jahr 2018 an diesem Malignom erkrankten. Bei krebisbedingten Todesraten stellt es bei Frauen wie auch Männern die vierthäufigste Ursache dar (Koch-Institut, 2021). Der Altersgipfel der Erkrankung liegt um das 60. bis 70. Lebensjahr. Eine Entstehung des Pankreaskarzinoms unterhalb des 50. Lebensjahrs wird extrem selten beobachtet (Primavesi et al., 2019). Zu den potentiellen exogenen Risikofaktoren werden Nikotinabusus, Alkoholabusus, der häufige Verzehr fettreicher Nahrung und Diabetes mellitus mit regelmäßig erhöhten Blutzucker-Werten gezählt (Hank et al., 2020; Kim and Scherer, 2021; Vanella et al., 2019). Prädisponierend für die endogene Entstehung wirken genetische Mutationen im K-ras-, p53-, p16-INK4- oder DPC4-Gen oder eine Überexpression des EGF-Rezeptor-Systems (Grant et al., 2016; Ilic and Ilic, 2016). In ca. 5% der Fälle liegt ein hereditäres Pankreaskarzinom vor, bei dem ein BRCA-2-, PRSS-1-, CDKN2A- oder STK-Gendefekt oder ein MEN I Syndrom vorliegt (Lang et al., 2021; Slebos et al., 2000).

Der Hauptvertreter des Pankreaskarzinoms ist in ca. 90% der Fälle das duktaie Adenokarzinom, welches sich aus dem Epithel der Drüsenausführungsgänge entwickelt. Lokalisiert sind diese malignen Entartungen mit einer Häufigkeit von 70% am Pankreaskopf. Weitere 25% der Karzinome befinden sich im Korpusbereich und nur 5% im Pankreasschwanz. Als Tumore des Pankreaskopfs werden jene bezeichnet, die sich rechts vom linken Rand der Vena mesenterica superior befinden, sowie die Karzinome im Bereich des Processus uncinatus. Die Pankreaskörpertumore lokalisieren sich per definitionem zwischen dem linken Rand der Vena mesenterica superior und dem linken Rand der Aorta. Als Pankreasschwanztumore schließlich werden Karzinome bezeichnet, die zwischen dem linken Rand der Aorta und dem Milzhilus verortet sind.

Das Pankreasadenokarzinom kann u.a. durch eine pathologische Glukosetoleranz, Gewichtsverlust, dyspeptische Beschwerden, Erbrechen und Diarrhoen bzw. Steatorrhoen symptomatisch werden. Im Vordergrund stehen

aber vor allem Symptome, die durch Kompression bzw. Infiltration von Nachbarstrukturen verursacht werden. Hierzu zählt in erster Linie der schmerzlose Ikterus, der das typische klinische Leitsymptom des Pankreaskopfkarzinoms darstellt. Das sog. Courvoisier-Zeichen ist positiv, wenn es durch Tumorkompression des Duktus zystikus zu einer Abflussbehinderung der Gallenblase mit entsprechendem Gallenblasenhydrops kommt, der bei der Palpation des Abdomens festgestellt werden kann. Weiterhin kennzeichnend für das Pankreaskarzinom ist auch der Oberbauchschmerz mit einer gürtelförmigen Ausstrahlung in den Rücken. Bei Stauung des venösen Systems oder im Rahmen eines paraneoplastischen Syndroms kann es auch zu rezidivierenden Thrombosen oder Thrombophlebitiden kommen.

1.4. Stadieneinteilung

Die Einteilung des Pankreaskarzinoms nach den Stadien 0 bis IV erfolgt typischerweise nach der TNM-Klassifikation, festgelegt durch die Union Internationale Contre Cancer (UICC), die sich hinsichtlich ihrer Prognose unterscheiden (Wittekind, 2019). Die Klassifikation gilt für Tumore des exokrinen Pankreas und für neuroendokrine Tumore ebenso wie für die Karzinoide.

T Primärtumor

Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor 2 cm oder weniger in größter Ausdehnung*
T1a	Tumor 0,5 cm oder weniger in größter Ausdehnung *
T1b	Tumor größer als 0,5 cm aber nicht größer als 1 cm in größter Ausdehnung *
T1c	Tumor größer als 1 cm aber nicht größer als 2 cm in größter Ausdehnung *
T2	Tumor größer als 2 cm aber nicht größer als 4 cm in größter Ausdehnung *
T3	Tumor größer als 4 cm in größter Ausdehnung *
T4	Tumor infiltriert Truncus coeliacus oder A. mesenterica superior und/oder A. hepatica communis

Tabelle 1

Anmerkung: * schließt eine Invasion des peripankreatischen Gewebes mit ein

N Regionäre Lymphknoten

NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen in 1 bis 3 Lymphknoten
N2	Regionäre Lymphknotenmetastasen in 4 oder mehr Lymphknoten

Tabelle 2

Zu den regionären Lymphknoten zählen nach UICC-Kriterien nur **peripankreatische Lymphknoten**, die wie folgt eingeteilt werden können:

Superior	oberhalb von Pankreaskopf und –körper liegende Lymphknoten
Inferior	unterhalb von Pankreaskopf und –körper liegende Lymphknoten
Anterior	vordere pankreatikoduodenale, am Pylorus liegende (nur bei Kopftumoren) und proximale mesenteriale Lymphknoten
Posterior	hintere pankreatikoduodenale, am Ductus choledochus liegende und proximale mesenteriale Lymphknoten
Lienial	am Hilus der Milz und am Pankreasschwanz liegende Lymphknoten (nur bei Tumoren des Pankreaskörpers und –schwanzes)
Zöliakal	am Truncus coeliacus liegende Lymphknoten (nur bei Pankreaskopftumoren)

Tabelle 3

M Fernmetastasen

M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 4

Stadien des Pankreaskarzinoms

Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IB	T2	N0	M0
Stadium IIA	T3	N0	M0
Stadium IIB	T1 - T3	N1	M0
Stadium III	T1- T4	N2	M0
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

Tabelle 5

G Histopathologisches Grading

Liefert Angaben darüber, in welchem Maße sich das Tumorgewebe vom Ursprungsgewebe differenziert:

GX	Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt werden
G1	Gut differenziert
G2	Mäßig differenziert
G3	Schlecht differenziert
G4	Undifferenziert

Tabelle 6

R Residualtumor

Liefert nach einer operativen Behandlung Angaben darüber, ob Resttumorgewebe vorhanden ist oder nicht:

RX	Vorhandensein von Resttumorgewebe kann nicht beurteilt werden
R0	Kein Tumorgewebe nachweisbar
R1	Tumorgewebe mikroskopisch nachweisbar
R2	Tumorgewebe makroskopisch nachweisbar

Tabelle 7

1.5. Therapiekonzepte

Die einzige potenziell kurative Maßnahme bei Patienten mit einem Pankreaskarzinom ist die radikale Resektion des Tumors im Gesunden (R0). Sobald jedoch Fernmetastasen vorliegen, ist die Pankreasresektion nicht mehr mit einem prognostischen Vorteil für den Patienten verbunden und hat daher keinen Eingang in die aktuellen Therapieempfehlungen gefunden. Auch bei Tumorummauerung großer arterieller Oberbauchgefäße wie der Arteria mesenterica superior oder des Truncus coeliacus hat sich gezeigt, dass die Risiken eines komplexen arteriellen Gefäßersatzes nur mit einem sehr fraglichen prognostischen Vorteil für die Patienten verbunden sind, so dass auch in dieser Situation eine onkologische Resektion nur in ausgewählten Einzelfällen zur Anwendung kommt und keinen generellen Eingang in die aktuellen Therapieempfehlungen gefunden hat (Takaori et al., 2016).

Bei Patienten in den Stadien Ia, Ib und IIa kommen je nach Lokalisation vorzugsweise zwei Standardverfahren zum Einsatz. Dies sind die Pankreaskopfresektion und die Pankreaslinksresektion, welche meist in Verbindung mit einer Splenektomie durchgeführt werden. Bei Patienten mit einem lokal im Pankreas fortgeschrittenen Tumor kann eine totale Pankreatektomie durchgeführt werden.

Bei Tumoren des Pankreaskopfes haben sich zwei OP-Techniken etabliert: die Pankreatoduodenektomie nach Kausch-Whipple (Are et al., 2011) und die pyloruserhaltende Pankreatoduodenektomie (Hüttner et al., 2016; Tran et al., 2004). Obwohl es bei der pyloruserhaltenden Pankreatoduodenektomie in der postoperativen Phase häufiger zu Magenentleerungsstörungen kommt, wird diesem Verfahren mittlerweile der Vorzug gegenüber der klassischen Whipple'schen Operation gegeben (Klaiber et al., 2017).

Die Whipple-Prozedur kommt vor allem dann zur Anwendung, wenn der Pylorus nicht sicher vom Pankreaskopfkarzinom abzugrenzen ist und daher aus Radikalitätsgründen mit reseziert werden muss.

Im Hinblick auf das krankheitsfreie mediane Überleben besteht zwischen beiden Verfahren kein signifikanter Unterschied (Tran et al., 2004).

Bei beiden Verfahren wird eine transversale Laparotomie vorgenommen, durch das Kocher'sche Manöver das Duodenum mobilisiert und die Bursa omentalis eröffnet. Die darauffolgende sog. En-bloc-Resektion umfasst neben der kompletten Entfernung des Pankreaskopfes auch eine Cholezystektomie, die Resektion des distalen Choledochus, sowie eine Duodenektomie. Bei der Durchführung einer Kausch-Whipple-OP wird zusätzlich das distale Magendrittel mitreseziert. Bei beiden Methoden wird zudem eine radikale Lymphadenektomie im Bereich des Ligamentum hepatoduodenale entlang der Arteria hepatica communis und des Truncus coeliacus vorgenommen. Auch die präaortalen Lymphknoten zwischen Truncus coeliacus und dem Abgang der Arteria mesenterica superior werden disseziert.

In palliativen Fällen werden Stenosierungen des Ductus choledochus durch Einbringung von Stenteinlagen behandelt. Die operative Behandlung durch Bildung einer biliodigestiven Anastomose dient dazu, den Gallenfluss weiterhin zu gewährleisten. Stenosen des Magenausgangs werden analog mittels Stenteinlage oder einer Gastroenterotomie therapiert. Die Schmerzbehandlung erfolgt nach dem WHO-Stufenschema oder in Fällen, in denen keine genügende Schmerzlinderung erreicht werden kann, durch eine Blockade des Truncus coeliacus oder eine rückenmarksnahe Analgesie.

1.6. Gefäßresektion

Eine Problematik bildet in der onkologischen Pankreaschirurgie die Infiltration des Pankreaskarzinoms in die Portalvene oder die Vena mesenterica superior. Patienten, die sich in solch einem Stadium der Erkrankung befinden, können nur von einer R0-Resektion profitieren, wenn diese Gefäße bzw. Abschnitte exziiert und entsprechend rekonstruiert werden. Umstritten ist dabei, ob das mediane Überleben dieser Patienten wirklich verlängert wird, oder angesichts der Penetration des Tumors in die umliegenden Gefäße von einer besonders aggressiven Tumorbilogie ausgegangen werden muss und somit das Vorhandensein einer hämatogenen Metastasierung wahrscheinlich ist. Jedoch zeigt sich in mehreren Studien auch, dass das Vorhandensein einer Gefäßinfiltration kein Marker für eine aggressive Biologie des Tumors zu sein scheint, sondern nur durch die anatomisch nahe Lage der Gefäße zustande kommt. Somit profitieren die Patienten von einer R0-Resektion unter Mitnahme der betroffenen Gefäßabschnitte (Jain et al., 2020; Navez et al., 2021; Wang et al., 2019).

Die Morbidität und Mortalität sind bei der Patientengruppe „Pankreasresektion mit Gefäßresektion“ im Vergleich zur Patientengruppe „reine Pankreasresektion“ nicht erhöht (Murakami et al., 2015; Yu et al., 2014; Zhou et al., 2012).

Je nach Lokalisation und Ausdehnung des Tumors in die Gefäße können verschiedene Rekonstruktionen zum Einsatz kommen. Wenn möglich kann eine tangentielle Resektion der seitlichen Wand des Gefäßes durchgeführt werden. Dies gelingt insbesondere, wenn weniger als ein Drittel des Gefäßes betroffen ist und der weitere Durchfluss gewährleistet werden kann. Falls jedoch mehr als die Hälfte des Durchmessers des Gefäßes betroffen ist, wird primär die segmentale Resektion und die Rekonstruktion mit einer End-zu-End-Anastomose bevorzugt (Song et al., 2017).

Bei ausgedehnten Gefäßresektionen oder fixierter Mesenterialwurzel muss man mithilfe eines Interponats den Gefäßverlauf rekonstruieren. Dabei stehen dem behandelnden Chirurgen zwei Möglichkeiten der Interponatwahl zu Verfügung. Zum einen kann die autologe Transplantation von Venenmaterial vorgenommen werden. Beschrieben sind hierbei die Nutzung der Vena saphena magna, der

Vena jugularis interna, der Vena iliaca externa oder der Vena femoralis superficialis (Bachellier et al., 2001; Carrère et al., 2006; Kaneoka et al., 2009; Sakamoto et al., 2004; Terasaki et al., 2019). Defizite dieser Methode sind jedoch, dass sie zum Teil zu großen Kalibersprüngen führt und zeitaufwendig bei der Ex- und Transplantation ist.

Die andere Option der Gefäßrekonstruktion ist das Einsetzen einer Polytetrafluorethylen (PTFE)- Venenprothese. Stauffer und seine Arbeitsgruppe zeigten in einer retrospektiven Studie, dass PTFE-Prothesen bei einer längeren Verlaufsbeobachtung einen besseren Blutfluss gewährleisten als autologe Gefäßinterponate (Stauffer et al., 2009). Durch ihre leichte Handhabung und ihren schnellen Einsatz eignen sie sich gut als Gefäßprothesen bei langstreckigen Gefäßresektionen (Liao et al., 2014).

1.7. Chemotherapie

Nach den aktuellen Empfehlungen der S3-Leitlinien zum exokrinen Pankreaskarzinom sollte nach einer R0-Resektion bei allen Patienten im UICC Stadium I bis III eine adjuvante Chemotherapie erfolgen.

Dabei stehen mehrere Behandlungskonzepte zur Verfügung, die interdisziplinär erarbeitet werden sollten.

Bei Patienten mit einem guten Allgemeinzustand und einem Alter unter 80 Jahren ist die Kombinations-Chemotherapie mit dem modifizierten FOLFIRNIOX-Schema (Oxaliplatin, Irinotecan, Fluoruracil und Leucovorin) anzustreben (Conroy et al., 2018).

Bei Patienten mit einem reduzierten Allgemeinzustand wird empfohlen, eine adjuvante Chemotherapie mit Gemcitabin (Oettle et al., 2013), einem Pyrimidinanalogon, welches als Gemcitabintriphosphat anstelle des Nucleosids Cytidin in die DNA eingebaut wird und somit einen DNA-Strangbruch erzeugt, durchzuführen. Die alternative Empfehlung besteht in einer adjuvanten Chemotherapie, in der Gemcitabin mit Capecitabin, einer Vorstufe des 5-Fluoruracil, welches im Körper durch das Enzym Thymidinphosphorylase in die aktive Form umgewandelt wird, kombiniert wird (Neoptolemos et al., 2017). Auch das 5-Fluoruracil allein kann in der adjuvanten Behandlung des Pankreaskarzinoms eingesetzt werden (Neoptolemos et al., 2010).

Empfohlene Therapie des metastasierten Adenokarzinoms und des lokal fortgeschrittenen Karzinoms des Pankreas ist bei Patienten mit einem guten Allgemeinzustand das FOLFIRNIOX-Schema (Oxaliplatin, Irinotecan, Fluoruracil und Leucovorin) (Sohal et al., 2016; Suker et al., 2016). Bei Patienten mit Komorbiditäten und dementsprechend leicht reduziertem Zustand hat sich die Kombination von Gemcitabin mit proteingebundenem Paclitaxel, das seinen Effekt durch Störung der Mikrotubuli und damit der Mitose erzielt, bewährt (Adamska et al., 2017). Weitere mögliche Kombinationspartner des Gemcitabins sind schließlich die Platinderivate. Insbesondere das Cisplatin und das Oxaliplatin konnten unter Abwägung von Komorbiditäten die mittlere Überlebenszeit verlängern (Grossberg et al., 2020).

1.8. Lymphadenektomie

Das Ziel jeder onkologischen Pankreasresektion mit kurativer Absicht ist die komplette Tumorentfernung im Gesunden. Charakteristischerweise ist das Pankreaskarzinom ein Tumor, welcher sich klinisch erst sehr spät bemerkbar macht. Deshalb ist schon zum Zeitpunkt seiner Diagnose bei über 50% der Patienten ein Befall von Lymphknoten auffindbar. Mehrere Studien zeigen, dass der Lymphknotenstatus einer der bestimmenden Faktoren für die Überlebenszeit der Patienten ist (Chen et al., 2010).

Nach wie vor besteht kein standardisiertes Schema für die Lymphadenektomie bei der Pankreatoduodenektomie. Nach den S3-Leitlinien des exokrinen Pankreaskarzinoms wird jedoch empfohlen, mindestens 12 regionäre Lymphknoten zu entfernen und diese in die histopathologische Untersuchung einzuschicken. Dabei zeigen mehrere Studien kein Verfahren, das eindeutige Vorteile gegenüber den übrigen aufweist (Massucco et al., 2009; Orci et al., 2015).

Beim Pankreaskopfkarzinom beinhaltet die Standardlymphadenektomie eine en bloc Resektion der peripankreatischen und duodenalen Lymphknoten sowie die Entfernung der Lymphknoten entlang des Ligamentum hepatoduodenale sowie der Arteria mesenterica superior bis hin zum Truncus coeliacus.

Bei der radikalen Lymphadenektomie erfolgt zusätzlich die Dissektion der anterolateralen, paracavalen und interaortocavalen Lymphknoten. Die Entfernung der paraaortalen Lymphknoten vom Zwerchfell bis zur Aortenbifurkation wird nur in Fällen der erweiterten radikalen Lymphadenektomie in Erwägung gezogen.

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Düsseldorf stimmte dem Aufbau einer Datenbank zur postoperativen Verlaufsbeobachtung von Patienten mit einem malignen Pankreastumor zu (Studiennummer: 2316). Diese unterzogen sich in der Zeit von 2003 bis 2010 einer chirurgisch-onkologischen Therapie mit kurativer Absicht in der Klinik für Allgemein-, Viszeral-, und Kinderchirurgie. Mit zusätzlicher Genehmigung des Institutes für Pathologie konnten in Paraffin eingebettete und als histopathologisch tumorfrei bewertete Lymphknoten der jeweiligen Patienten hinsichtlich der Expression des epithelialen Markerproteins EpCAM untersucht werden. Bei jedem Patienten wurde zusätzlich der Primärtumor entsprechend immunhistologisch bewertet.

In das Patientenkollektiv konnten insgesamt 108 Personen (n = 108) aufgenommen werden mit einem mittleren Alter von 66 Jahren (41- 85 Jahre) und einer Geschlechterverteilung von 52 Frauen zu 56 Männern.

Bei der abschließenden histopathologischen Routineuntersuchung zeigten die Ergebnisse, dass bei 91 Patienten (84%) tumorfreie Resektionsränder erreicht wurden. Bei den restlichen 17 Patienten konnten mikroskopisch retroperitoneale oder peripankreatische Resektionsränder, welche vom Tumor befallen waren, detektiert werden.

Histopathologische Kriterien

	Patientenzahl absolut	Patientenzahl in %
<u>T- Stadium</u>		
pT1	4	4
pT2	5	5
pT3	93	86
pT4	6	5
<u>N- Stadium</u>		
pN0	25	23
pN1	83	77
<u>M- Stadium</u>		
M0	99	92
M1	9	8
<u>Grading</u>		
G2	50	46
G3	58	54
<u>R-Stadium</u>		
R0	91	84
R1	17	16
<u>Perineuralinfiltration</u>		
PN0	52	48
PN1	56	52

Tabelle 8

Therapie

	Patientenzahl absolut	Patientenzahl in %
<u>Pankreasresektion</u>		
Pankreaskopf	99	91
Pankreaslinksresektion	3	3
Totale Pankreatektomie	6	6
<u>Ausmaß LK-Dissektion</u>		
Limitierte LK-Dissektion (<18 LK)	29	27
Radikale LK-Dissektion (>18 LK)	79	73

Tabelle 9

Art der Gefäßresektion und Rekonstruktion

	Patientenzahl absolut	Patientenzahl in %
<u>Ausmaß der Gefäßresektion</u>		
Venöse Resektion	35	90
Arterielle Resektion	4	10
<u>Gefäßrekonstruktion venös</u>		
Tangential	13	37
End-zu-End-Anastomose	19	54
PTFE-Interponat	3	9

Tabelle 10

Insgesamt lag bei 39 Patienten in dem Kollektiv eine Infiltration von Gefäßen vor. Dabei handelte es sich bei 35 Patienten um eine venöse und bei vier Patienten um eine arterielle Infiltration.

Bei den venösen Gefäßrekonstruktionen wurde bei 13 Patienten eine tangentiale Wiederherstellung durchgeführt. Bei 19 Patienten musste eine segmentale Resektion des Gefäßes und eine End-zu-End-Anastomose vorgenommen werden. Bei 3 Patienten musste ein PTFE-Interponat eingesetzt werden.

2.2. EpCAM

Das epitheliale Zelladhäsionsmolekül (epithelial cellular adhesion molecule) ist ein 40 kDa schweres transmembranes Glykoprotein, das von den meisten Zellen epithelialen Ursprungs exprimiert wird. In mesenchymalen, muskulären und neuroendokrinen Zellen wird es hingegen nicht exprimiert (Fong et al., 2008).

Das für seine Kodierung verantwortliche Gen (GA 733-2) ist auf Chromosom 4q lokalisiert und kodiert ein aus 314 Aminosäuren bestehendes Polypeptid, welches aus einer zytoplasmatischen, einer transmembranen und einer extrazellulären Domäne aufgebaut ist.

Die extrazelluläre Domäne besteht dabei aus 2 EGF-homologen Regionen. Die erste Region EGF I unterstützt dabei die Interaktion zwischen EpCAM Molekülen benachbarter Zellen. Die zweite Region EGF II ist zuständig für die Interaktion zwischen EpCAM Molekülen der gleichen Zelle oder von EpCAM Molekülen mit klassischen Adhäsionsmolekülen wie Cadherinen und Cateninen.

Eine weitere Aufgabe von EpCAM besteht darin, mithilfe seiner zytoplasmatischen Domäne die Proliferation der jeweiligen Zellen über die Aktivierung von c-myc zu induzieren. Zusätzlich konnte durch die Arbeitsgruppe Gutzmer et al. gezeigt werden, dass EpCAM immunmodulatorische Effekte aufweist. Es hemmt die MHC Klasse II restringierte Antigenpräsentation durch dendritische Zellen, so dass diese keine CD4+ T-Lymphozyten mehr aktivieren können (Gutzmer et al., 2004).

2.3. EpCAM Expression in Tumorzellen

EpCAM wurde erstmals 1990 von Tandon et al. als Prognoseparameter bei Patienten mit Mammakarzinom beschrieben (Tandon et al., 1990). In dieser Studie wurde die Expression von EpCAM mittels Western-Blot bei einem Patientenkollektiv von 384 Personen untersucht. Bei 36% dieser Patienten zeigte sich eine Expression von EpCAM im Tumorgewebe, welche mit einem kürzeren rezidivfreien Überleben sowie einem kürzeren Gesamtüberleben korrelierte.

Stöcklein et al. propagierten in ihrer Arbeit 2006, dass EpCAM zur gezielten Therapie des Ösophaguskarzinoms mittels Antikörper genutzt werden kann. Die Schlussfolgerung war insbesondere, in Situationen der adjuvanten Therapie kleinere Tumormassen zu detektieren und der Antikörpertherapie zugänglich zu machen. Seine Arbeitsgruppe präsentierte bei 79% der Ösophaguskarzinome im untersuchten Patientenkollektiv eine de novo Expression von EpCAM innerhalb des Tumors, während normale Mukosazellen des Ösophagus negativ auf den Antikörper gegen EpCAM reagierten (Stoecklein et al., 2006).

Eine signifikant erhöhte Expression von EpCAM auf Tumorgewebe des Gastrointestinaltraktes und insb. des Pankreas konnten zudem zwei weitere Arbeitsgruppen zeigen (Spizzo et al., 2011; Went et al., 2004).

Basierend auf diesen Ergebnissen verschiedener Arbeitsgruppen entschieden wir uns, zum Nachweis von Tumorzellen das epitheliale Adhäsionsmolekül EpCAM zu verwenden.

2.4. Schnittherstellung von Primärtumor und Lymphknoten

Für die immunhistologische Färbung wurden zuerst von den in Paraffin eingebetteten Lymphknoten, den sog. Blöcken, Schnitte hergestellt. Dazu wurde ein Mikrotom (Leica, SM2000R, 50749) genutzt, welches erlaubt, exakt gleich dicke Schnitte herzustellen. Für eine optimale immunhistologische Darstellung wurde beschlossen, eine Dicke von 5µm pro Schnitt zu nehmen. Dabei wurde der Paraffinblock in die dafür vorgesehene Halterung eingeklemmt und die Mikrotomklinge mit gleichmäßigen Bewegungen über den Block geschoben. Damit die Paraffinblöcke gut zu schneiden waren, wurden sie vorher für eine halbe Stunde bei -20°C im Kühlschrank aufbewahrt, da sie ansonsten zu weich für den Schneidevorgang gewesen wären.

Die so entstandenen Schnitte wurden mithilfe von Pinseln in ein warmes destilliertes Wasserbad mit einer Temperatur 20°C gelegt, in dem sich die davor eingerollten Schnitte komplett entfalteten. Im nächsten Schritt konnten die Schnitte mittels Adhäsionskräften auf Objektträger (Engelbrecht) aufgebracht und zu jeweils 20 Objektträgern auf einem Ständer platziert werden.

Um eine optimale Anhaftung der Schnitte an die Objektträger zu gewährleisten, wurden diese im Ofen bei 56°C für 20 Minuten und anschließend bei 70°C über Nacht erhitzt. Die auf diese Art und Weise präparierten Schnitte konnten somit immunhistochemisch markiert werden.

2.5. Färbungsreihe

Für den Antikörper BerEp4 (ab8666) gegen EpCAM lagen aus Untersuchungen anderer Tumorentitäten bereits Erfahrungen für die geeignete Konzentration vor (DakoCytomation Anti-Human Epithelial Antigen Clone Ber-EP4 Code-Nr. M0804). Es wurde eine Konzentration von 2µg/ml für diesen primären Antikörper eingesetzt. Für jeden Schnitt wurde zusätzlich eine Negativprobe mit einer Isotypkontrolle des primären Antikörpers mitgefärbt. Dazu wurde der Antikörper MOPC 21 (ab18443) benutzt. Die gewählte Konzentration lag bei 2µg/ml entsprechend der bei BerEp4. Die Negativkontrollen dienten der Detektion von unspezifischen Färbereaktionen des ABC-Kits (Vectastain, Peroxidase-Mouse IgG-PK4002). Als Methode wurde der Avidin-Biotin-Complex (ABC) gewählt (Cullen et al., 2003; Hsu et al., 1981).

Die ABC-Technik ist ein hochspezifischer Bindungstest zur Visualisierung der Bindung von Antikörpern an Antigene. Sie basiert auf der starken Affinität des Glykoproteins Avidin zum Vitamin Biotin. Das Avidin hat vier Bindungsstellen, die mit dem Biotin besetzt werden können. Dabei wird ein sekundärer Antikörper, der gegen den konstanten Teil des primären Antikörpers gerichtet ist, benutzt. Dieser wiederum ist markiert mit einer an das Avidin gekoppelten Peroxidase.

Die Peroxidase entwickelt sich in Anwesenheit von Diaminobenzidin (Dako, DAB+Chromogen, K3468) und Wasserstoffperoxid zu einem braunen bis kupferfarbenen Niederschlag. Die Farbintensität ist dabei abhängig von der Menge des vorhandenen Antigens.

2.6. Durchführung der Färbungsreihe

Zur Entparaffinierung der gewünschten Lymphknoten- und Primärtumorschnitte wurden diese jeweils dreimal für 10 Minuten in Xylol (Merck, 1.08685.2500) gestellt. Zur schonenden Rehydrierung des Gewebes wurde eine absteigende Alkoholreihe durchgeführt: für jeweils zweimal 5 Minuten in 99,5- prozentigem, 96- prozentigem und 80- prozentigem Ethanol sowie jeweils einmal 5 Minuten in 70- prozentigem Ethanol und zuletzt jeweils einmal 5 Minuten in Aqua dest..

Die Demaskierung von Epitopen der Antigene erfolgte in einer Retrieval-Solution-Lösung (Dako S1699). In dieser wurden die Schnitte zunächst für 30 Minuten bei 95°C im Wasserbad (Memmert) erhitzt und dann 20 Minuten lang bei Raumtemperatur abgekühlt. Anschließend wurden sie für 5 Minuten in Pufferlösung (PBS) (Gibco, 18912-014) und Aqua dest. gespült. Danach folgte die 30-minütige Inkubation der Schnitte in 0,3- prozentigem Wasserstoffperoxid mit anschließender Spülung in PBS. Dieser Vorgang diente der Inhibition der endogenen Peroxidase, um unspezifische Färbungen zu vermeiden.

Als nächstes wurden die Schnitte mit einem Liquid Blocker Pen (MBT Brand, 297840010) umrandet, um in den nächsten Schritten die Antikörperlösungen und Reagenzien in diesen umrandeten Arealen zu verteilen.

Im Anschluss wurde das Blockingserum auf jeweils jeden Schnitt pipettiert, wodurch unspezifische Proteinbindungen der Antikörper verhindert werden. Nach 20 Minuten Einwirkzeit und Abkippen des Blockingserums wurden alle Schnitte mit dem primären Antikörper und der dazugehörigen Isotypkontrolle für mindestens 45 Minuten inkubiert.

Nach Waschung mit PBS wurden alle Schnitte im nächsten Schritt 30 Minuten lang mit dem sekundären Antikörper behandelt.

Nach erneuter Waschung mit PBS erfolgte die Pipettion der Vectastain ABC-Reagenz mit einer Einwirkzeit von 30 Minuten.

Die Visualisierung mit Diaminobenzidin erfolgte nach 10 Minuten Inkubation im Dunkeln und anschließender 2 mal 5-minütiger Waschung in Leitungswasser.

Zur besseren histologischen Beurteilung der Zellkerne wurden die Gewebeschnitte für 15 Sekunden in Mayers Hämalaun (Merck, 1.09249.2500) angefärbt.

Im letzten Schritt erfolgte nach aufsteigender Alkoholreihe und Xylolbad das Eindeckeln der fertigen Präparate mit Entellan (Merck, 1.07961.0100).

Färbungsprotokoll	
Xylol	3 mal 10 min
Absteigende Alkoholreihe	
99,5% Ethanol	2 mal 5 min
96% Ethanol	2 mal 5 min
80% Ethanol	2 mal 5 min
70% Ethanol	5 min
Aqua dest.	5 min
Retrieval Solution (1:10 in Aqua dest.)	30 min bei 95°C
Retrieval Solution (1:10 in Aqua dest.)	20 min bei Raumtemperatur
Waschen in PBS	5 min
Blockierung der endogenen Peroxidase mit Wasserstoffperoxid (1:100 in PBS)	30 min
Waschen in PBS	3 mal 3 min
Blocking mit Serum (1Tropfen/3ml PBS)	20 min
Primärantikörper (in 10% AB-Serum)	45 min
Waschen in PBS	3 mal 3 min
Sekundärantikörper (1Tropfen/10ml PBS)	30 min
Waschen in PBS	3 mal 3 min

Inkubation mit ABC-Reagenz (1 Tropfen Reagenz A + 1 Tropfen Reagenz B/10ml PBS)	30 min
Waschen in PBS	3 mal 3 min
Farbentwicklung mit DAB-Substrat (10 Tropfen Chromogen/10 ml Substratpuffer)	10 min
Waschen mit Leitungswasser	2 mal 5 min
Kerngegenfärbung mit Hämalaun-Lösung nach Mayer	15 sek
Waschen in fließendem Wasser	15 min
Aufsteigende Ethanolreihe	
70% Ethanol	1 min
80% Ethanol	1 min
99,5% Ethanol	1 min
Xylol	2 min
Eindeckeln mit Entellan	

Tabelle 11

2.7. Auswertung

Die Auswertung der immunhistologischen Präparate erfolgte durch zwei voneinander unabhängige Personen. Benutzt wurde ein Lichtmikroskop (Leica DMIL, 49775).

Mithilfe des Immunoreactive Score (IRS), auch Remmele Score genannt, konnten zuerst die Primärtumore bewertet werden (Krausch et al., 2011; Remmele and Stegner, 1987). Bei diesem Auswertungssystem werden jeweils für die Färbeintensität und den Anteil positiver Kerne Punkte vergeben und die beiden Punktergebnisse miteinander multipliziert.

Daraus resultierte ein Score von 0 bis maximal 12, mit dessen Hilfe die Primärtumore bewertet werden konnten.

Auswertungsskala nach IRS

Punkte	Färbeintensität	Anteil positiver Kerne	Punkte
0	Keine Färbung	0%	0
1	Schwache Färbung	≤ 10%	1
2	Mäßige Färbung	11-50%	2
3	Starke Färbung	51-80%	3
		81-100%	4

Tabelle 12

Die Lymphknoten der einzelnen Patienten wurden auf Mikrometastasen hin untersucht. Als Mikrometastasen werden per definitionem einzelne Zellen oder Zellverbände mit bis zu 20 Zellen bezeichnet.

Die Ergebnisse der beiden auswertenden Personen stimmten zu 95% überein. Bei den restlichen 5% der Präparate wurde erneut mikroskopiert und nach Beratung eine Konsensentscheidung gefällt.

2.8. Immunhistochemische Analyse des Knochenmarks

Entsprechend der Menge des vom jeweiligen Patienten entnommenen Knochenmarks wurde dieses mit Hanks-Lösung (Biochrom AG, L2045) im Verhältnis 1:1 verdünnt.

Die entstandene Lösung wurde für 10 Minuten bei 170 x g zentrifugiert (Hettich Universal 32 R Zentrifuge, Nr. 1610). Diese Prozedur wurde bei Bedarf wiederholt, wenn nach der Zentrifugation die obere Phase der Lösung noch trüb geblieben war.

Der so gewonnene Überstand wurde bis zum Sediment, dem sog. Pellet, abpipettiert und verworfen. Das Pellet konnte nun in 20 ml DPBS-Puffer (Gibco, 14190-169) aufgenommen und mit einem Zellsieb 70µm filtriert werden.

In ein neues 50 ml Falcon-Röhrchen konnte nun 15 bis 20 ml Ficoll-Paque (GE Healthcare, 17-1440-03) pipettiert und vorsichtig mit der davor gewonnenen Zellsuspension überschichtet werden, so dass sich zwei Phasen bildeten. Dabei war zu beachten, dass unten die klare und oben die trübe bzw. blutige Phase entstand. Anschließend folgte eine erneute Zentrifugation bei 550 x g für 30 Minuten. Die so entstandene Interphase konnte abpipettiert, in ein neues 50 ml Falcon-Röhrchen in 20 ml DPBS- Puffer resuspendiert und zum wiederholten Mal bei 365 x g für 6 Minuten zentrifugiert werden.

Der bei diesem Vorgang entstandene Überstand wurde abgegossen, das Sediment in 10 ml Lysepuffer mit einem pH-Wert von 7,4 (Ammoniumchloridlösung) resuspendiert und die Suspension für 10 Minuten stehen gelassen. In den nächsten zwei Schritten wurde jeweils eine Zentrifugation bei 365 x g für je 6 Minuten durchgeführt, der Überstand abgegossen und das Sediment mit DPBS-Puffer resuspendiert.

Zur Zellzählung in der Neubauer Zählkammer wurden jeweils 10 µl Zellsuspension mit Trypanblau (Gibco, 1520-061) im Verhältnis 1:1 per Pipettion zusammengeführt und in der Kammer ausgezählt, um im nächsten Vorgang die Zellsuspension mit DPBS auf ca. 500 000 Zellen pro ml einzustellen. Je 1 ml dieser Suspension wurde auf 16 verschiedene Haftobjektträger (Thermo Scientific, XMZ-252B-AD-CE24) und je 2 ml auf 8 verschiedene Objektträger

(ISO 8037) aufgetragen, um Dünnschichtpräparationen anzufertigen. Zur Beurteilung der Zellsuspensionen auf den Haftobjektträgern mussten diese dann 30-45 Minuten lang zum Sedimentieren stehen gelassen werden. Anschließend wurde die Restflüssigkeit abgekippt und eine Trocknung bei Raumtemperatur durchgeführt.

Nach diesen Schritten erfolgte die Fluoreszenzfärbung mit dem Panzytokeratin-Antikörper, der die epithelialen Zytokeratin-Subtypen CK8, CK18 und CK19 detektiert.

Als erstes mussten die Knochenmarkspräparate auf den Haftobjektträgern mit einem Liquid Blocker Pen (MBT Brand, 297840010) umrandet werden. Danach erfolgte ein Permeabilisierungsschritt, in dem die Präparate für 5 Minuten in 0,5-prozentiger Triton x-100 (Sigma, Lot 53H0613) Lösung gestellt wurden, welche zuvor 1/200 mit DPBS (Gibco, Ref. 14190169) verdünnt wurde.

Anschließend folgte ein Waschvorgang von jeweils 3x3 Minuten mit reinem DPBS mit einem pH-Wert von 7,4.

Im nächsten Schritt wurde die Blockierung von unspezifischen Reaktionen erreicht, indem die Präparate für jeweils 20 Minuten in 20-prozentigem AB-Serum (Biotest, Ref. 805135) inkubiert wurden.

Die eigentliche Markierung mit dem Panzytokeratin Antikörper erfolgte im nächsten Schritt. Dazu wurde der monoklonale Mausantikörper Pan CK FITC (abcam, ab11212) mit einer Konzentration von 25µg/ml auf die Präparate pipettiert. Für die Inkubation wurde eine Dauer von 45 Minuten gewählt.

Nach der Inkubation mit dem Antikörper folgte die 3-malige Waschung der Präparate in einer Küvette für jeweils 3 Minuten in 0,2-prozentiger Tween 20 - Lösung (Dako S1966).

Zur Fixierung der Präparate wurden diese für 5 Minuten in 1-prozentigem Paraformaldehyd (Merck 8.18715.0100) stehen gelassen. Das Paraformaldehyd wurde zuvor in DPBS (Gibco, Ref. 14190-169) mit einem Verhältnis von 0,4g zu 40ml bei 65°C gelöst.

Danach erfolgte eine erneute Waschung der Präparate in einer Küvette für je 3x3 Minuten in DPBS.

Anschließend erfolgte eine Färbung der Präparate mit DAPI (4'-6-Amidin-2'-Phenylindol-Dihydrochlorid) (Roche 10236276001) in einer Konzentration von 100ng/ml. Dann erfolgte die Waschung mit DPBS in einer Küvette.

In einem letzten Schritt wurden die Präparate mit Mounting Medium (Vectashield H-1000) eingedeckelt.

2.9. Statistische Analyse

Zur statistischen Auswertung der gewonnenen Daten wurde das Statistikprogramm SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 16.0 benutzt.

2.9.1. Chi-Quadrat-Test

Der Chi-Quadrat-Test wurde zur Ermittlung der Korrelation zwischen zwei voneinander unabhängigen Merkmalen benutzt.

Mit diesem Test konnte überprüft werden, ob eine Abhängigkeit zwischen der durchgeführten Gefäßresektion und der Morbidität, der Mortalität, dem intensivstationären Aufenthalt, der R0-Resektion und der hämatogenen wie auch lymphogenen Tumorzell dissemination besteht.

Die Nullhypothese besagt dabei, dass kein Zusammenhang zwischen den untersuchten Variablen besteht. Bei einem p-Wert von $\leq 0,05$ kann man mit hoher Wahrscheinlichkeit annehmen, dass ein Zusammenhang zwischen der Gefäßresektion bzw. Gefäßinfiltration und den untersuchten Variablen besteht.

2.9.2. Exakter Test nach Fischer

Dieser Test ermöglicht es, anhand einer Vierfeldertafel einen Wahrscheinlichkeitswert für die Beziehung zwischen zwei dichotomisierten Variablen zu bestimmen. In der Anwendung entspricht der Exakte Test nach Fischer dem Chi-Quadrat-Test, liefert jedoch auch bei einer geringen Anzahl von Beobachtungen zuverlässige Werte.

2.9.3. Kaplan-Meier-Methode und Log-Rank-Test

Die Kaplan-Meier-Methode ist ein nichtparametrischer Test der Überlebensfunktion. Er ermöglicht die Analyse der Überlebenszeit auch dann, wenn zensierte Daten vorliegen.

Der Log-Rank-Test gehört ebenfalls zu den nichtparametrischen Tests und vergleicht die Überlebenszeiten zweier oder mehrerer unverbundener Stichproben.

In unserer Arbeit konnten wir mithilfe der Kaplan-Meier-Methode zunächst das Gesamtüberleben aller Patienten darstellen. Des Weiteren waren wir in der Lage, das rezidivfreie und das metastasenfremie Überleben und den Eintritt des Todes durch den Tumor im Zusammenhang mit dem Lymphknotenstatus (pN0, pN1), der EpCAM-Positivität der Lymphknoten und der Perineuralscheideninfiltration zu präsentieren.

2.9.4. Proportionales Hazard Modell nach Cox

Die multivariate Analyse unter Verwendung des Cox-Modells ist eine Regressionsmethode zur Untersuchung von Überlebensdaten. Es wird vor allem eingesetzt, wenn der Effekt von mehreren Einflussgrößen auf eine Zielvariable analysiert werden soll. Die Ergebnisse dieser Methode werden mit der Hazard Ratio (HR) ausgedrückt und geben wieder, wie hoch die Wahrscheinlichkeit für das Eintreffen eines Ereignisses in einer Testgruppe im Vergleich zu einer Kontrollgruppe in einem bestimmten Zeitintervall ist. Wenn die HR = 1 ist, so ist in beiden Gruppen die Wahrscheinlichkeit gleich groß, dass das beobachtete Ereignis eintritt. Eine HR von z.B. 1,25 hingegen bedeutet, dass ein Ereignis in der Testgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe mit einer um 25% erhöhten Wahrscheinlichkeit eintritt.

3. Ergebnisse

3.1. Stratifizierung der Patienten nach Gefäßresektionsstatus

In das untersuchte Patientenkollektiv konnten insgesamt 108 Patienten aufgenommen werden. Bei 39 Patienten wurde eine Gefäßresektion in kurativer Absicht durchgeführt. Der Zusammenhang zwischen der Gefäßbeteiligung und verschiedenen prognostisch wichtigen Variablen wurde analysiert. Eine Übersicht hierzu ist in Tabelle Nr. 13 zusammengestellt.

Die Verteilung des Alters und der Gefäßresektionen in dem Kollektiv gestaltete sich wie folgt: 44 Personen waren 65 Jahre oder jünger, bei 14 davon wurde eine Gefäßresektion durchgeführt. 64 Personen waren über 65 Jahre alt, von diesen wurden 25 einer Gefäßresektion unterzogen. Mit einem p-Wert von 0,619 konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Alter der Patienten und der Gefäßbeteiligung festgestellt werden.

Des Weiteren wurde die Mortalität innerhalb von 60 Tagen untersucht. Der Tod trat bei neun Patienten ohne eine Gefäßresektion und bei zwei Patienten mit einer Gefäßresektion ein. Mit einem p-Wert von 0,194 zeigte sich keine statistische Signifikanz hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Mortalität und Gefäßinfiltration.

Eine perioperative Morbidität ergab sich bei 23 Patienten ohne eine Gefäßresektion und 17 Patienten mit einer Gefäßresektion. Mit einem p-Wert von 0,093 konnte zwischen der perioperativen Morbidität und der Gefäßresektion kein statistisch signifikanter Zusammenhang belegt werden.

Die Verweildauer auf der Intensivstation wurde unterteilt in die Kategorien „bis einschließlich fünf Tage“ und „über fünf Tage“. In dem Kollektiv hatten 19 Patienten ohne eine Gefäßresektion und elf Patienten mit einer Gefäßresektion einen verlängerten Aufenthalt auf der Intensivstation. Mit einem p-Wert von 0,986 stellte sich zwischen der Gefäßresektion und dem verlängerten intensivmedizinischen Aufenthalt der Patienten kein statistischer Zusammenhang dar.

Insgesamt befanden sich neun Patienten im Primärtumorstadium I oder II. Von diesen wurde ein Patient einer Gefäßresektion unterzogen. Im Primärtumorstadium III oder IV befanden sich 99 Patienten, von denen 38 gefäßreseziert wurden. Statistisch zeigte sich mit einem p-Wert von 0,259 kein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Primärtumorstadium und dem Gefäßbefall.

Von 82 Patienten mit bestätigten Lymphknotenmetastasen musste bei 30 Patienten aufgrund einer Gefäßbeteiligung eine Resektion durchgeführt werden. Mit einem p-Wert von 0,664 zeigte sich keine statistische Aussagekraft hinsichtlich dem Lymphknotenstatus der Patienten und einer bei ihnen vorliegenden Gefäßinfiltration.

In dem untersuchten Patientenkollektiv wiesen insgesamt 9 Patienten Fernmetastasen (M1) auf. In vier Fällen musste eine Gefäßresektion durchgeführt werden, fünf Fälle zeigten keine Gefäßbeteiligung. Keine Fernmetastasen (M0) bestanden bei 97 Patienten, von denen wiederum 34 eine Gefäßinfiltration hatten. Mit einem p-Wert von 0,466 zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen von Fernmetastasen und der Infiltration von Gefäßen.

Zudem wurde die Korrelation von Resttumorgewebe (R-Status) nach einer chirurgischen Therapie und der Gefäßbeteiligung untersucht. Unter 69 Patienten ohne eine Gefäßbeteiligung wurde bei insgesamt 10 Patienten Resttumorgewebe gefunden (R1). In der Gruppe der gefäßresezierten 39 Patienten konnte bei 7 Patienten Resttumorgewebe nachgewiesen werden. Statistisch konnte mit einem p-Wert von 0,822 kein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Resttumorgewebe und der Gefäßbeteiligung gezeigt werden.

In dem untersuchten Patientenkollektiv waren die Tumore mäßig (G2) bis schlecht (G3) differenziert. Von den 50 Fällen, in denen der Tumor mäßig differenziert war, konnte in 20 Fällen eine Infiltration der Gefäße festgestellt werden. Unter den 58 schlecht differenzierten Tumoren war in 19 Fällen ein Gefäßbefall vorhanden. In Bezug auf den Zusammenhang zwischen dem

Grading und der Gefäßbeteiligung konnte mit einem P-Wert von 0,736 kein statistischer Hinweis ermittelt werden.

Die Untersuchung hinsichtlich betroffener neuronaler Strukturen ergab, dass bei 58 Patienten eine perineurale Infiltration vorlag, von denen wiederum 24 Patienten ebenfalls eine Infiltration der Gefäße aufwiesen. In der Gruppe der 29 Patienten ohne eine perineurale Infiltration konnte bei acht Patienten ein Gefäßbefall festgestellt werden. Mit einem P-Wert von 0,437 zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der perineuralen Infiltration und der Gefäßbeteiligung.

Im Rahmen der histopathologischen Untersuchung wurde die Dissemination von Tumorzellen in Lymphknoten und Knochenmark untersucht. Dabei ist hervorzuheben, dass die Lymphknoten zuvor in der pathologischen Beurteilung ohne eine immunhistochemische Aufbereitung als tumorfrei bewertet wurden. Die immunhistochemische Untersuchung ergab, dass 54 Patienten disseminierte Tumorzellen in den Lymphknoten aufwiesen. Diese waren bei 22 Patienten mit einer Gefäßresektion versus 32 Patienten ohne eine Gefäßresektion präsent. Bei der statistisch ermittelten Korrelation zwischen dem Befall von Lymphknoten durch disseminierte Tumorzellen und dem Gefäßbefall konnte mit einem p-Wert von 0,445 keine Signifikanz festgestellt werden.

Die Analyse der 49 Knochenmarksproben hinsichtlich der Dissemination von Tumorzellen als weiterem prognostisch wichtigem Indiz konnten bei 9 Patienten ohne eine Gefäßbeteiligung und 3 Patienten mit einer Gefäßbeteiligung Tumorzellen nachgewiesen werden. Statistisch konnte mit einem p-Wert von 0,07 kein eindeutiger Zusammenhang zwischen disseminierten Tumorzellen im Knochenmark und einer Beteiligung der Gefäße festgestellt werden.

Assoziation zwischen der Gefäßresektion und klinisch-pathologischen Parametern

	Keine Gefäßinfiltration	Gefäßinfiltration	p*
<u>Alter</u>			
≤65 (n = 44)	30	14	
>65 (n = 64)	39	25	0,619
<u>Mortalität ≤ 60d</u>			
Nein (n = 97)	60	37	
Ja (n = 11)	9	2	0,194
<u>Morbidität perioperativ</u>			
Nein (n = 68)	46	22	
Ja (n = 40)	23	17	0,093
<u>Intensivstation</u>			
≤5d (n = 78)	50	28	
>5d (n = 30)	19	11	0,986
<u>Primärtumor</u>			
pT1-2 (n = 9)	8	1	
pT3-4 (n = 99)	61	38	0,259
<u>Lymphknoten</u>			
pN0 (n = 25)	16	9	
pN1 (n = 82)	52	30	0,664
<u>Metastasen</u>			
M0 (n = 97)	63	34	
M1(n = 9)	5	4	0,466

	Keine Gefäßinfiltration	Gefäßinfiltration	p*
<u>R-Status</u>			
R0 (n = 91)	59	32	
R1 (n = 17)	10	7	0,822
<u>Grading</u>			
G2 (n = 50)	30	20	
G3 (n = 58)	39	19	0,736
<u>Perineurale Infiltration</u>			
pN0 (n = 29)	21	8	
pN1 (n = 58)	34	24	0,437
<u>DT in Lymphknoten</u>			
Nicht vorhanden (n = 54)	37	17	
Vorhanden (n = 54)	32	22	0,445
<u>DT im Knochenmark</u>			
Nicht vorhanden (n = 37)	21	16	
Vorhanden (n = 12)	9	3	0,070

Tabelle 13

DT: disseminierte Tumorzellen

*Chi Quadrat

3.2. EpCAM Expression in Primärtumor, Lymphknoten und Knochenmark

Insgesamt konnten 108 Patienten in das untersuchte Kollektiv aufgenommen werden (n = 108), wobei die Geschlechterverteilung von Frauen zu Männern 52 zu 56 betrug.

Die Primärtumorstadien mit den entsprechenden absoluten und relativen Patientenzahlen zeigt Abbildung 1:

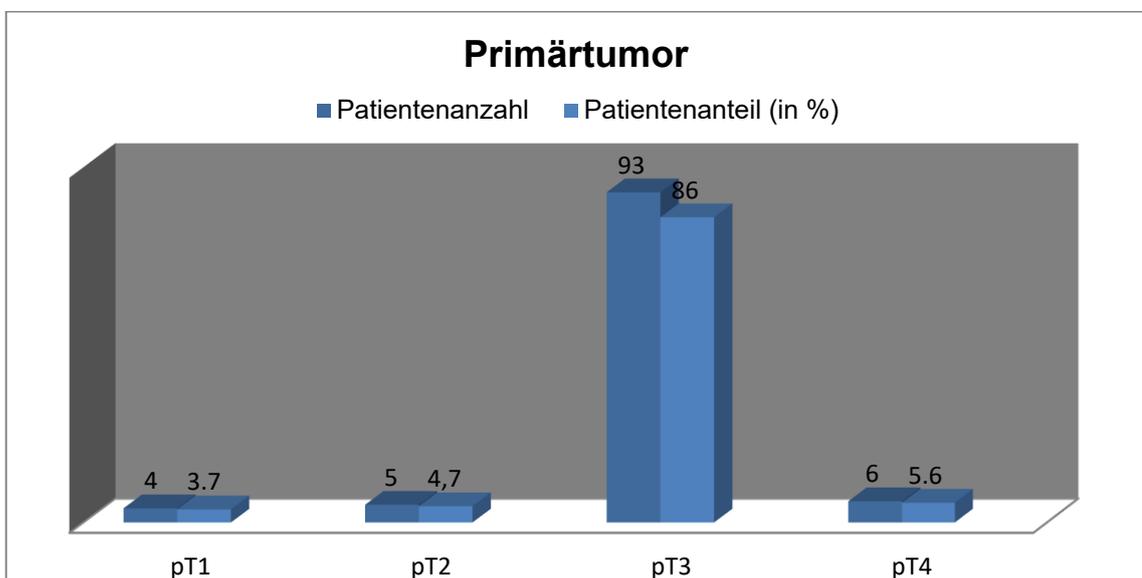


Abb. 1

Alle Primärtumore reagierten bei der immunhistologischen Färbung positiv auf den Antikörper EpCAM. Analog dazu fielen die Isotypkontrollen aller Serienschritte und der Primärtumore negativ aus.

Die Primärtumore konnten anhand des Immunoreactive Score (IRS) bewertet werden. Abbildung 2 zeigt die Mengenverteilung der Immunoreactive Scores der Primärtumore aller 108 untersuchten Patienten.

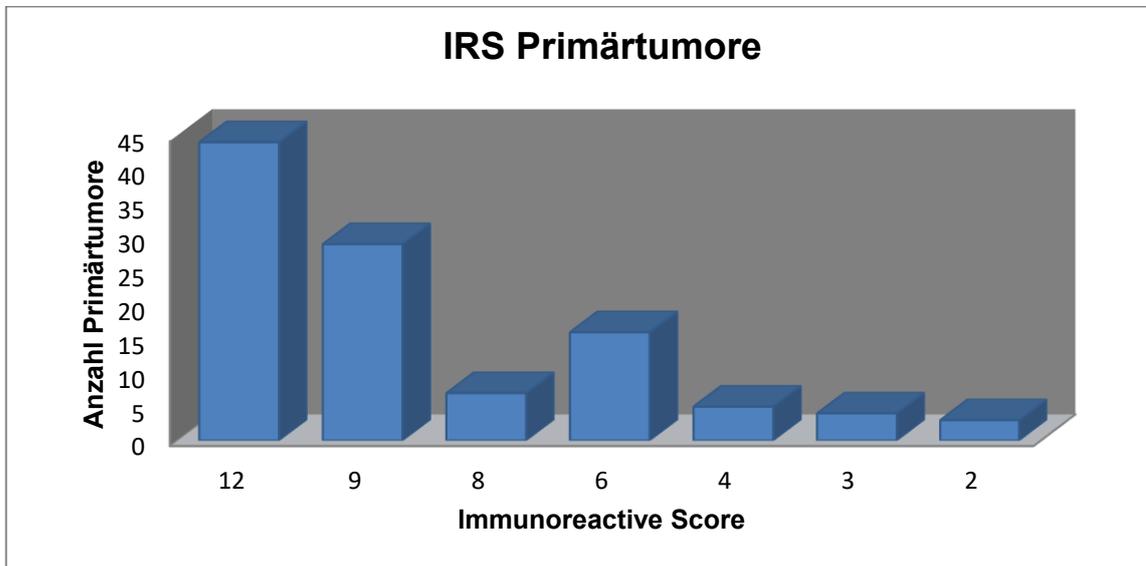


Abb. 2

EpCAM-positive Zellcluster im Randsinus eines Lymphknotens in 200-facher Vergrößerung

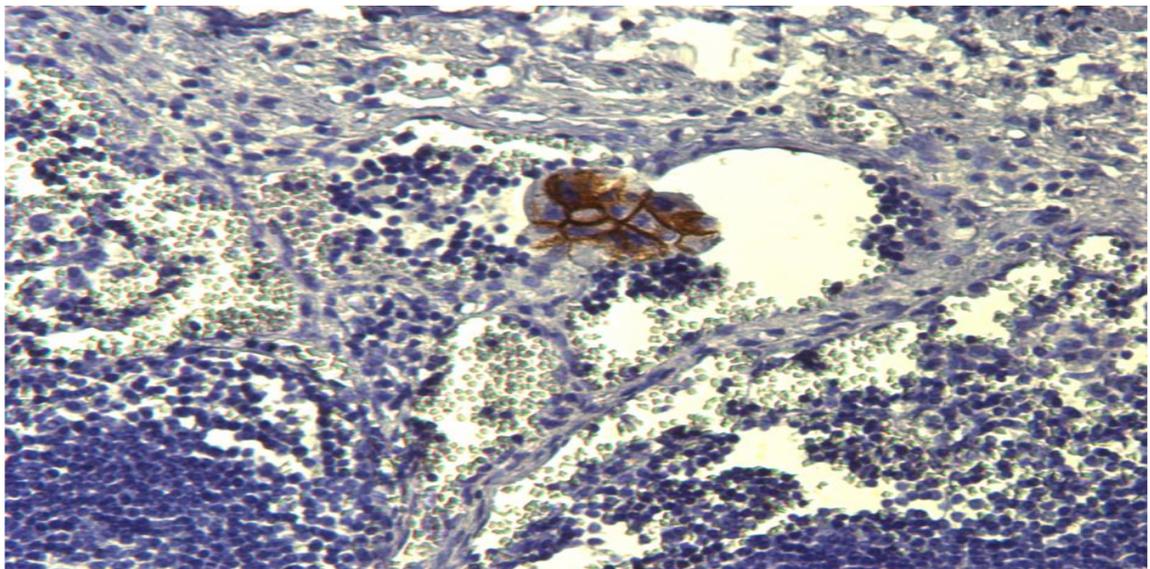


Abb. 3

Insgesamt konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit 2388 Lymphknoten auf Mikrometastasen hin untersucht werden. Das waren im Durchschnitt 22 Lymphknoten pro Patienten. Die untersuchten Lymphknoten waren zuvor bei der konventionellen histopathologischen Untersuchung auf der Basis von HE-Schnitten als tumorfrei beurteilt worden. Bei 50% der Patienten (n = 54) konnten Mikrometastasen (Abb. 4) in den untersuchten Lymphknoten nachgewiesen werden.

Eine immunhistochemische Untersuchung des Knochenmarks konnte bei 45% (n = 49) aller Patienten durchgeführt werden, von denen wiederum 24,49% (n = 12) eine hämatogene Dissemination zeigten.

3.3. Lymphogene und hämatogene Disseminationsrate in Zusammenhang mit der Gefäßresektion

Bei 39 der insgesamt 108 Patienten des Gesamtkollektivs wurde eine Gefäßresektion durchgeführt. Die Untersuchung der Lymphknoten dieser gefäßrezesierten Patienten ergab, dass 56% (n = 22) Mikrometastasen aufwiesen. Auf der anderen Seite konnten von den 69 Patienten ohne Gefäßresektion bei 46% (n = 32) Mikrometastasen in den Lymphknoten nachgewiesen werden (Abb.4). Mit einem p-Wert von 0,445 war der Zusammenhang zwischen der Rate an disseminierten Mikrometastasen und der Gefäßbeteiligung statistisch nicht signifikant.

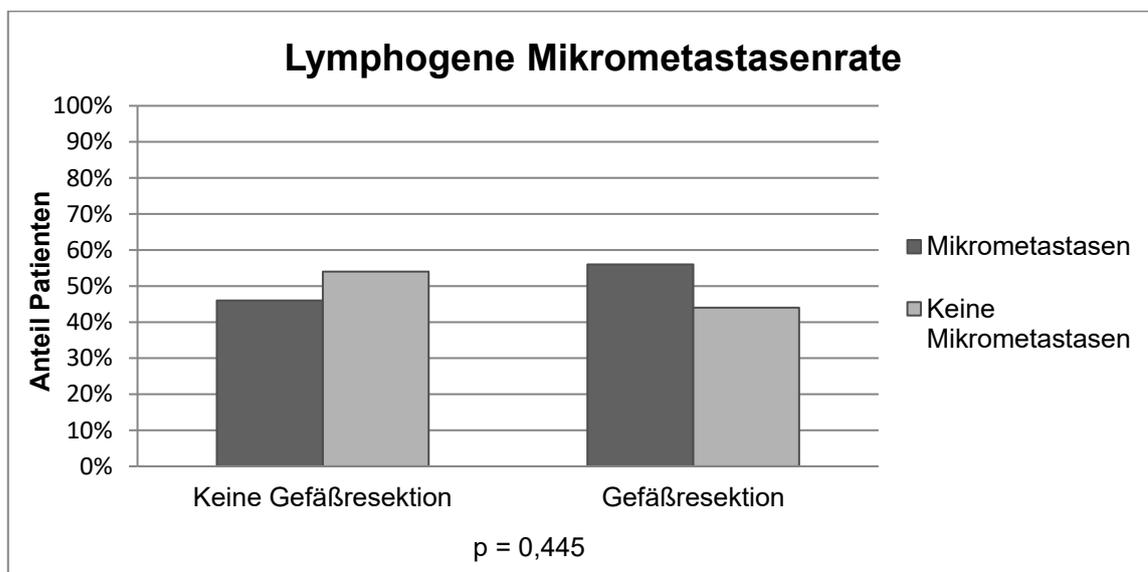


Abb. 4

Eine Analyse des Knochenmarks konnte bei 49 der insgesamt 108 Patienten durchgeführt werden. Bei 19 der 49 Patienten wurde eine Resektion der Gefäße durchgeführt. 16% (n = 3) dieser gefäßresezierten Patienten wiesen dabei disseminierte Mikrometastasen im Knochenmark auf. Von den 30 nicht gefäßresezierten Patienten konnte wiederum bei 30% (n = 9) eine Dissemination von Mikrometastasen im Knochenmark festgestellt werden. Auch hier war die Korrelation zwischen nachgewiesenen Mikrometastasen im Knochenmark und der Gefäßbeteiligung mit einem p-Wert von 0,070 statistisch nicht signifikant (Abb. 5).

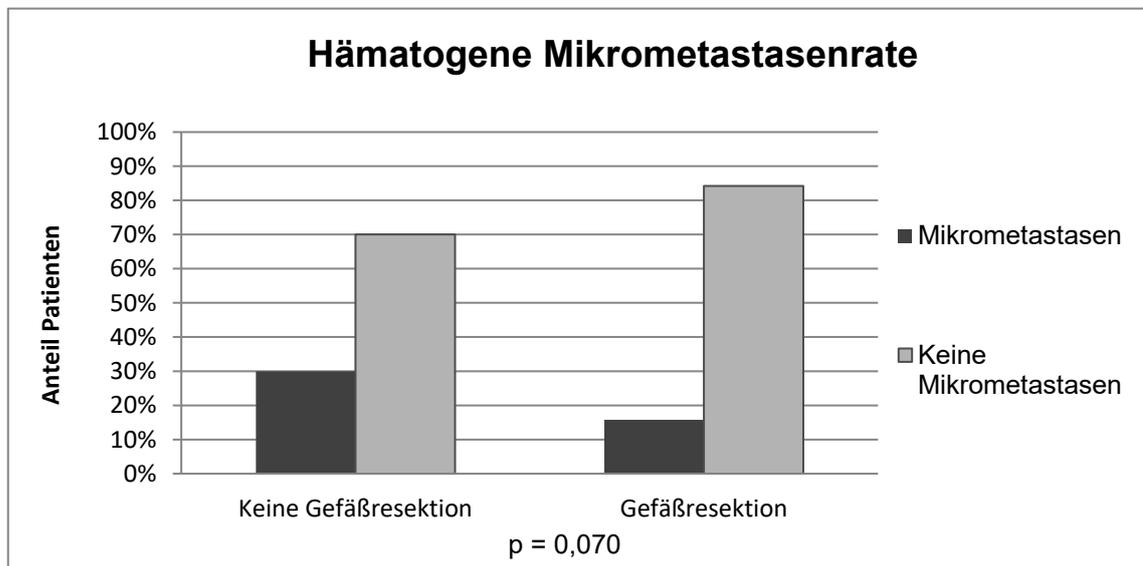


Abb. 5

3.4. Postoperative Verlaufsbeobachtung

Vier Patienten waren nach Entlassung nicht mehr erreichbar, so dass keine Follow-up-Daten erhoben werden konnten. Drei Patienten stammten aus der Gruppe der gefäßresezierten Personen und ein Patient aus der Gruppe der nicht gefäßresezierten Personen.

Das Follow-up beinhaltete die körperliche Untersuchung, die abdominelle Ultraschalluntersuchung, die abdominelle wie auch thorakale CT-Bildgebung und die Blutanalyse inklusive des Tumormarkers CA 19-9 an der Universitätsklinik Düsseldorf.

22 Patienten verstarben aus nicht tumorspezifischen Ursachen perioperativ innerhalb von 60 Tagen, so dass 82 Patienten in das Follow-up aufgenommen werden konnten.

Die mittlere Beobachtungszeit der verbliebenen 82 Patienten betrug 28 Monate (Spanne: 3 - 90 Monate). Die 5-Jahres-Überlebensrate dieser Follow-up-Gruppe mit 82 Patienten lag bei 10% (Abb. 6).

Das rezidivfreie Intervall nach der Pankreasresektion betrug im Mittel 20,9 Monate. 70 (85%) aller im Rahmen des Follow-up beobachteten Patienten entwickelten ein Tumorrezidiv. Von den 70 Patienten mit einem Tumorrezidiv entwickelten 28 (40%) ausschließlich Fernmetastasen, 11 (16%) ausschließlich ein Lokalrezidiv und 21 (30%) ein lokales Rezidiv wie auch Fernmetastasen.

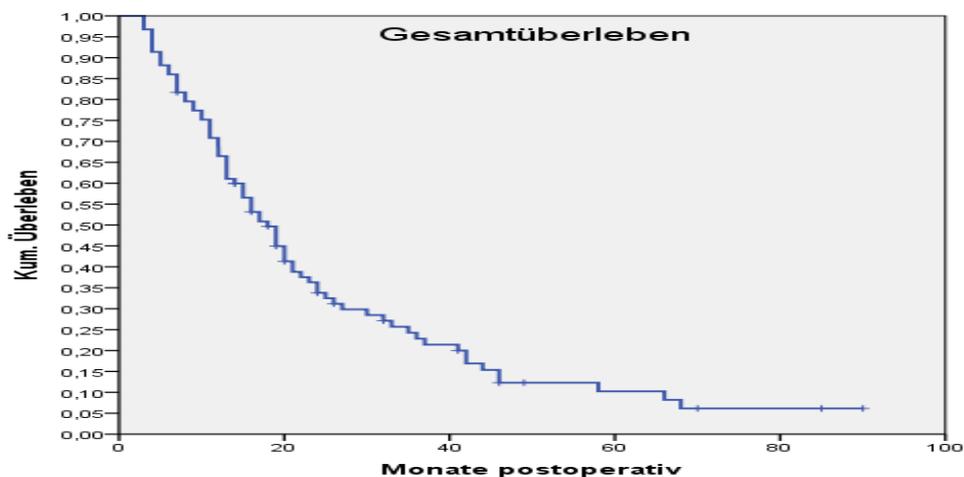


Abb. 6

Die perioperative Morbidität in der postoperativen Phase bis 60 Tage betrug 49% (40 Patienten). Die Hauptursachen einer perioperativen Morbidität waren Magenentleerungsstörungen, Pankreasfisteln, intraabdominale Fisteln, postoperative Blutungen und postoperative Pneumonien.

Im Hinblick auf die perioperative Morbidität (p -Wert = 0,093) und die perioperative Mortalität (p -Wert = 0,19) zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen gefäßresezierten und nicht gefäßresezierten Patienten.

Der Krankenhausaufenthalt variierte in dem Patientenkollektiv zwischen 8 und 152 Tagen. Die durchschnittliche Aufenthaltsdauer lag bei 28 Tagen. Eine intensivstationäre Liegedauer von über 5 Tagen konnte bei 30 Patienten (37%) beobachtet werden. Beim Vergleich zwischen standardpankreatektomierten ($n = 19$) und gefäßresezierten Patienten ($n = 11$), konnte mit einem p -Wert von 0,986 keine statistische Signifikanz in Bezug auf den verlängerten intensivstationären Aufenthalt festgestellt werden.

Bei den 39 Patienten, die sich einer Gefäßresektion und entsprechenden Rekonstruktionen unterzogen, konnte keine erhöhte Mortalität festgestellt werden. Im statistischen Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Gefäßbeteiligung zeigte sich mit einem p -Wert von 0,194 kein signifikanter Zusammenhang im Hinblick auf die Mortalität.

3.5. Postoperative Verlaufskontrolle im Zusammenhang mit dem Lymphknotenstatus

Um valide Ergebnisse zu erhalten, wurde nur der Lymphknotenstatus von Patienten berücksichtigt, bei denen mindestens 18 Lymphknoten während der Initialoperation entnommen wurden. D.h. nur Patienten, die nach dem Schema der radikalen Lymphadenektomie behandelt und deren Lymphknoten vorher histopathologisch als tumorfrei bzw. tumorbefallen beurteilt wurden, wurden in die Verlaufsbeobachtung eingeschlossen.

Infolgedessen wurde im Rahmen dieser Arbeit bei insgesamt 79 Patienten überprüft, wie der Lymphknotenstatus mit dem rezidivfreien Überleben, dem metastasenfremen Überleben und dem Gesamtüberleben korreliert.

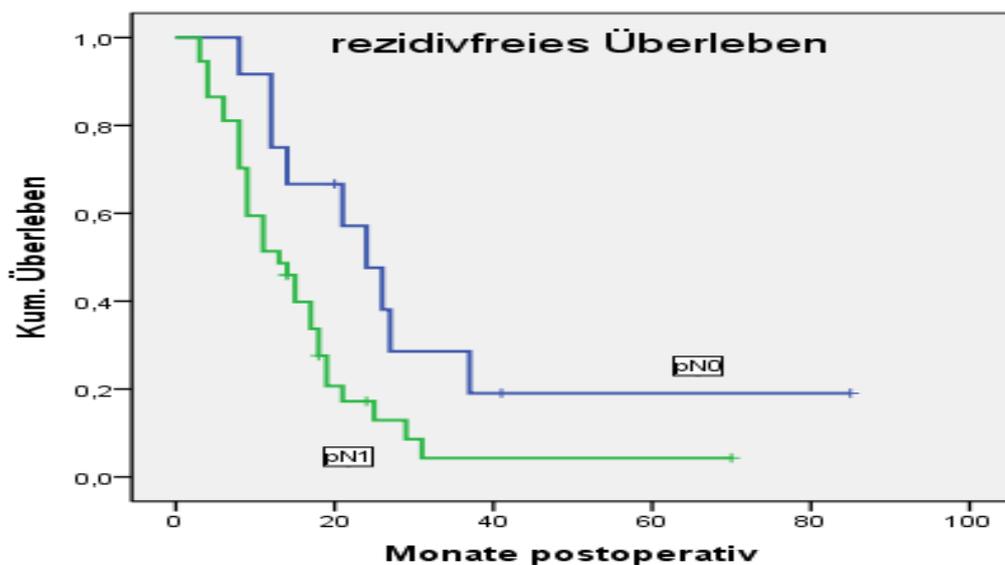


Abb. 7

Patienten ohne einen Befall der Lymphknoten (pN0) zeigten ein rezidivfreies Überleben von durchschnittlich 32,8 Monaten. Im Gegensatz dazu betrug die rezidivfreie Überlebenszeit bei Patienten mit einem Befall der Lymphknoten (pN1) im Durchschnitt 16,04 Monate (Abb. 7). Es zeigte sich eine statistische Signifikanz mit einem p-Wert von 0,02.

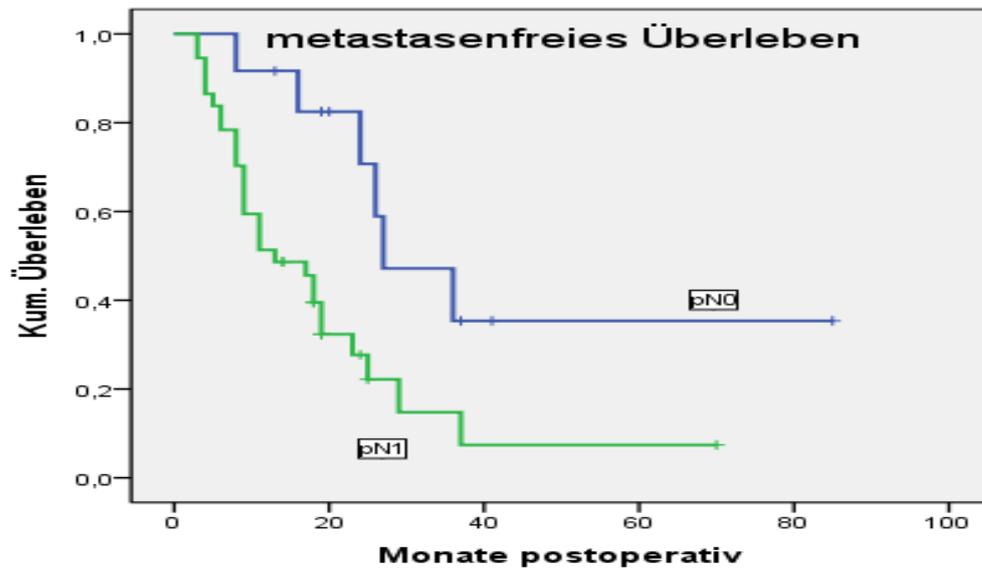


Abb.8

Die metastasenfrie Überlebenszeit betrug bei den pN0-Patienten durchschnittlich 45,5 und den pN1-Patienten durchschnittlich 19,2 Monate (Abb. 9). Mit einem p-Wert von 0,01 konnte eine statistische Signifikanz gezeigt werden.

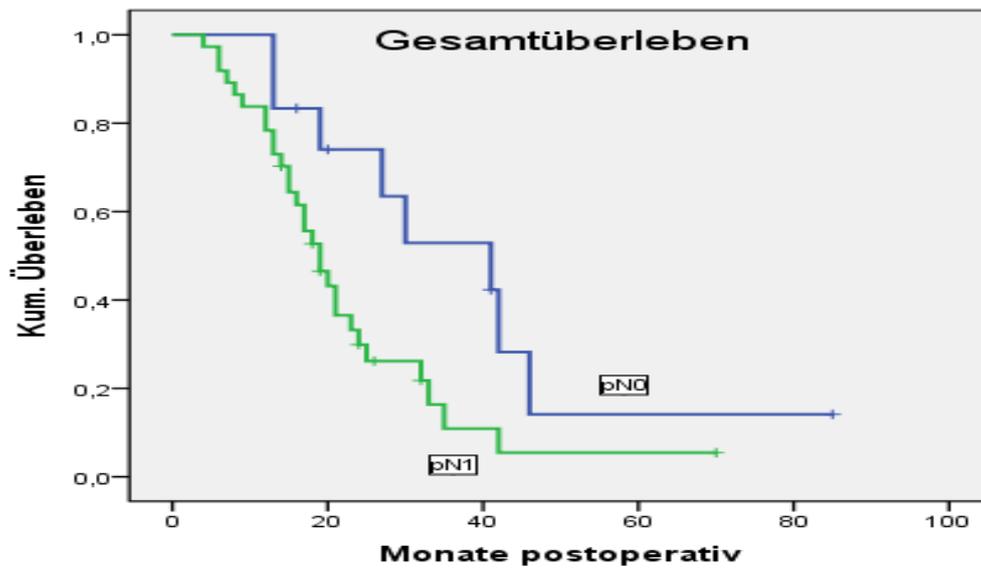


Abb. 9

Die Beobachtung des Gesamtüberlebens ergab 38,6 Monate bei pN0- und 22,6 Monate bei pN1-Patienten (Abb.9). Statistisch zeigte sich mit einem p-Wert von 0,03 ein Zusammenhang zwischen dem Lymphknotenstatus und dem Gesamtüberleben.

3.6. Postoperative Verlaufskontrolle im Zusammenhang mit dem BerEp4-Status der Lymphknoten

Um Mikrometastasen zu detektieren wurde der epitheliale Antikörper BerEp4 gegen das Antigen EpCAM verwendet.

Zur Ermittlung der prognostischen Relevanz wurde der postoperative Verlauf von Patienten mit einem BerEp4-Antikörper positiven Lymphknotenstatus mit dem von Patienten mit einem BerEp4-Antikörper negativen Lymphknotenstatus verglichen.

Der Fokus galt dabei dem rezidivfreien Überleben, dem metastasenfremen Überleben und dem Gesamtüberleben. Im Patientenkollektiv reagierten die Lymphknoten von 50% (n = 54) der insgesamt 108 Patienten positiv auf den Antikörper BerEp4. Somit konnten bei der Hälfte der Patienten von dem Primarius ausgehende Mikrometastasen nachgewiesen werden.

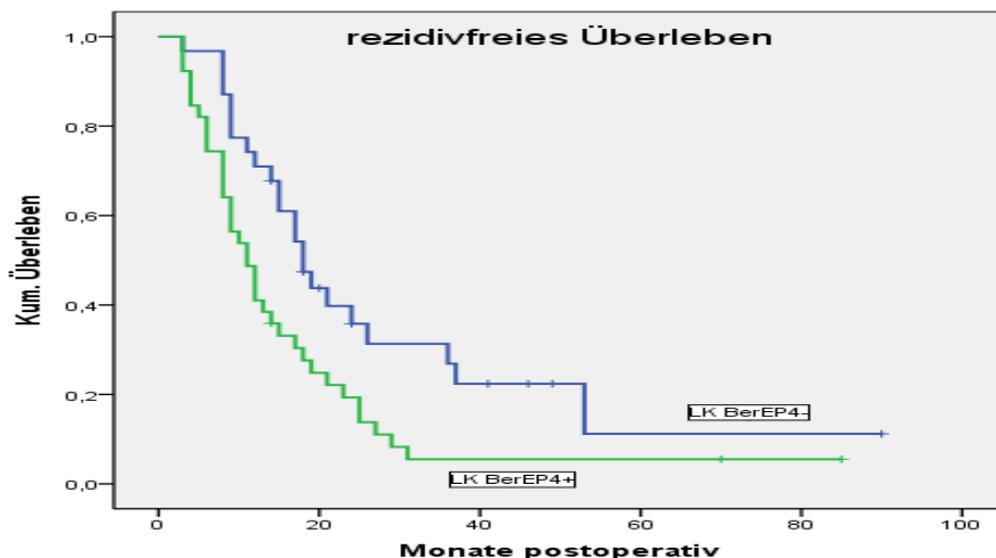


Abb. 10

Die Daten zeigen, dass Patienten mit einem BerEp4 negativen Lymphknotenstatus länger rezidivfrei überlebten. Im Durchschnitt waren dies 29,2 Monate versus 16,6 Monate bei Patienten mit einem BerEp4 positiven Status (Abb. 10). Es konnte eine statistische Signifikanz mit einem p-Wert von 0,03 gezeigt werden.

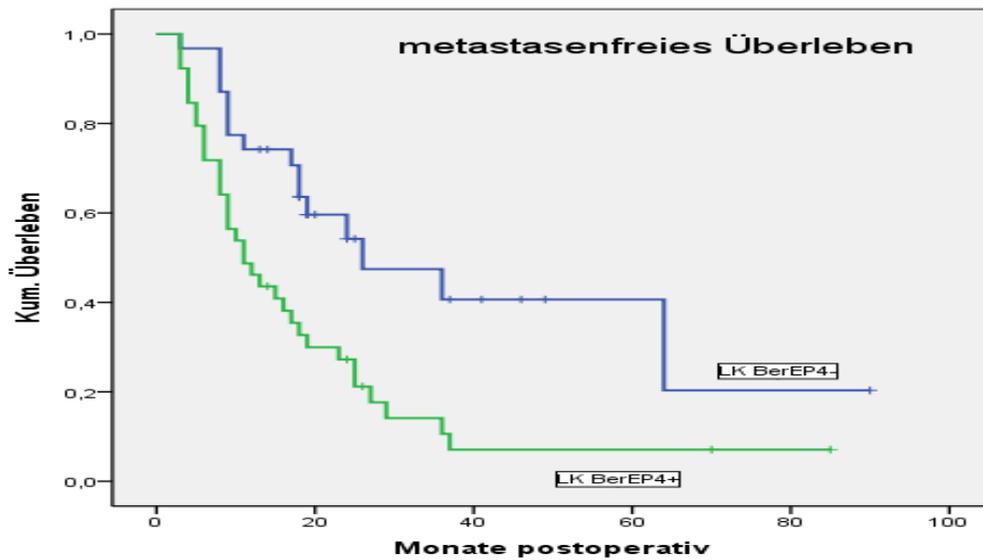


Abb. 11

Im Hinblick auf die metastasenfreie Überlebenszeit zeigte sich im Mittel eine Zeitspanne von 41,5 Monaten bei BerEp4 negativen Patienten versus 19,4 Monaten bei BerEp4 positiven Patienten (Abb. 11). Mit einem p-Wert von 0,02 konnte ein deutlicher statistischer Zusammenhang zwischen bestehenden Mikrometastasen, welche nur immunhistochemisch nachgewiesen werden konnten, und der metastasenfreien Überlebenszeit gezeigt werden.

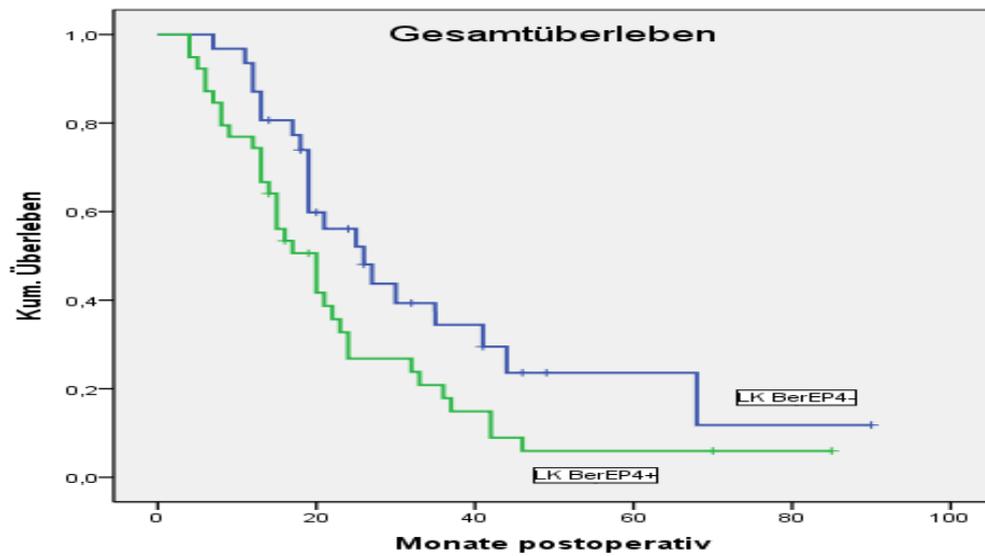


Abb. 12

Auch bei Betrachtung der Gesamtüberlebenszeit zeigte sich analog zu den vorherigen Ergebnissen, dass Patienten mit einem BerEp4 negativen Lymphknotenstatus einen Benefit aufweisen. Dieser lag im Durchschnitt bei 36,6 Monaten im Vergleich zu 23,4 Monaten bei Patienten mit einem BerEp4 positiven Lymphknotenstatus (Abb.12). Im Rahmen der statistischen Analyse beider Patientengruppen konnte hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen einem BerEp4 positiven Lymphknotenstatus und einer kürzeren Gesamtüberlebenszeit mit einem p-Wert von 0,044 eine statistische Signifikanz ermittelt werden.

3.7. Postoperative Verlaufskontrolle im Zusammenhang mit der Perineuralinfiltration

Ein weiterer Fokus der vorliegenden Arbeit galt der Perineural- bzw. der Perineuralscheideninfiltration im Hinblick auf das rezidivfreie Überleben, das metastasenfrie Überleben und das Gesamtüberleben.

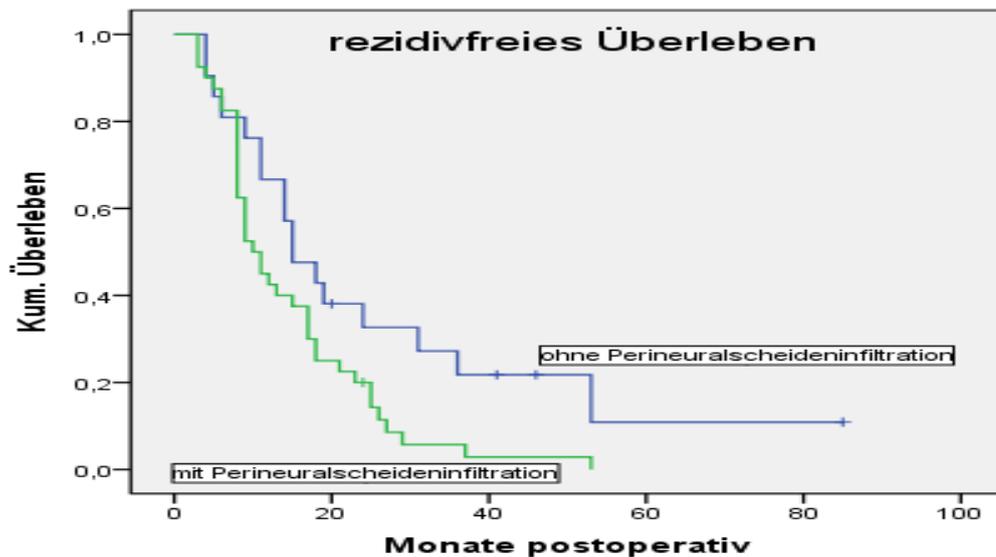


Abb.13

In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass Patienten ohne eine karzinogene Infiltration der lokalen Perineuralscheiden mit durchschnittlich 26,8 Monaten eine längere rezidivfreie Überlebensdauer aufwiesen als Patienten mit einer Infiltration mit im Durchschnitt 14,6 Monaten (Abb.13). Zwischen der Perineuralscheideninfiltration durch das Karzinom und dem rezidivfreien Überleben der Patienten zeigte sich mit einem p-Wert von 0,03 eine statistische Relevanz.

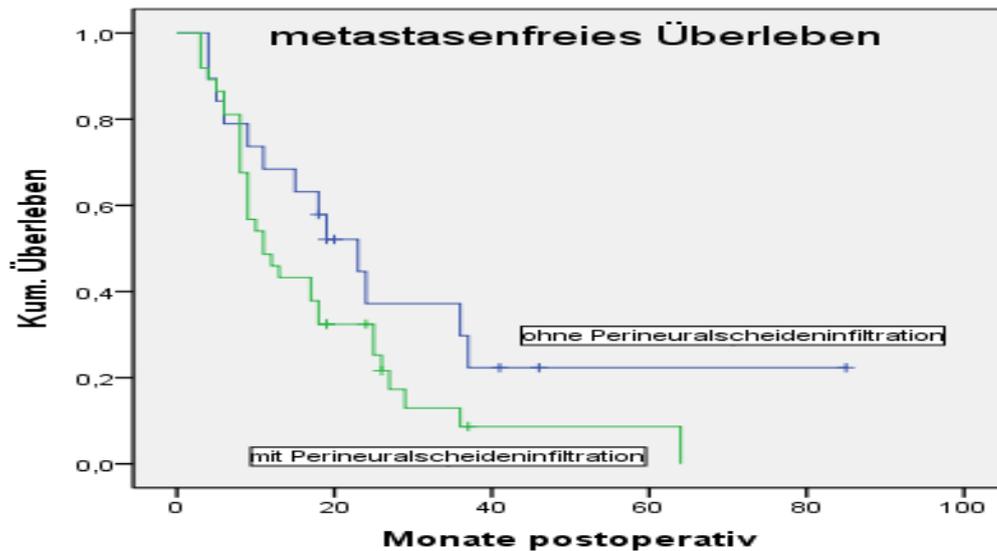


Abb.14

Das durchschnittliche metastasenfremie Überleben betrug bei Patienten ohne Perineuralscheideninfiltration 34,8 Monate, bei denen mit einer Infiltration 18,3 Monate (Abb. 14). Eine deutliche statistische Bedeutung in Bezug auf den Zusammenhang zwischen Perineuralscheideninfiltration und dem metastasenfremien Überleben konnte mit einem p-Wert von 0,05 nicht ermittelt werden.

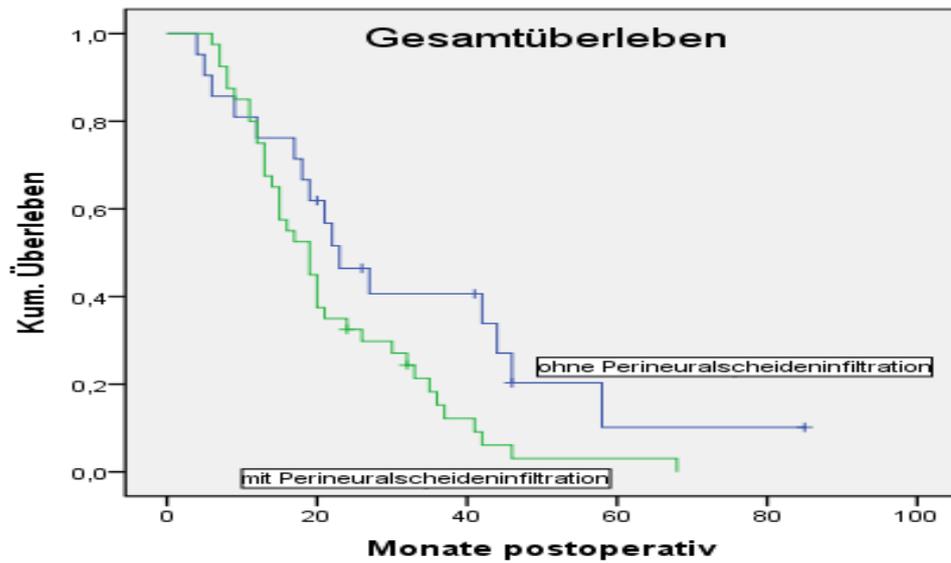


Abb. 15

In Bezug auf das Gesamtüberleben konnte bei der Gruppe der Patienten ohne eine Perineuralscheideninfiltration eine mittlere Dauer von 32,7 Monaten und der Gruppe mit einer Infiltration der Perineuralscheiden von 22,2 Monaten beobachtet werden (Abb. 15). Im Rahmen des statistischen Vergleichs beider Gruppen zeigte sich mit einem p-Wert von 0,04 eine statistische Signifikanz im Hinblick auf das Gesamtüberleben.

3.8. Einfluss der postoperativen Morbidität auf die Tumornachsorgeergebnisse/Prognose

Abschließend wurde der Zusammenhang zwischen der postoperativen Morbidität und dem rezidivfreien Überleben wie auch dem metastasenfreien Überleben untersucht.

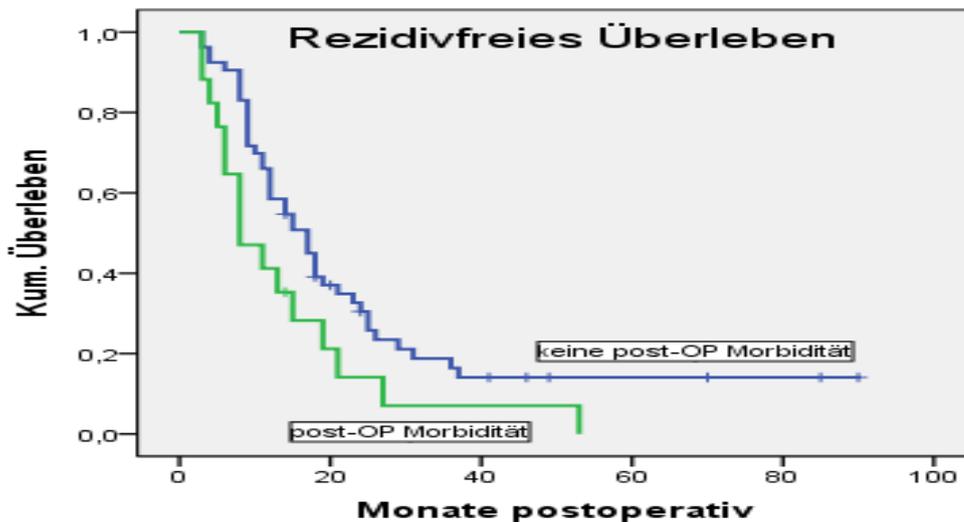


Abb. 17

Die rezidivfreie Überlebensdauer von Patienten mit einer postoperativen Morbidität zeigt Abb. 17. Diese verkürzte sich im Durchschnitt auf 14,2 Monate im Vergleich zu 23,0 Monaten bei Patienten ohne postoperative Morbidität. Die statistische Analyse ergab mit einem p-Wert von 0,084 keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem rezidivfreien Überleben und der postoperativen Morbidität.

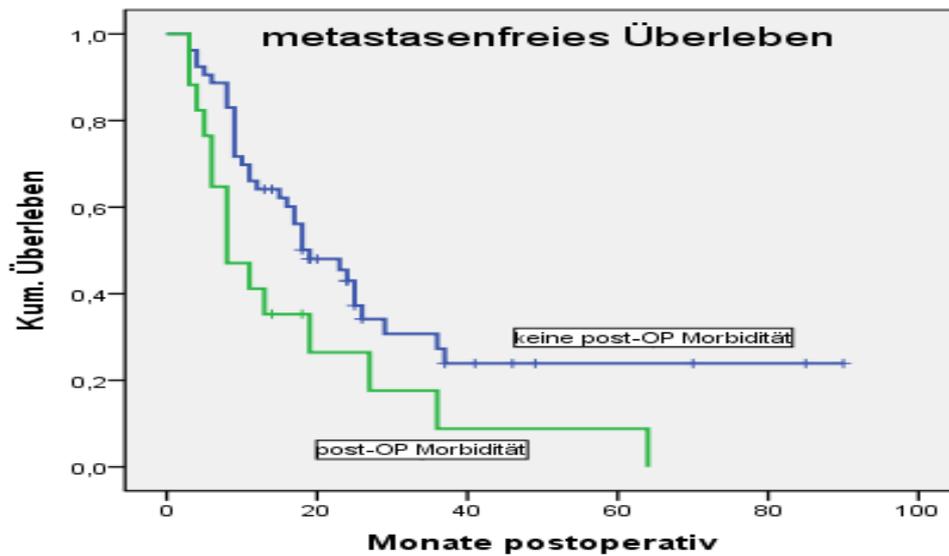


Abb.16

In den Ergebnissen zeigte sich, dass Patienten mit einer postoperativen Morbidität ein verkürztes metastasenfreies Überleben aufweisen. Im Durchschnitt waren dies 17,8 Monate versus 30,3 Monate bei Patienten ohne eine postoperative Morbidität (Abb.16). Im Vergleich beider Gruppen konnte mit einem p-Wert von 0,026 ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen postoperativer Morbidität und der metastasenfreien Überlebenszeit ermittelt werden.

4. Diskussion

Die vorliegende Arbeit soll ein Verständnis darüber vermitteln, ob ein invasives Wachstum des Pankreaskarzinoms in die lokalen Gefäße tatsächlich eine prognostisch schlechte Therapiebasis für den Patienten darstellt. Die Pankreasresektion bei Pfortader-/ Vena mesenterica superior- Infiltration ist zwar etabliert, wird aber aufgrund einer vermuteten systemischen Tumorzell-Dissemination kontrovers diskutiert. Wir wollten klären, ob eine Infiltration der lokalen Gefäße wirklich mit ungünstigen Tumor-Stadien und einer aggressiven Tumor-Biologie korreliert und bei den betroffenen Patienten in der Tat vermehrt disseminierte Tumor-Einzelzellen nachweisbar sind.

Als Grundlage diente uns die Erstellung einer Datenbank mit allen Patienten, die sich in den Jahren 2003 bis 2010 an der Uniklinik Düsseldorf einer Pankreasresektion mit kurativer Absicht unterzogen. Es entstand dabei ein Kollektiv von 108 Patienten, deren Lymphknoten und Knochenmark vor dem Hintergrund einer vorliegenden oder nicht vorliegenden Gefäßbeteiligung immunhistochemisch auf disseminierte Tumorzellen untersucht wurden. Ebenfalls vor dem Hintergrund einer Infiltration oder Nicht-Infiltration der Gefäße analysierten wir bei den Patienten des Kollektivs postoperative Verlaufsparemeter, um Aussagen über die Komplikationsrate, die Morbidität und die Mortalität im Zusammenhang mit dem Gefäßbefall treffen zu können.

Es ist umstritten, ob eine Infiltration der Portal- bzw. Mesenterialgefäße ein Marker für die Aggressivität des Pankreaskarzinoms ist oder durch die örtliche Nähe des Tumors zu den Gefäßen bedingt wird. In mehreren Arbeiten wird aufgegriffen, dass eine Infiltration der lokalen Gefäße mit einer erhöhten lymphogenen Streuung des Tumors einhergeht und die Infiltration damit als prognostisch ungünstiger Parameter zu bewerten ist (Elshaer et al., 2017; Ouaiissi et al., 2010).

Die Übersichtsarbeit von Siriwirdana et al., in der retrospektiv Daten von 1646 Pankreaskarzinompatienten, die sich einer Resektion der Portalvene bzw. der oberen Mesenterialvene unterzogen, untersucht wurden, publiziert ähnliche Ergebnisse. 67,4% als festgestellte Lymphknotenmetastasenrate werteten die Autoren als einen Marker für eine aggressive Tumorbilogie (Siriwardana and

Siriwardena, 2006) und sahen demzufolge die Pankreasresektion verbunden mit einer Gefäßresektion kritisch.

Da sich bereits einige Studien mit der Frage des Lymphknotenbefalls und der daraus resultierenden schlechten multivariablen Prognose für die Patienten beschäftigen, wollten wir mit dieser Arbeit einen anderen Aspekt beleuchten. Unsere Hauptintention war es, den Zusammenhang zwischen vorhandenen Mikrometastasen in den Lymphknoten sowie im Knochenmark und der Gefäßinfiltration herauszuarbeiten.

Bei einem Gefäßbefall durch den Tumor wird von einer verstärkten systematischen Dissemination ausgegangen. Diese disseminierten Tumor-Einzelzellen, auch Mikrometastasen genannt, sind immunhistochemisch nachweisbar (Went et al., 2004). Um eine spezifische tumorassoziierte Dissemination nachweisen zu können, entschieden wir uns, den gegen das epitheliale zelluläre Adhäsionsmolekül (EpCAM) gerichteten Antikörper BerEp4 zu verwenden (Gebauer et al., 2014).

Konsekutiv verglichen wir in unserem Kollektiv die Raten an immunhistochemisch nachgewiesenen Tumor-Einzelzellen in Lymphknoten und dem Knochenmark in Abhängigkeit von der Gefäßbeteiligung miteinander.

Gefäßinfiltration in Zusammenhang mit Mikrometastasen in Lymphknoten

Insgesamt untersuchten wir 2388 Lymphknoten auf Mikrometastasen. Die untersuchten Lymphknoten waren zuvor im Rahmen der konventionellen histopathologischen Untersuchung auf der Basis von HE-Schnitten als tumorfrei beurteilt worden. Bei 56% (n = 22) der gefäßresezierten Patienten und 46% (n = 32) der nicht gefäßresezierten Patienten konnten Mikrometastasen in den Lymphknoten nachgewiesen werden. Auf das gesamte Kollektiv bezogen lag der Anteil der Patienten mit Mikrometastasen in den zuvor als tumorfrei bewerteten Lymphknoten bei 50% (n = 54).

Beim Vergleich beider Gruppen miteinander war eine Korrelation zwischen der Präsenz von Mikrometastasen in den Lymphknoten und der Gefäßinfiltration

statistisch nicht nachweisbar (p-Wert 0,445). Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Befall von Gefäßen nicht gleichzeitig den Befall von Lymphknoten bedeutet und daher prognostisch gute Bedingungen bestehen, um eine Resektion des Pankreas in kurativer Absicht durchzuführen. Angeknüpft an unsere Arbeit könnten sicherlich weitere Studien mit größeren Fallzahlen durchgeführt werden.

Im Einklang mit anderen Studien wird jedoch deutlich, dass das Vorhandensein von Mikrometastasen in den Lymphknoten ein unabhängiger Prognosefaktor für einen schlechten Verlauf ist (Kurahara et al., 2007). Die Ergebnisse der Übersichtsarbeit von Choi et al. zeigen, dass Patienten mit Mikrometastasen in den Lymphknoten, die ebenfalls zuvor in der konventionellen histopathologischen Untersuchung als tumorfrei bewertet wurden, eine weitaus geringere mittlere Überlebenszeit wie auch eine kürzere mittlere rezidivfreie Überlebensdauer aufweisen als Patienten ohne Mikrometastasen. (Choi et al., 2017).

Unsere Untersuchung ergibt folgendes Bild: Das mittlere rezidivfreie Überleben der Patienten mit in den Lymphknoten nachgewiesenen Mikrometastasen liegt bei 16,6 Monaten im Vergleich zu 29,2 Monaten ohne Mikrometastasen. Mit einem p-Wert = 0,03 zeigte sich eine deutliche statistische Signifikanz hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Mikrometastasen und rezidivfreiem Überleben. Ähnlich verhält es sich mit der metastasenfremen Überlebenszeit (19,4 versus 41,5 Monate; p-Wert = 0,02) und der Gesamtüberlebenszeit (23,4 versus 36,6 Monate; p-Wert = 0,044). Die von uns vorgelegten Daten werfen die Frage auf, ob die konventionellen histopathologischen Untersuchungen in Form von HE-Schnitten wirklich ausreichend sind. Der weiter reichende immunhistochemische Nachweis von Mikrometastasen könnte das Therapieregime ändern.

Gefäßinfiltration in Zusammenhang mit Mikrometastasen im Knochenmark

Um die prognostische Relevanz von disseminierten Tumorzellen im Knochenmark zu ermitteln, wurden Knochenmarksaspirate von 49 Patienten verwendet. Die Aspirate wurden einer Fluoreszenzfärbung mit dem Panzytokeratin Antikörper, der die Subtypen CK8, CK18 und CK19 detektiert, unterzogen (Hoffmann et al., 2007; Ren et al., 2011). Bei 12 der insgesamt 49

Patienten (24%) konnten wir eine Dissemination von Mikrometastasen ins Knochenmark nachweisen. 3 Patienten wiesen dabei eine Infiltration der Gefäße auf (6%), 9 zeigten keine Gefäßbeteiligung (18%). Die hämatogene Streuung zählt zu den Prognosefaktoren für einen schlechten Krankheitsverlauf (Roder et al., 1999). Mit einem p-Wert = 0,070 konnte jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Befall von lokalen Gefäßen und der hämatogenen Streuung des Tumors festgestellt werden. Hierbei ist kritisch anzumerken, dass unser Kollektiv der knochenmarksuntersuchten Patienten nur eine kleine Fallzahl umfasst. Zur Erlangung belastbarer Daten vertreten wir daher die Ansicht, dass weitere Studien mit größeren Fallzahlen zu diesem Thema folgen sollten.

Zusammenhang zwischen klinisch-pathologischen Risikoparametern und der Gefäßresektion

Mit unserer Studie können auch wir bestätigen, dass der Befall von Lymphknoten ein eigenständiger wichtiger Parameter für die Vorhersage des weiteren Krankheitsverlaufes ist (Masuda et al., 2018). Sowohl der pN1 Status als auch disseminierte Tumorzellen verschlechtern die Prognose der Patienten infaust. Es ist jedoch zu beachten, dass eine bestimmte Anzahl von Lymphknoten detektiert und als tumorbefallen bewertet müssen. Hier zeigt sich in mehreren Arbeiten die Relevanz der Lymphknoten-Ratio (Valsangkar et al., 2013) und der Mindestanzahl der entnommenen Lymphknoten (Pu et al., 2021). Vor diesem Hintergrund haben wir zur Darstellung des Gesamtüberlebens wie auch des rezidiv- und metastasenfrien Überlebens in unserem Kollektiv nur die Patienten betrachtet, die nach dem Schema der radikalen Lymphadenektomie behandelt wurden. Im Vergleich zu 38,6 Monaten bei einem festgestellten pN0-Status verkürzte sich die Gesamtüberlebensdauer von Patienten bei einem pN1-Lymphknotenbefall auf 22,6 Monate (p-Wert = 0,03). Auch das metastasenfrie Überleben (pN0: 45,5 Monate versus pN1: 19,2 Monate; p-Wert = 0,01) und das rezidivfreie Überleben (pN0: 32,8 Monate versus pN1: 16,04 Monate; p-Wert = 0,02) waren beeinträchtigt. Bei der Korrelation von Gefäßinfiltration und Lymphknotenbefall konnten wir mit einem p-Wert = 0,664 jedoch keine

statistische Signifikanz feststellen. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangen Yekebas et al. in ihrer prospektiven Studie. In der Gruppe der untersuchten 585 Patienten, die in kurativer Absicht pankreatektomiert wurden, lag das mediane Überleben ohne Gefäßbeteiligung bei 15 und mit Gefäßbeteiligung bei 16 Monaten. Bei der zusätzlichen Stratifizierung der pN0-Patienten mit und ohne vaskuläre Invasion zeigte sich mit einem p-Wert = 0,12 keine statistische Signifikanz. Die multivariate Analyse des Kollektivs ergab jedoch, dass der pN1-Status und das G3-Grading die einzigen Prädiktoren für eine verringerte Überlebensdauer sind (Yekebas et al., 2008).

Als weiteren klinischen Parameter von prognostischer Bedeutung evaluierten wir die perineurale Invasion durch den Tumor (Chen et al., 2010). Diese zeigte sich im Rahmen der histopathologischen Untersuchung bei 58 Patienten (54%) unseres Patientenkollektivs. Auch bei unseren Patienten präsentierte die perineurale Infiltration seine hohe prognostische Relevanz. Die mittlere Überlebenszeit verkürzte sich von 32,7 Monaten ohne Befall auf 22,2 Monate bei festgestellter Invasion (p-Wert = 0,04). Analog dazu traten Rezidive und Metastasen nach einer kürzeren Zeitspanne auf. Für Rezidive waren es 14,6 versus 26,8 (p-Wert = 0,03) und für Metastasen 18,3 versus 34,8 (p-Wert = 0,05) Monate.

Ausgehend von der Möglichkeit, dass Patienten mit einer Gefäßbeteiligung zur Perineuralinfiltration als Ausdruck einer aggressiven Tumorbiologie neigen, korrelierten wir auch die perineurale Infiltration mit der Gefäßresektion. 24 der 58 Patienten mit perineuraler Invasion zeigten auch eine Beteiligung der Gefäße. Bei den verbleibenden 34 Patienten waren die Gefäße nicht infiltriert. Mit einem p-Wert = 0,437 konnten wir hier keine statistische Signifikanz und somit kein erhöhtes Aggressivitätsniveau der Tumorbiologie darstellen.

Unsere Ergebnisse decken sich mit der Arbeit von Nakao et al., die anhand von 129 Pankreaskarzinomfällen darstellten, dass sich bei einer Nervenplexusinvasion die Prognose deutlich verschlechterte und vermehrt auch die Lymphknoten wie auch die Portalvene infiltriert waren. Jedoch zeigte sich bei der Langzeitbeobachtung der Patienten in der Studie, dass alle die mehr als drei Jahre nach der Operation überlebten, keine Infiltration der extrapankreatischen

Nerven aufwiesen, auch wenn bei ihnen die Portalvene betroffen war (Nakao et al., 1996). Diese Ergebnisse lassen wiederum die These offen, ob ein invasives Wachstum des Tumors in die nervalen Strukturen auf eine aggressive Tumorbilogie hinweisen könnte.

Von den 91 Patienten mit R0-Status in unserem Kollektiv wiesen 32 eine vaskuläre Beteiligung des Tumors auf, innerhalb der verbleibenden 17 Patienten mit R1-Status waren es 7. Mit einem p-Wert = 0,437 konnten wir keine statistisch belastbare Korrelation zwischen dem Auffinden von mikroskopisch nachweisbarem Residualtumorgewebe und einer Gefäßbeteiligung ermitteln. Dies bekräftigt erneut unsere Hypothese, dass die Resektion tumorbefallender vaskulärer Strukturen dabei unterstützt, eine R0-Situation für den Patienten zu kreieren. Die Arbeitsgruppe von Raut et al. untersuchte bei 360 pankreasrezesierten Patienten die Bedeutung des R0-Status im Vergleich zum R1-Status und kam dabei zu ähnlichen Ergebnissen. Die Resultate zeigten zwar, dass eine venöse Resektion mit einer höheren Rate an R1-Resektionen verbunden ist, diese jedoch keinen Einfluss auf das mittlere Überleben und das Langzeitüberleben hat (Raut et al., 2007). In der Literatur ist jedoch die Bedeutung des R-Status noch nicht abschließend geklärt. Kato et al. konstatieren in ihrer Arbeit ebenfalls, dass der R1-Status im Vergleich zum R0-Status eine schlechtere Prognose für die Patienten bedeutet, jedoch keine eigenständige prognostische Variable für das kumulative Überleben ist. In der gleichen Arbeit zeigte sich jedoch auch, dass das Zusammenspiel aus R2-Status, Lymphknotenbefall und Beteiligung des extrapancreatischen Nervenplexus sowie des Portalvenensystems ein eigenständiger Prädiktor für eine schlechte Prognose ist (Kato et al., 2009).

Bereits mehrere Studien haben das Grading als einen eigenständigen prädiktiven Risikoparameter herausgearbeitet (Hartwig et al., 2011; Rochefort et al., 2013). Wasif et al. zeigten anhand der Daten von 8082 Patienten, dass gut und mäßig differenzierte (low-grade) Tumore eine deutlich bessere Prognose bzgl. der Überlebenszeit vorweisen können als schlecht differenzierte bis undifferenzierte (high-grade) Tumore (Wasif et al., 2010). Wir wollten in unserer Arbeit herausfinden, ob dieser Risikoparameter mit einer Gefäßbeteiligung des Tumors assoziiert ist. Von den 50 Patienten mit histopathologisch ermitteltem G2-Tumor

in unserer Patientengruppe wiesen 20 eine vaskuläre Infiltration durch den Tumor auf, innerhalb der übrigen 58 Patienten waren es 19. Die Korrelation von Gefäßbeteiligung und Grading ergab mit einem p-Wert = 0,736 keine statistische Signifikanz. Dies wiederum bestätigt unsere Hypothese, dass die Gefäßinfiltration keine per se schlechte Prognose für die Patienten bedeutet. Kritisch anzumerken ist jedoch, dass es sich bei den untersuchten Tumoren ausschließlich um G2- und G3-Tumore handelte, die anderen beiden Grade der Differenzierung (G1- und G4-Tumore) also nicht vertreten waren.

Entsprechend unseren Ergebnissen zeigen auch vorherige Studien, dass die venöse Resektion keinen Einfluss auf die Morbidität, Mortalität oder das Langzeitüberleben der Patienten hat. So zeigen die Ergebnisse von Fuhrmann et. al bei einem Kollektiv von 59 Patienten, dass die venöse Resektion zwar mit einer längeren Operationszeit, einem größeren Blutverlust und der konsekutiv höheren Anzahl an Transfusionen von Blutkonserven verbunden war, jedoch nicht mit einem längeren Krankenhausaufenthalt oder einer erhöhten perioperativen Morbidität wie auch Mortalität. In unserer Gruppe wiesen 40 Patienten (37%) Komplikationen in Form von Magenentleerungsstörungen, Pankreasfisteln, Blutungen oder Pneumonien auf. Von diesen insgesamt 40 Patienten mit perioperativen Komplikationen unterzogen sich 17 einer Gefäßresektion. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den von uns untersuchten perioperativen Komplikationen und der zuvor durchgeführten Gefäßresektion konnte mit einem p-Wert = 0,093 nicht festgestellt werden.

Vergleichbar mit der Arbeit von Fuhrmann et. al war auch unser Fazit, dass die histopathologischen Risikoparameter bei einer Gefäßbeteiligung nicht mit einer schlechteren Prognose assoziiert waren (Fuhrman et al., 1996). Die Tatsache, dass in unserer Studie keiner der untersuchten Risikoparameter (N-Stadium, M-Stadium, R-Stadium, Grading, Perineuralinfiltration) mit der Gefäßbeteiligung korrelierte, konnte dahingehend interpretiert werden, dass die Gefäßinfiltration weniger Folge einer besonders aggressiven Tumor-Biologie als vielmehr Ausdruck einer ungünstigen Tumor-Topographie ist.

Interessanterweise zeigte sich in unserem Kollektiv, dass das Auftreten von perioperativen Komplikationen ungünstig mit onkologischen

Langzeitergebnissen korreliert. Bei den betroffenen Patienten lag die mittlere Gesamtüberlebenszeit bei 20,7 Monaten im Vergleich zu 30 Monaten bei Patienten ohne perioperative Komplikationen (p-Wert = 0,049). Ähnliche Ergebnisse ergaben sich hinsichtlich des rezidivfreien Überlebens (13,2 versus 23,7 Monate; p-Wert = 0,035). Dieses Teilergebnis unserer Arbeit unterscheidet sich von aktuellen Arbeiten (Mischinger et al., 2018).

Zusammenfassend konnten wir mit unserer Studie zeigen, dass eine Gefäßresektion bei Patienten mit einem Adenokarzinom des Pankreas sicher durchführbar ist, ohne die Morbidität und Mortalität der Betroffenen signifikant zu erhöhen. Die klinischen Parameter wie der Lymphknotenstatus, der Resektionsstatus oder die perineurale Infiltration des Tumors korrelierten nicht mit dem Befall der Gefäße und deren Resektion. Die zusätzliche Untersuchung von disseminierten Tumorzellen in Lymphknoten und Aspiraten des Knochenmarks unterstreicht, dass es keinen eindeutigen Zusammenhang mit dem Befall von Gefäßen gibt. Es ist eher hervorzuheben, dass durch Mitresektion der Gefäße eine R0-Situation erreicht werden kann, die für die Prognose der Patienten von enormer Bedeutung ist (Wagner et al., 2004). Die Art der Rekonstruktion der Gefäße spielt dabei nur eine untergeordnete Rolle (Hackert et al., 2015).

Unsere Ergebnisse lassen uns schlussfolgern, dass der Befall von Gefäßen nicht gegen eine Operation spricht. Vielmehr ist die radikale Entfernung des Tumors die einzige Methode, um das Überleben des Patienten zu verlängern. Kritisch an der von uns vorgelegten Studie ist zu bewerten, dass sie retrospektiv angelegt ist.

5. Fazit

Hintergrund

Ziel der Arbeit war es, den Zusammenhang zwischen der vaskulären Infiltration des Pankreaskarzinoms und klinisch-pathologischen Parametern zu untersuchen. Es sollte analysiert werden, ob ein bereits stattgefundenes invasives Wachstum in die Gefäße durch die enge Topographie der Strukturen bedingt oder ein Marker für eine aggressive Tumorbiologie ist.

Methoden

Wir erstellten eine Datenbank mit 108 Patienten, die sich im Zeitraum von 2003 bis 2010 einer chirurgisch-onkologischen Therapie unterzogen. Dadurch konnten prä- und perioperative Daten evaluiert werden. Zusätzlich erhoben wir postoperative Daten mit einem mittleren Beobachtungszeitraum von 28 Monaten (Spanne: 5-90 Monate).

Um disseminierte Tumorzellen in den Lymphknoten nachweisen zu können, die im Rahmen der histologischen Routineuntersuchung nicht entdeckt wurden, benutzten wir den Antikörper BerEp4 gegen das epitheliale Adhäsionsmolekül EpCAM. Um die hämatogene Streuung des Tumors zu ermitteln, setzten wir die Fluoreszenzfärbung mit dem Panzytokeratin Antikörper ein, wodurch die epithelialen Zytokeratin-Subtypen CK8, CK18 und CK19 detektiert werden.

Ergebnisse

Von den insgesamt 108 Patienten des Kollektivs unterzogen sich aufgrund eines Befalls der Gefäße insgesamt 39 einer Gefäßresektion. Bei 69 Patienten lag keine Infiltration der Gefäße vor. Beide Gruppen, gefäßresezierte (GR) und nicht gefäßresezierte (NGR) Patienten korrelierten wir jeweils mit verschiedenen klinisch-pathologischen Parametern. 56% der GR-Gruppe (n = 22) und 46% der NGR-Gruppe (n = 32) wiesen disseminierte Tumorzellen in den Lymphknoten auf (p = 0,317). Disseminierte Tumorzellen im Knochenmark konnten bei 7% der GR-

Gruppe (n = 3) und 13% der NGR-Gruppe (n = 9) nachgewiesen werden (p = 0,467). In Bezug auf die Mortalität (GR: 2 Patienten versus NGR: 9 Patienten; p = 0,194), die Morbidität (GR: 17 Patienten versus NGR: 23 Patienten; p = 0,093) und den intensivstationären Aufenthalt (GR: 11 Patienten versus NGR: 19 Patienten; p = 0,986) konnte in der GR-Gruppe keine statistische Signifikanz gezeigt werden. Untersuchungen des Lymphknotenstatus nach einer radikalen Lymphadenektomie, des BerEP-Status der Lymphknoten und der perineuralen Infiltration zeigten hingegen eine statistische Signifikanz im Hinblick auf das rezidivfreie Überleben, das metastasenfremde Überleben und das Gesamtüberleben der Patienten.

Diskussion

Wie viele andere Arbeiten konnten auch wir mit unserer Arbeit zeigen, dass der Befall von Lymphknoten einer der prognostisch bedeutendsten Parameter ist. Unsere Ergebnisse demonstrieren jedoch im Gegensatz zu anderen Studien, dass die Infiltration von lokalen Gefäßen keineswegs mit der lymphogenen und hämatogenen Streuung des Tumors korreliert. Vielmehr erreicht man durch die Resektion von betroffenen Gefäßen eine R0-Situation, die für den Patienten von prognostischer Bedeutung ist.

6. Literaturverzeichnis

Adamska, A., Domenichini, A., Falasca, M., 2017. Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Current and Evolving Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 1338. <https://doi.org/10.3390/ijms18071338>

Aier, I., Semwal, R., Sharma, A., Varadwaj, P.K., 2019. A systematic assessment of statistics, risk factors, and underlying features involved in pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol.* 58, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2018.12.001>

Are, C., Dhir, M., Ravipati, L., 2011. History of pancreaticoduodenectomy: early misconceptions, initial milestones and the pioneers. *HPB* 13, 377–384. <https://doi.org/10.1111/j.1477-2574.2011.00305.x>

Bachellier, P., Nakano, H., Oussoultzoglou, P.D.E., Weber, J.-C., Boudjema, K., Wolf, P.D.P., Jaeck, D., 2001. Is pancreaticoduodenectomy with mesentericoportal venous resection safe and worthwhile? *Am. J. Surg.* 182, 120–129. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(01\)00686-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(01)00686-9)

Beger, H.G., Rau, B., Gansauge, F., Leder, G., Schwarz, M., Poch, B., 2008. Pancreatic Cancer – Low Survival Rates. *Dtsch. Ärztebl. Int.* 105, 255–262. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2008.0255>

Carrère, N., Sauvanet, A., Goere, D., Kianmanesh, R., Vullierme, M.-P., Couvelard, A., Ruszniewski, P., Belghiti, J., 2006. Pancreaticoduodenectomy with mesentericoportal vein resection for adenocarcinoma of the pancreatic head. *World J. Surg.* 30, 1526–1535. <https://doi.org/10.1007/s00268-005-0784-4>

Chen, J.W.C., Bhandari, M., Astill, D.S., Wilson, T.G., Kow, L., Brooke-Smith, M., Toouli, J., Padbury, R.T.A., 2010. Predicting patient survival after pancreaticoduodenectomy for malignancy: histopathological criteria

based on perineural infiltration and lymphovascular invasion. *HPB* 12, 101–108. <https://doi.org/10.1111/j.1477-2574.2009.00140.x>

Choi, S.B., Han, H.J., Park, P., Kim, W.B., Song, T.-J., Choi, S.Y., 2017. Systematic review of the clinical significance of lymph node micrometastases of pancreatic adenocarcinoma following surgical resection. *Pancreatology* 17, 342–349. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2017.03.008>

Conroy, T., Hammel, P., Hebbar, M., Ben Abdelghani, M., Wei, A.C., Raoul, J.-L., Choné, L., Francois, E., Artru, P., Biagi, J.J., Lecomte, T., Assenat, E., Faroux, R., Ychou, M., Volet, J., Sauvanet, A., Breysacher, G., Di Fiore, F., Cripps, C., Kavan, P., Texereau, P., Bouhier-Leporrier, K., Khemissa-Akouz, F., Legoux, J.-L., Juzyna, B., Gourgou, S., O’Callaghan, C.J., Jouffroy-Zeller, C., Rat, P., Malka, D., Castan, F., Bachet, J.-B., Canadian Cancer Trials Group and the Unicancer-GI-PRODIGE Group, 2018. FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *N. Engl. J. Med.* 379, 2395–2406. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1809775>

Cullen, J.J., Mitros, F.A., Oberley, L.W., 2003. Expression of antioxidant enzymes in diseases of the human pancreas: another link between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreas* 26, 23–27. <https://doi.org/10.1097/00006676-200301000-00005>

Elshaer, M., Gravante, G., Kosmin, M., Riaz, A., Al-Bahrani, A., 2017. A systematic review of the prognostic value of lymph node ratio, number of positive nodes and total nodes examined in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* 99, 101–106. <https://doi.org/10.1308/rcsann.2016.0340>

Fong, D., Steurer, M., Obrist, P., Barbieri, V., Margreiter, R., Amberger, A., Laimer, K., Gastl, G., Tzankov, A., Spizzo, G., 2008. Ep-CAM expression in pancreatic and ampullary carcinomas: frequency and prognostic

relevance. *J. Clin. Pathol.* 61, 31–35.
<https://doi.org/10.1136/jcp.2006.037333>

Fuhrman, G.M., Leach, S.D., Staley, C.A., Cusack, J.C., Charnsangavej, C., Cleary, K.R., El-Naggar, A.K., Fenoglio, C.J., Lee, J.E., Evans, D.B., 1996. Rationale for en bloc vein resection in the treatment of pancreatic adenocarcinoma adherent to the superior mesenteric-portal vein confluence. Pancreatic Tumor Study Group. *Ann. Surg.* 223, 154–162.

Gebauer, F., Struck, L., Tachezy, M., Vashist, Y., Wicklein, D., Schumacher, U., Izbicki, J.R., Bockhorn, M., 2014. Serum EpCAM Expression in Pancreatic Cancer. *Anticancer Res.* 34, 4741–4746.

Giovinazzo, F., Turri, G., Katz, M.H., Heaton, N., Ahmed, I., 2016. Meta-analysis of benefits of portal–superior mesenteric vein resection in pancreatic resection for ductal adenocarcinoma. *Br. J. Surg.* 103, 179–191.
<https://doi.org/10.1002/bjs.9969>

Grant, T.J., Hua, K., Singh, A., 2016. Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 144, 241–275.
<https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2016.09.008>

Grossberg, A.J., Chu, L.C., Deig, C.R., Fishman, E.K., Hwang, W.L., Maitra, A., Marks, D.L., Mehta, A., Nabavizadeh, N., Simeone, D.M., Weekes, C.D., Thomas Jr, C.R., 2020. Multidisciplinary standards of care and recent progress in pancreatic ductal adenocarcinoma. *CA. Cancer J. Clin.* 70, 375–403. <https://doi.org/10.3322/caac.21626>

Gutzmer, R., Li, W., Sutterwala, S., Lemos, M.P., Elizalde, J.I., Urtishak, S.L., Behrens, E.M., Rivers, P.M., Schlienger, K., Laufer, T.M., Eck, S.L., Marks, M.S., 2004. A Tumor-Associated Glycoprotein That Blocks MHC Class II-Dependent Antigen Presentation by Dendritic Cells. *J. Immunol.*

173, 1023–1032. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.2.1023>

Hackert, T., Schneider, L., Büchler, M.W., 2015. Current State of Vascular Resections in Pancreatic Cancer Surgery. *Gastroenterol. Res. Pract.* 2015, 120207. <https://doi.org/10.1155/2015/120207>

Hank, T., Sandini, M., Qadan, M., Weniger, M., Ciprani, D., Li, A., Ferrone, C.R., Warshaw, A.L., Lillemoe, K.D., Fernández-Del Castillo, C., 2020. Diabetes mellitus is associated with unfavorable pathologic features, increased postoperative mortality, and worse long-term survival in resected pancreatic cancer. *Pancreatol. Off. J. Int. Assoc. Pancreatol. IAP AI* 20, 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2019.10.007>

Hartwig, W., Hackert, T., Hinz, U., Gluth, A., Bergmann, F., Strobel, O., Büchler, M.W., Werner, J., 2011. Pancreatic Cancer Surgery in the New Millennium: Better Prediction of Outcome. *Ann. Surg.* 254, 311. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31821fd334>

Hoffmann, K., Kerner, C., Wilfert, W., Mueller, M., Thiery, J., Hauss, J., Witzigmann, H., 2007. Detection of disseminated pancreatic cells by amplification of cytokeratin-19 with quantitative RT-PCR in blood, bone marrow and peritoneal lavage of pancreatic carcinoma patients. *World J. Gastroenterol.* 13, 257–263. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i2.257>

Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H., 1981. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.* 29, 577–580. <https://doi.org/10.1177/29.4.6166661>

Hüttner, F.J., Fitzmaurice, C., Schwarzer, G., Seiler, C.M., Antes, G., Büchler, M.W., Diener, M.K., 2016. Pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (pp Whipple) versus pancreaticoduodenectomy

(classic Whipple) for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016, CD006053. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006053.pub6>

Ilic, M., Ilic, I., 2016. Epidemiology of pancreatic cancer. *World J. Gastroenterol.* 22, 9694–9705. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i44.9694>

Jain, S., Sharma, G.S., Kaushik, M., Upadhyayula, R.S., 2020. Venous resection for adenocarcinoma of head of pancreas: Does extent of portal vein resection affect outcomes? *The Surgeon* 18, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.surge.2019.07.004>

Kaneoka, Y., Yamaguchi, A., Isogai, M., 2009. Portal or superior mesenteric vein resection for pancreatic head adenocarcinoma: Prognostic value of the length of venous resection. *Surgery* 145, 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2008.12.009>

Kato, K., Yamada, S., Sugimoto, H., Kanazumi, N., Nomoto, S., Takeda, S., Kodera, Y., Morita, S., Nakao, A., 2009. Prognostic factors for survival after extended pancreatectomy for pancreatic head cancer: influence of resection margin status on survival. *Pancreas* 38, 605–612. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e3181a4891d>

Kim, D.-S., Scherer, P.E., 2021. Obesity, Diabetes, and Increased Cancer Progression. *Diabetes Metab. J.* 45, 799–812. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0077>

Klaiber, U., Probst, P., Büchler, M.W., Hackert, T., 2017. Pylorus preservation pancreatectomy or not. *Transl. Gastroenterol. Hepatol.* 2, 100. <https://doi.org/10.21037/tgh.2017.11.15>

Koch-Institut, R., 2021. Krebs in Deutschland für 2017/2018. GEMEINSAME Publ. Zent. FÜR KREBSREGISTERDATEN Ges.

Epidemiol. KREBSREGISTER Dtschl. EV.

Krausch, M., Raffel, A., Anlauf, M., Schott, M., Willenberg, H., Lehwald, N., Hafner, D., Cupisti, K., Eisenberger, C.F., Knoefel, W.T., 2011. Loss of PTEN Expression in Neuroendocrine Pancreatic Tumors. *Horm. Metab. Res.* 43, 865–871. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1291333>

Kurahara, H., Takao, S., Maemura, K., Shinci, H., Natsugoe, S., Aikou, T., 2007. Impact of lymph node micrometastasis in patients with pancreatic head cancer. *World J. Surg.* 31, 483–490; discussion 491-492. <https://doi.org/10.1007/s00268-006-0463-0>

Lang, J., Kunovský, L., Kala, Z., Trna, J., 2021. Risk factors of pancreatic cancer and their possible uses in diagnostics. *Neoplasma* 68, 227–239. https://doi.org/10.4149/neo_2020_200706N699

Liao, K., Wang, H., Chen, Q., Wu, Z., Zhang, L., 2014. Prosthetic graft for superior mesenteric-portal vein reconstruction in pancreaticoduodenectomy: a retrospective, multicenter study. *J. Gastrointest. Surg. Off. J. Soc. Surg. Aliment. Tract* 18, 1452–1461. <https://doi.org/10.1007/s11605-014-2549-6>

Massucco, P., Ribero, D., Sgotto, E., Mellano, A., Muratore, A., Capussotti, L., 2009. Prognostic Significance of Lymph Node Metastases in Pancreatic Head Cancer Treated with Extended Lymphadenectomy: Not Just a Matter of Numbers. *Ann. Surg. Oncol.* 16, 3323–3332. <https://doi.org/10.1245/s10434-009-0672-5>

Masuda, T., Dann, A.M., Elliott, I.A., Baba, H., Kim, S., Sedarat, A., Muthusamy, V.R., Girgis, M.D., Joe Hines, O., Reber, H.A., Donahue, T.R., 2018. A Comprehensive Assessment of Accurate Lymph Node Staging and Preoperative Detection in Resected Pancreatic Cancer. *J. Gastrointest. Surg.* 22, 295–302. <https://doi.org/10.1007/s11605-017-3607-7>

Mischinger, H.-J., Werkgartner, G., Kornprat, P., Marsoner, K., Wagner, D., Cerwenka, H., Bacher, H., 2018. Komplikationen in der Pankreaschirurgie. *Wien. Klin. Mag.* 21, 98–107. <https://doi.org/10.1007/s00740-018-0226-1>

Murakami, Y., Satoi, S., Motoi, F., Sho, M., Kawai, M., Matsumoto, I., Honda, G., Multicentre Study Group of Pancreatobiliary Surgery (MSG-PBS), 2015. Portal or superior mesenteric vein resection in pancreatoduodenectomy for pancreatic head carcinoma. *Br. J. Surg.* 102, 837–846. <https://doi.org/10.1002/bjs.9799>

Nakao, A., Harada, A., Nonami, T., Kaneko, T., Takagi, H., 1996. Clinical Significance of Carcinoma Invasion of the Extrapancreatic Nerve Plexus in Pancreatic Cancer. *Pancreas* 12, 357–361.

Navez, J., Bouchart, C., Lorenzo, D., Bali, M.A., Closset, J., van Laethem, J.-L., 2021. What Should Guide the Performance of Venous Resection During Pancreaticoduodenectomy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma with Venous Contact? *Ann. Surg. Oncol.* 28, 6211–6222. <https://doi.org/10.1245/s10434-020-09568-2>

Neoptolemos, J.P., Palmer, D.H., Ghaneh, P., Psarelli, E.E., Valle, J.W., Halloran, C.M., Faluyi, O., O'Reilly, D.A., Cunningham, D., Wadsley, J., Darby, S., Meyer, T., Gillmore, R., Anthony, A., Lind, P., Glimelius, B., Falk, S., Izbicki, J.R., Middleton, G.W., Cummins, S., Ross, P.J., Wasan, H., McDonald, A., Crosby, T., Ma, Y.T., Patel, K., Sherriff, D., Soomal, R., Borg, D., Sothi, S., Hammel, P., Hackert, T., Jackson, R., Büchler, M.W., 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. *The Lancet* 389, 1011–1024. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32409-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32409-6)

Neoptolemos, J.P., Stocken, D.D., Bassi, C., Ghaneh, P., Cunningham, D.,

Goldstein, D., Padbury, R., Moore, M.J., Gallinger, S., Mariette, C., Wentz, M.N., Izbicki, J.R., Friess, H., Lerch, M.M., Dervenis, C., Oláh, A., Butturini, G., Doi, R., Lind, P.A., Smith, D., Valle, J.W., Palmer, D.H., Buckels, J.A., Thompson, J., McKay, C.J., Rawcliffe, C.L., Büchler, M.W., European Study Group for Pancreatic Cancer, 2010. Adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid vs gemcitabine following pancreatic cancer resection: a randomized controlled trial. *JAMA* 304, 1073–1081. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1275>

Oettle, H., Neuhaus, P., 2007. Adjuvant Therapy in Pancreatic Cancer. *Drugs* 67, 2293–2310. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767160-00001>

Oettle, H., Neuhaus, P., Hochhaus, A., Hartmann, J.T., Gellert, K., Ridwelski, K., Niedergethmann, M., Zülke, C., Fahlke, J., Arning, M.B., Sinn, M., Hinke, A., Riess, H., 2013. Adjuvant Chemotherapy With Gemcitabine and Long-term Outcomes Among Patients With Resected Pancreatic Cancer: The CONKO-001 Randomized Trial. *JAMA* 310, 1473–1481. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.279201>

Orci, L.A., Meyer, J., Combescure, C., Bühler, L., Berney, T., Morel, P., Toso, C., 2015. A meta-analysis of extended versus standard lymphadenectomy in patients undergoing pancreatoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *HPB* 17, 565–572. <https://doi.org/10.1111/hpb.12407>

Ouaissi, M., Hubert, C., Verhelst, R., Astarci, P., Sempoux, C., Jouret-Mourin, A., Loundou, A., Gigot, J.-F., The Multidisciplinary HPB Group of Center of Cancer, 2010. Vascular Reconstruction During Pancreatoduodenectomy for Ductal Adenocarcinoma of the Pancreas Improves Resectability but does not Achieve Cure. *World J. Surg.* 34, 2648–2661. <https://doi.org/10.1007/s00268-010-0699-6>

Primavesi, F., Stättner, S., Schlick, K., Kiesslich, T., Mayr, C., Klieser, E., Urbas, R., Neureiter, D., 2019. Pancreatic cancer in young adults: changes, challenges, and solutions. *OncoTargets Ther.* 12, 3387–3400. <https://doi.org/10.2147/OTT.S176700>

Pu, N., Gao, S., Beckman, R., Ding, D., Wright, M., Chen, Z., Zhu, Y., Hu, H., Yin, L., Beckman, M., Thompson, E., Hruban, R.H., Cameron, J.L., Gage, M.M., Lafaro, K.J., Burns, W.R., Wolfgang, C.L., He, J., Yu, J., Burkhart, R.A., 2021. Defining a minimum number of examined lymph nodes improves the prognostic value of lymphadenectomy in pancreas ductal adenocarcinoma. *HPB* 23, 575–586. <https://doi.org/10.1016/j.hpb.2020.08.016>

Raut, C.P., Tseng, J.F., Sun, C.C., Wang, H., Wolff, R.A., Crane, C.H., Hwang, R., Vauthey, J.-N., Abdalla, E.K., Lee, J.E., Pisters, P.W.T., Evans, D.B., 2007. Impact of resection status on pattern of failure and survival after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Ann. Surg.* 246, 52–60. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000259391.84304.2b>

Remmele, W., Stegner, H.E., 1987. [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathol.* 8, 138–140.

Ren, C., Han, C., Zhang, J., He, P., Wang, D., Wang, B., Zhao, P., Zhao, X., 2011. Detection of apoptotic circulating tumor cells in advanced pancreatic cancer following 5-fluorouracil chemotherapy. *Cancer Biol. Ther.* 12, 700–706. <https://doi.org/10.4161/cbt.12.8.15960>

Rochefort, M.M., Ankeny, J.S., Kadera, B.E., Donald, G.W., Isacoff, W., Wainberg, Z.A., Hines, O.J., Donahue, T.R., Reber, H.A., Tomlinson, J.S., 2013. Impact of Tumor Grade on Pancreatic Cancer Prognosis: Validation of a Novel TNMG Staging System. *Ann. Surg. Oncol.* 20, 4322–4329.

<https://doi.org/10.1245/s10434-013-3159-3>

Roder, J.D., Thorban, S., Pantel, K., Siewert, J.R., 1999. Micrometastases in bone marrow: prognostic indicators for pancreatic cancer. *World J. Surg.* 23, 888–891. <https://doi.org/10.1007/s002689900594>

Sakamoto, Y., Yamamoto, J., Saiura, A., Koga, R., Kokudo, N., Kosuge, T., Yamaguchi, T., Muto, T., Makuuchi, M., 2004. Reconstruction of hepatic or portal veins by use of newly customized great saphenous vein grafts. *Langenbecks Arch. Surg.* 389, 110–113. <https://doi.org/10.1007/s00423-003-0452-9>

Siriwardana, H.P.P., Siriwardena, A.K., 2006. Systematic review of outcome of synchronous portal–superior mesenteric vein resection during pancreatectomy for cancer. *Br. J. Surg.* 93, 662–673. <https://doi.org/10.1002/bjs.5368>

Slebos, R.J.C., Hoppin, J.A., Tolbert, P.E., Holly, E.A., Brock, J.W., Zhang, R.H., Bracci, P.M., Foley, J., Stockton, P., McGregor, L.M., Flake, G.P., Taylor, J.A., 2000. K-ras and p53 in Pancreatic Cancer: Association with Medical History, Histopathology, and Environmental Exposures in a Population-based Study. *Cancer Epidemiol. Prev. Biomark.* 9, 1223–1232.

Sohal, D.P.S., Mangu, P.B., Khorana, A.A., Shah, M.A., Philip, P.A., O'Reilly, E.M., Uronis, H.E., Ramanathan, R.K., Crane, C.H., Engebretson, A., Ruggiero, J.T., Copur, M.S., Lau, M., Urba, S., Laheru, D., 2016. Metastatic Pancreatic Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Oncol.* 34, 2784–2796. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.67.1412>

Song, W., Yang, Q., Chen, L., Sun, Q., Zhou, D., Ye, S., Hu, Z., Wu, L., Feng, L., Zheng, S., Wang, W., 2017. Pancreatoduodenectomy combined

with portal-superior mesenteric vein resection and reconstruction with interposition grafts for cancer: a meta-analysis. *Oncotarget* 8, 81520–81528. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20866>

Spizzo, G., Fong, D., Wurm, M., Ensinger, C., Obrist, P., Hofer, C., Mazzoleni, G., Gastl, G., Went, P., 2011. EpCAM expression in primary tumour tissues and metastases: an immunohistochemical analysis. *J. Clin. Pathol.* 64, 415–420. <https://doi.org/10.1136/jcp.2011.090274>

Stauffer, J.A., Dougherty, M.K., Kim, G.P., Nguyen, J.H., 2009. Interposition graft with polytetrafluoroethylene for mesenteric and portal vein reconstruction after pancreaticoduodenectomy. *Br. J. Surg.* 96, 247–252. <https://doi.org/10.1002/bjs.6483>

Stoecklein, N.H., Siegmund, A., Scheunemann, P., Luebke, A.M., Erbersdobler, A., Verde, P.E., Eisenberger, C.F., Peiper, M., Rehders, A., Esch, J.S. am, Knoefel, W.T., Hosch, S.B., 2006. Ep-CAM expression in squamous cell carcinoma of the esophagus: a potential therapeutic target and prognostic marker. *BMC Cancer* 6, 165. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-6-165>

Suker, M., Beumer, B.R., Sadot, E., Marthey, L., Faris, J.E., Mellon, E.A., El-Rayes, B., Wang-Gillam, A., Lacy, J., Hosein, P.J., Moorcraft, S.Y., Conroy, T., Hohla, F., Allen, P., Taieb, J., Hong, T.S., Shridhar, R., Chau, I., van Eijck, C.H., Koerkamp, B.G., 2016. A patient-level meta-analysis of FOLFIRINOX for locally advanced pancreatic cancer. *Lancet Oncol.* 17, 801–810. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)00172-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)00172-8)

Takaori, K., Bassi, C., Biankin, A., Brunner, T.B., Cataldo, I., Campbell, F., Cunningham, D., Falconi, M., Frampton, A.E., Furuse, J., Giovannini, M., Jackson, R., Nakamura, A., Nealon, W., Neoptolemos, J.P., Real, F.X., Scarpa, A., Sclafani, F., Windsor, J.A., Yamaguchi, K., Wolfgang, C.,

Johnson, C.D., 2016. International Association of Pancreatology (IAP)/European Pancreatic Club (EPC) consensus review of guidelines for the treatment of pancreatic cancer. *Pancreatology* 16, 14–27. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2015.10.013>

Tandon, A.K., Clark, G.M., Chamness, G.C., McGuire, W.L., 1990. Association of the 323/A3 surface glycoprotein with tumor characteristics and behavior in human breast cancer. *Cancer Res.* 50, 3317–3321.

Terasaki, F., Fukami, Y., Maeda, A., Takayama, Y., Takahashi, T., Uji, M., Kaneoka, Y., 2019. Comparison of end-to-end anastomosis and interposition graft during pancreatoduodenectomy with portal vein reconstruction for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Langenbecks Arch. Surg.* 404, 191–201. <https://doi.org/10.1007/s00423-019-01749-2>

Tran, K.T.C., Smeenk, H.G., van Eijck, C.H.J., Kazemier, G., Hop, W.C., Greve, J.W.G., Terpstra, O.T., Zijlstra, J.A., Klinkert, P., Jeekel, H., 2004. Pylorus preserving pancreaticoduodenectomy versus standard Whipple procedure: a prospective, randomized, multicenter analysis of 170 patients with pancreatic and periampullary tumors. *Ann. Surg.* 240, 738–745. <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000143248.71964.29>

Valsangkar, N.P., Bush, D.M., Michaelson, J.S., Ferrone, C.R., Wargo, J.A., Lillemoe, K.D., Fernández-del Castillo, C., Warshaw, A.L., Thayer, S.P., 2013. N0/N1, PNL, or LNR? The effect of lymph node number on accurate survival prediction in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J. Gastrointest. Surg. Off. J. Soc. Surg. Aliment. Tract* 17, 257–266. <https://doi.org/10.1007/s11605-012-1974-7>

Vanella, G., Archibugi, L., Stigliano, S., Capurso, G., 2019. Alcohol and gastrointestinal cancers. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 35, 107–113. <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000502>

Wagner, M., Redaelli, C., Lietz, M., Seiler, C.A., Friess, H., Büchler, M.W., 2004. Curative resection is the single most important factor determining outcome in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Br. J. Surg.* 91, 586–594. <https://doi.org/10.1002/bjs.4484>

Wang, X., Demir, I.E., Schorn, S., Jäger, C., Scheufele, F., Friess, H., Ceyhan, G.O., 2019. Venous resection during pancreatotomy for pancreatic cancer: a systematic review. *Transl. Gastroenterol. Hepatol.* 4, 46. <https://doi.org/10.21037/tgh.2019.06.01>

Wasif, N., Ko, C.Y., Farrell, J., Wainberg, Z., Hines, O.J., Reber, H., Tomlinson, J.S., 2010. Impact of Tumor Grade on Prognosis in Pancreatic Cancer: Should We Include Grade in AJCC Staging? *Ann. Surg. Oncol.* 17, 2312–2320. <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1071-7>

Went, P.T., Lugli, A., Meier, S., Bundi, M., Mirlacher, M., Sauter, G., Dirnhofer, S., 2004. Frequent EpCam protein expression in human carcinomas. *Hum. Pathol.* 35, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2003.08.026>

Wittekind, C., 2019. TNM Klassifikation maligner Tumoren: Korrigierter Nachdruck 2020 mit allen Ergänzungen der UICC aus den Jahren 2017 bis 2019. John Wiley & Sons.

Yekebas, E.F., Bogoevski, D., Cataldegirmen, G., Kunze, C., Marx, A., Vashist, Y.K., Schurr, P.G., Liebl, L., Thielges, S., Gawad, K.A., Schneider, C., Izbicki, J.R., 2008. En Bloc Vascular Resection for Locally Advanced Pancreatic Malignancies Infiltrating Major Blood Vessels: Perioperative Outcome and Long-term Survival in 136 Patients. *Ann. Surg.* 247, 300. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31815aab22>

Yu, X.Z., Li, J., Fu, D.L., Di, Y., Yang, F., Hao, S.J., Jin, C., 2014. Benefit

from synchronous portal-superior mesenteric vein resection during pancreaticoduodenectomy for cancer: A meta-analysis. *Eur. J. Surg. Oncol.* 40, 371–378. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2014.01.010>

Zhou, Y., Zhang, Z., Liu, Y., Li, B., Xu, D., 2012. Pancreatectomy Combined with Superior Mesenteric Vein–Portal Vein Resection for Pancreatic Cancer: A Meta-analysis. *World J. Surg.* 36, 884–891. <https://doi.org/10.1007/s00268-012-1461-z>

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich von ganzem Herzen bei allen Menschen bedanken, die mich über die gesamte Zeit meiner Promotion hinweg fachlich und mental unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Univ.- Prof. Dr. med. W.T. Knoefel für die Möglichkeit, an seinem Institut ein Teil dieser Arbeit sein zu dürfen sowie für die Bereitstellung der wissenschaftlichen Mittel und das Team im Labor.

Herrn Prof. Dr. med. A. Rehders für die Bereitstellung der Thematik, für die fachlich und menschlich stets unkomplizierte Unterstützung sowie die hilfreichen Korrekturen.

Herrn Univ.- Prof. Dr. med. N. Stoecklein und seinem Team für die fachlich wertvolle und stets freundliche Unterstützung im Labor.

Meinen Mitdotorandinnen Frau Elham Tabibi und Frau Vivien Psyrras-Pappas für die fachlich und mental wertvolle Unterstützung. Wir hatten wirkliche eine schöne Zeit am UKD.

Meiner Mutter Fatma Güray, meiner Schwester Sibel Güray und meinem Vater Mehmet Güray, der leider die Vollendung der Arbeit nicht mehr erleben durfte. Ich danke euch von ganzem Herzen für die fortlaufende Unterstützung schon während meines Studiums und darüber hinaus bis hin zur Dissertation. Ihr seid ein Teil dieser Arbeit.

Meinem Ehemann Mehmet Karatza für seinen liebevollen Beistand und ihren Glauben an mich sowie **meiner Tochter Asya Karatza**, für die ich schlussendlich diese Arbeit fertiggestellt habe, um jede freie Minute meines Lebens mit ihr verbringen zu können.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides Statt, dass die Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf sowie der Richtlinien der Medizinischen Fakultät zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis erstellt worden ist. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Inhalte wurden als solche kenntlich gemacht. Ich bin mir darüber klar, dass der Bruch der obigen eidesstattlichen Versicherung in jedem Fall zum Nichtbestehen der betreffenden Promotionsleistung führt und die weitere Folge hat, dass die Fakultät über die Entziehung des Doktorgrades entscheidet (§16 Promotionsordnung). Die strafrechtlichen Konsequenzen einer falschen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt (§156 StGB). Des Weiteren kann gemäß §63 Absatz 5 HG eine Zuwiderhandlung mit einer Geldbuße geahndet werden.

Datum, Vor- und Nachname

Unterschrift