

Aus dem  
CharitéCentrum für Chirurgische Medizin  
Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Thoraxchirurgie  
Direktor: Prof. Dr. med. Joachim Michael Müller

**Habilitationsschrift**

**Tierexperimentelle Untersuchungen zur Beeinflussung von  
Wachstum und Metastasierung des Pankreaskarzinoms**

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Maik Kilian MBA

Eingereicht: Dezember 2010

Dekanin: Frau Prof. Dr. Annette Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. Alfred Königsrainer, Tübingen

2. Gutachter: Frau Prof. Dr. Christiane Bruns, München

## Inhaltsverzeichnis

Titelblatt	1
Inhaltsverzeichnis	2
Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einleitung	7
2. Ergebnisse	12
2.1. Einfluss von konjugierter und konventioneller Linolsäure auf das Wachstum des Pankreaskarzinoms und die pankreatische Lipidperoxidation	12
2.2. Einfluss von konjugierter und konventioneller Linolsäure auf die Lebermetastasierung und die hepatische Lipidperoxidation	19
2.3. Effekte der Staging-Laparoskopie mit Octreotid- oder Taurolidin-Spülung auf das Primärtumorwachstum und die pankreatische Lipidperoxidation	26
2.4. Effekte der Staging-Laparoskopie mit Octreotid- oder Taurolidin-Spülung auf die Lebermetastasierung und die hepatische Lipidperoxidation	34
2.5. Einfluss der Somatostatinanaloga Octreotid und SOM230 auf die Lebermetastasierung und die hepatische Lipidperoxidation	43
2.6. Einfluss des Matrixmetalloproteinase-Inhibitors RO 28-2653 auf die Lebermetastasierung und die hepatischen Konzentrationen von MMP-2 und MMP-9	53

3. Diskussion	60
4. Zusammenfassung	75
5. Literaturangaben	78
Danksagung	93
Erklärung	94

## Abkürzungsverzeichnis

4-HNE	4-Hydroxynonenal
AA	Arachidonsäure (arachidonic acid)
Akt	Gene der Proteinkinasen B
ALA	$\alpha$ -Linolensäure (alpha-linolenic acid)
BDNF	Brain Derived Neurotrophic Factor
BOP	N-Nitrosobis-(2-oxopropyl)-amin
CA19-9	Carbohydrat-Antigen 19-9
CD	Cluster of Differentiation
CLA	konjugierte Linolsäure (conjugated linoleic acid)
COX	Cyclooxygenase
COX-2	Cyclooxygenase 2
CSC	Krebsstammzelle(n) (cancer stem cell[s])
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
DHA	Dokosahexaensäure (docosahexaenoic acid)
EMMPRIN	Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer
EMT	epithelial-mesenchymale Transition
EPA	Eikosapentaensäure (eicosapentaenoic acid)
ERCP	Endoskopisch-retrograde Cholangiopankreatikographie
ERK	Extracellular Signal-regulated Kinase
FAK	Focal Adhesion Kinase
$\gamma$ -LnA	$\gamma$ -Linolensäure ( $\gamma$ -linolenic acid)

GDNF	Glial-cell Derived Neurotrophic Factor
GSH-Px	Glutathionperoxidase
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HIF-1	Hypoxia-inducible Factor 1
K-ras	(Kirsten-) Rat sarcoma Protoonkogen
LA	Linolsäure (linoleic acid)
LOX	Lipoxygenase
LPO	Lipidperoxidation
MAP	Mitogen Activated Protein (Kinase)
MDA	Malondialdehyd
MMP	Matrixmetalloproteinase(n)
MMPI	Matrixmetalloproteinaseinhibitor(en)
MMP-2	Matrixmetalloproteinase 2 (Gelatinase A)
MMP-9	Matrixmetalloproteinase 9 (Gelatinase B)
MRCP	Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie
mTOR	mammalian Target of Rapamycin
NFκB	Nuclear Factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NGF	Nerve Growth Factor
NT-3	Neurotrophin 3
PanIN	pankreatische intraepitheliale Neoplasie
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E 2
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinasen

PLA <sub>2</sub>	Phospholipase A 2
PET-CT	Positronenemissions-Computertomographie
PPAR	Peroxisom-Proliferator aktivierte Rezeptoren
PSC	Pankreassternzelle(n) (pancreatic stellate cell[s])
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäure(n) (polyunsaturated fatty acid[s])
Raf	Rat Fibrosarcoma Proteinkinase
Ras	Rat Sarcoma Protoonkogen
ROS	Radical Oxygen Species
SHH	Sonic Hedgehog
SHP-1	SH2-Domänen-Tyrosinphosphatase 1
SOD	Superoxiddismutase
SST	Somatostatin
SSTR	Somatostatinrezeptor
TBARS	Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (thiobarbituric acid-reactive substances)
TGF	Transforming Growth Factor
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

## 1. Einleitung

Das Pankreaskarzinom ist das zehnthäufigste Malignom und die achthäufigste Karzinom-assoziierte Todesursache mit etwa 65.000 Todesfällen pro Jahr in Europa und zirka 34.000 jährlichen Todesfällen in den USA (1,2). Die Inzidenz bei Männern liegt zwischen 7/100.000/Jahr (Nord- und Westeuropa) und 9/100.000/Jahr (Osteuropa), bei Frauen beträgt sie zwischen 4/100.000/Jahr (Osteuropa) und 6/100.000/Jahr (Nordeuropa) (2). Das Pankreaskarzinom ist ein streng altersabhängiges Malignom, die Inzidenz erhöht sich schrittweise von 1,5/100.000/Jahr bei 15-44-Jährigen auf 55/100.000/Jahr bei über 65-jährigen Patienten (2). Der Altersgipfel liegt im 6. bis 7. Dezennium, Männer sind im weltweiten Maßstab etwas häufiger betroffen als Frauen (m:w=1,3-1,5:1) (3).

Als gesicherter Risikofaktor mit 2,5fach bis 3,6fach erhöhtem Risiko gilt der Nikotinabusus (3). Die Datenlage bezüglich Alkoholkonsum, Koffeinaufnahme, chronischer Pankreatitis und Leberzirrhose ist weiterhin inkonsistent (1,4), ein langjähriger Diabetes mellitus, die alimentäre Adipositas und eine fettreiche Ernährung (insbesondere Tierfette) erhöhen das Risiko in nicht abschließend geklärtem Ausmaß mit schwankendem relativem Risiko zwischen 1,2 und 2,5 (3). Einige Studien haben auch für Patienten nach Cholezystektomie ein erhöhtes Risiko für das Auftreten eines Pankreaskarzinoms beschrieben (1). Auch bei Patienten mit einer anderen Blutgruppe als 0 im AB0-System ist das Risiko für ein Pankreaskarzinom erhöht (1). Jeder 10.-20. Patient mit einem Pankreaskarzinom hat eine positive Familienanamnese für diese Erkrankung, bei einigen dieser Familien wird eine vererbte genetische Ursache des Pankreaskarzinoms angenommen (1,5). So scheint eine familiäre Prädisposition mit bis zu 57fach erhöhtem Risiko bei gewissen Konstellationen (vier oder mehr betroffene direkte Familienmitglieder) auf genetischer Basis mit Keimbahnmutationen insbesondere von DNA-Reparaturgenen verbunden zu sein (5,6).

Pankreaskarzinome entstehen bei 85% der Betroffenen im Pankreaskopf und manifestieren sich dann typischerweise mit Oberbauchschmerzen, Ikterus und Gewichtsverlust (1,2). Demgegenüber ist das Leitsymptom der selteneren Karzinome im Pankreaskörper oder -schwanz eher ein dumpfer, in der Tiefe empfundener

Oberbauchschmerz ohne Ikterus, aber ebenfalls oftmals mit Gewichtsverlust verbunden (1,2). Auch eine Duodenalstenose oder eine obere gastrointestinale Blutung können mitunter Erstsymptom eines Pankreaskarzinoms sein (1). Bei bis zu 10% der Patienten ist ein neu aufgetretener Diabetes mellitus das erste klinische Symptom (2). Insgesamt werden Pankreaskarzinome regelhaft erst spät diagnostiziert, da sowohl typische Frühsymptome wie auch sinnvoll einsetzbare Screening-Verfahren fehlen (1,2,3,7).

Apparativ-diagnostischer Standard ist die 3-Phasen-Kontrastmittel-Dünnschicht-Computertomographie, deren Prädiktionwert für die Resektabilität des Tumors zwischen 75% und 90% liegt (1,2,7). Je nach Konstellation können weitere Untersuchungen wie Endosonographie, ERCP, MRCP, PET-CT oder auch die Staging-Laparoskopie sinnvoll sein (1,7). Die präoperative, nicht-invasive Evaluation der Resektabilität verfehlt bei bis zu 25% der Patienten ihr Ziel (7). Diese Fehlerquote kann nach den bisher vorliegenden Erkenntnissen auch durch die oben genannten weiteren apparativen Verfahren nicht relevant verbessert werden (1,2,7). Lediglich die Staging-Laparoskopie erreicht eine Resektabilitätsprädiktion von nahezu 100% und wird daher zumindest bei größeren, linksseitigen Tumoren und vor geplanten neoadjuvanten Konzepten – auf die noch einzugehen sein wird – empfohlen (2).

Der einzige klinisch nützliche Tumormarker ist CA19-9, der jedoch aufgrund seiner mangelnden Sensitivität und Spezifität ebenfalls nur eingeschränkt verwendbar ist (1,2,7,8). So ist er für die Diagnosestellung ungeeignet, da verschiedene benigne Erkrankungen (akute und chronische Pankreatitis, Leberzirrhose, Cholangitis) teilweise massive Erhöhungen des CA19-9-Spiegels hervorrufen können, auch andere gastrointestinale Adenokarzinome (Ösophagus-, Magen-, kolorektales Karzinom) mit erhöhten CA19-9-Spiegeln vergesellschaftet sind und sowohl kleine als auch undifferenzierte Pankreaskarzinome bei etwa 50% der entsprechenden Patienten mit normalen CA19-9-Konzentrationen einhergehen (8). Demgegenüber kann ein präoperativ erhöhter und nach kurativer Resektion in den Normbereich abfallender CA19-9-Spiegel prognostisch relevant sein und zudem in der Tumornachsorge genutzt werden (8). In Studien konnte gezeigt werden, dass ein Wiederanstieg des CA19-9-Spiegels während der Tumornachsorge oftmals dem klinischen und bildgebenden Rezidivnachweis mehrere Monate vorausgehen kann – der tatsächliche Nutzen dieser Tatsache bleibt fraglich, da ein alleiniger CA19-9-



Anstieg keine Therapie initiieren kann (8). Alle anderen, teilweise ausführlich untersuchten Serumentumormarker wie CA242, CEA, M2-Pyruvatkinase, Haptoglobin, Serumamyloid A haben sich im Vergleich zu CA19-9 als nicht überlegen erwiesen und keinen Eingang in die klinische Routine gefunden (8).

Nur durch R0-Resektion eines Pankreaskarzinoms ist ein Langzeitüberleben zu erreichen. Aufgrund von lokaler Irresektabilität und/oder synchroner Fernmetastasierung kommt dieser kurative Ansatz jedoch nur bei 20-30% der Patienten in Betracht (9,10), daher werden zunehmend neoadjuvante Konzepte zur Erhöhung der (R0-) Resektabilitätsrate untersucht (11,12). Insgesamt haben sich in den letzten zehn Jahren die Resektabilitätskriterien deutlich verschoben. Der Ersatz von in den Tumor einbezogenen venösen Gefäßen wie der Vena mesenterica superior oder der Pfortader wird unter der Voraussetzung einer damit zu erreichenden R0-Resektion inzwischen weithin als Standard akzeptiert (7,11,12). Demgegenüber wird ein arterieller Tumorbefall (insbesondere der A. mesenterica superior) zumindest in Europa und Nordamerika als sicheres Zeichen der Irresektabilität betrachtet (7,11,12). In diesen Zusammenhängen wird zunehmend das Konzept der „Borderline-Resektabilität“ diskutiert (11,12). Als Kriterien der Borderline-Resektabilität werden dabei folgende bildgebende Befunde betrachtet: Tumor grenzt direkt an die A. mesenterica superior an, Tumor verursacht schweres Impingement der V. mesenterica superior oder der Pfortader, Tumor umhüllt ursprungsnahe die A. gastroduodenalis, Tumor bricht in das Mesokolon transversum ein (11). Bei Patienten mit solchen Konstellationen kann eine neoadjuvante Radiochemotherapie möglicherweise die Rate an R0-Resektionen erhöhen und damit zu einer signifikanten Überlebenszeitverlängerung führen (11). In der Literatur besteht jedoch Konsens, dass neoadjuvant intendierte Therapien momentan nur im Rahmen klinischer Studien durchgeführt werden sollten (7,10-12).

Die operative Standardprozedur beim Pankreaskopfkarzinom ist die kephale Pankreatikoduodenektomie nach Kausch-Whipple oder die pyloruserhaltende kephale Pankreatikoduodenektomie nach Traverso-Longmire (2,13,14). Beim Pankreasschwanzkarzinom erfolgt eine Pankreaslinksresektion mit Splenektomie, Karzinome im Pankreaskörper erfordern je nach genauer Lage ein angepasstes operatives Vorgehen bis hin zur totalen Duodenopankreatektomie (2,10,13,14). Die über viele Jahre kontrovers diskutierte Frage, ob die pyloruserhaltende kephale

Pankreatikoduodenektomie dem „traditionellen“ Vorgehen nach Kausch und Whipple mit unterer Magenteilresektion onkologisch adäquat ist, kann zwischenzeitlich als beantwortet gelten. Diener et al. haben 2008 in einem systematischen Cochrane-Review bestätigt, dass sowohl Morbidität und Mortalität als auch das Gesamtüberleben sich zwischen beiden Verfahren nicht signifikant unterscheiden (13).

Nach R0-Resektion kann mit adjuvanter Chemotherapie – wobei Gemcitabine den aktuellen Standard darstellt – ein 5-Jahres-Überleben von 20-35% bei einer medianen Überlebenszeit von 20-22 Monaten erreicht werden (2,8,9,11,15). Kombinationstherapien von Gemcitabine mit 5-Fluorouracil, Platinsalzen, Capecitabine und/oder postoperativer Strahlentherapie konnten bislang ebenso wenig einen relevanten Überlebensvorteil nachweisen wie Kombinationen von Gemcitabine mit modernen Rezeptortyrosinkinaseinhibitoren, einzig die Kombination mit Erlotinib scheint einen geringen Überlebensvorteil gegenüber der alleinigen Gemcitabine-Applikation zu haben (11,16).

Auch die Therapie in der palliativen Situation ist Gemcitabine- oder 5-Fluorouracil-basiert und kann um weitere Substanzen und Bestrahlung erweitert werden (11,14,16). Das mittlere Überleben liegt dann nur bei 8-10 Monaten, unbehandelt beträgt die mittlere Überlebenszeit 4-6 Monate (1,8,16).

Sowohl zur Erweiterung der Kenntnisse über die Biologie des Pankreaskarzinoms wie auch zur Hypothesengenerierung und Manipulationstestung von Wachstum und Metastasierung sind Untersuchungen an *in-vivo*-Modellen unverzichtbar. Grundsätzlich werden Xenograft- von orthotopen, Karzinogen-induzierten und genetisch manipulierten Modellen des Pankreaskarzinoms unterschieden (17). Der entscheidende Vorteil der Karzinogen-induzierten Modelle ist die Induktion multipler relevanter Ereignisse auf genetischer Ebene über einen definierten Zeitraum mit konsekutiven, sequentiellen Zellveränderungen inklusive Genom, Transkriptom und Proteom, so dass diese Modelle sich insbesondere für Untersuchungen der Karzinogenese und Metastasierung sowie des Einflusses von Umweltfaktoren einschließlich der Ernährung eignen (17). Das Azaserin-Modell der Ratte hat den Nachteil, dass das entstehende Pankreaskarzinom histogenetisch dem azinären Typ entspricht, der beim Menschen höchstens 10% aller Pankreaskarzinome ausmacht (18). Demgegenüber wachsen in den Nitrosamin-basierten Hamstermodellen duktile

Adenokarzinome des Pankreas, die bis zu 90% der humanen Entität stellen (19-21). In allen Manuskripten dieser kumulativen Habilitationsschrift wurde das N-Nitroso-bis-2-oxopropylamin-(BOP)-Modell des duktales Adenokarzinoms im Syrischen Hamster verwendet, das eine gute Vergleichbarkeit mit dem humanen Pankreaskarzinom aufweist (22-24). In zwei ersten Studien an diesem Modell konnte unsere Gruppe nachweisen, dass durch eine Hochfetter Ernährung sowohl bei hohem Anteil von  $\alpha$ -Linolensäure (ALA) als auch bei gemischter Erhöhung von ALA und Linolsäure (LA) die im unmodifizierten Modell bei 30-60% liegende Lebermetastasierungsrate auf 90% erhöht wird (25,26). Als einer der potentiellen Mechanismen, über die bestimmte mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA – polyunsaturated fatty acids) in das Wachstum und die Metastasierung verschiedener Tumorentitäten eingreifen, wird schon seit längerem die nicht-enzymatische Lipidperoxidation diskutiert, für die einige PUFA sensitiver sind als andere und die durch bestimmte enzymatische Schutzmechanismen wie Glutathionperoxidase (GSH-Px) und Superoxiddismutase (SOD) vermindert werden kann (27-31). Das Ausmaß der stattgehabten Lipidperoxidation und damit der Zellschädigung in einem Gewebe kann dabei durch Messung der Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBARS) abgeschätzt werden, wobei in erster Linie die Endprodukte der Lipidperoxidation, Malondialdehyd (MDA) und 4-Hydroxynonenal (4-HNE) erfasst werden (32,33). Tatsächlich ließ sich in metastasenfremem Lebergewebe der mit einer Hochfett diät ernährten und mit BOP Karzinom-induzierten Tiere eine signifikante Steigerung der Lipidperoxidation nachweisen (26). Damit war eine Modifikation des gut etablierten Tiermodells des duktales Adenokarzinoms des Pankreas im Syrischen Hamster gelungen, auf deren Basis einerseits Untersuchungen zu diätetischen Einflüssen und andererseits Analysen der Effekte erfolgversprechender neuer Therapeutika auf das Wachstum des Primarius und speziell auch auf die Lebermetastasierung durchgeführt werden konnten.

## 2. Ergebnisse

### 2.1. Einfluss von konjugierter und konventioneller Linolsäure auf das Wachstum des Pankreaskarzinoms und die pankreatische Lipidperoxidation

Für die Hochfetterernährung mit kombinierter Erhöhung von ALA und LA hatte unsere Gruppe eine Steigerung der Lebermetastasierungsrate in diesem Tiermodell nachgewiesen (25,26). Hierbei war die konventionelle Isoform der LA verwendet worden. Da für die konjugierte Form der LA (CLA – conjugated linoleic acid) im Gegensatz zur konventionellen LA wachstumshemmende Effekte auf verschiedene Tumorentitäten in der Literatur beschrieben sind (34-38), haben wir in der nun folgenden Studie den Anteil an LA respektive CLA am Gesamtfett auf etwa 75% erhöht und den Einfluss beider Isoformen auf die Pankreaskarzinominzidenz und die intrapancreatische sowie intratumorale Lipidperoxidation untersucht. Da CLA sich in der Futtermischung als ausgesprochen instabil erwies, musste der Gesamtfettanteil auf 4,7% beschränkt werden, wobei sich ein 3,3%iger Anteil Linolsäure in der Gesamtdiät ergab, was immer noch mehr als dem Zweifachen von Hamsterstandardfutter entspricht.

**M. Kilian, I. Mautsch, J.I. Gregor, D. Heinichen, C.A. Jacobi, I. Schimke, H. Guski, J.M. Müller, F.A. Wenger: Influence of conjugated and conventional linoleic acid on tumor growth and lipid peroxidation in pancreatic adenocarcinoma in hamster. Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids 2003, 69: 67-72**















## 2.2. Einfluss von konjugierter und konventioneller Linolsäure auf die Lebermetastasierung und die hepatische Lipidperoxidation

Die Substitution von LA durch ihre konjugierte Isoform CLA führte in der Studie zu keiner signifikanten Beeinflussung der Pankreaskarzinominzidenz, konnte aber nachweisen, dass das Ausmaß der Lipidperoxidation in Tumorgewebe gegenüber tumorfreien Pankreasanteilen signifikant gesteigert war. Während die SOD-Aktivität sich zwischen den Gruppen und auch zwischen tumorfreiem Pankreasgewebe und Tumorgewebe nicht signifikant unterschied, war die GSH-Px-Aktivität in Tumorgewebe deutlich niedriger als in tumorfreiem Pankreasgewebe aller Versuchsgruppen.

Desweiteren haben wir in dieser Studie den Einfluss von LA versus CLA auf die Inzidenz von Lebermetastasen und die Parameter der Lipidperoxidation (TBARS-Konzentration, SOD-Aktivität und GSH-Px-Aktivität) sowohl in metastasenfreiem Lebergewebe wie auch in den Lebermetastasen untersucht.

**M. Kilian, I. Mautsch, J.I. Gregor, P. Stahlknecht, C.A. Jacobi, I. Schimke, H. Guski, F.A. Wenger: Influence of conjugated vs. conventional linoleic acid on liver metastasis and hepatic lipidperoxidation in BOP-induced pancreatic cancer in syrian hamster. Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids 2002, 67: 223-228.**















### 2.3. Effekte der Staging-Laparoskopie mit Octreotid- oder Taurolidin-Spülung auf das Primärtumorwachstum und die pankreatische Lipidperoxidation

Das bildgebende Staging des Pankreaskarzinoms ist noch immer mit Unsicherheiten hinsichtlich der Resektabilität behaftet, der Prädiktionwert auch der modernen Verfahren erreicht maximal 75-90% (1,2,7). Die Staging-Laparoskopie kann daher von Vorteil sein, da sie insbesondere kleine Lebermetastasen und die beim Pankreaskarzinom oftmals kleinknotige Peritonealkarzinose detektieren kann, die dem bildgebenden Nachweis entgehen können (39-41). Das weitere Vorgehen muss bei bis zu 25% der laparoskopierten Patienten aufgrund der intraoperativen Befunde geändert werden (2). Vor einer geplanten neoadjuvanten Therapie eines „Borderline“-resektablen Tumors sollte eine Staging-Laparoskopie erwogen werden (2,42). Andererseits ist die Ausbildung von Trokarmetastasen nach Laparoskopie beschrieben (43-45). Sowohl das bei der Laparoskopie verwendete Gas wie auch die Art der Spülflüssigkeit können die Trokarmetastaseninzidenz und teilweise auch das Tumorwachstum beeinflussen (46-48). In einer Studie unserer Gruppe wurde nach Laparoskopie mit Kohlendioxid eine höhere Inzidenz von Trokar- und Lebermetastasen gefunden als nach Laparoskopie mit Helium (49).

Taurolidin ist eine antineoplastische Substanz, die auch aufgrund ihrer antiinfektiven Wirkung zur Abdominallavage angewendet wird, in tierexperimentellen Studien wachstumshemmende Effekte auf Tumore zeigt (50-52) und neuerdings als Lokalthérapeutikum für die intrakavitäre Chemotherapie beim Mesotheliom diskutiert wird (53). Der Einfluss von Taurolidin auf den oxidativen Stress und die Lipidperoxidation war zum damaligen Zeitpunkt noch unklar. Für das Somatostatinanalogon Octreotid hatte unsere Gruppe hingegen nachgewiesen, dass es das Ausmaß der Lipidperoxidation in der Leber beeinflusst und die Größe und Anzahl der Lebermetastasen im BOP-Modell des Pankreaskarzinoms vermindert (54-56).

In der folgenden Studie sollte daher der Einfluss einer Staging-Laparoskopie mit Biopsie und abschließender Lavage mit Kochsalzlösung, Taurolidin oder Octreotid auf das Tumorwachstum und die Metastasierung des BOP-induzierten Pankreaskarzinoms im Syrischen Hamster untersucht werden.

**M. Kilian, I. Mautsch, C. Braumann, I. Schimke, H. Guski, C.A. Jacobi, F.A. Wenger: Effects of taurolidine and octreotide on tumor growth and lipid peroxidation after staging-laparoscopy in ductal pancreatic cancer. Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids 2003, 69: 261-267.**















## 2.4. Effekte der Staging-Laparoskopie mit Octreotid- oder Taurolidin-Spülung auf die Lebermetastasierung und die hepatische Lipidperoxidation

Die im BOP-Modell entstehenden Pankreaskarzinome sind meist klein, multizentrisch und somit nur histologisch nachweisbar, im unmodifizierten Modell beträgt die Inzidenz makroskopisch sichtbarer Tumore etwa 30-40% (20-24). In der vorstehenden Studie konnte nur Taurolidin, nicht aber Octreotid zu einer Verringerung der Inzidenz makroskopischer Tumore führen, zudem waren die Primärtumore in der Octreotid-Gruppe signifikant größer. Die Lavage mit Taurolidin verringerte die Lipidperoxidation im tumorfreien Pankreasgewebe bei gleichzeitig erhöhter SOD-Aktivität. Demgegenüber war die Konzentration der TBARS als Indikator für das Ausmaß der Lipidperoxidation in den Pankreaskarzinomen der Octreotid-Gruppe signifikant höher als in tumorfreiem Pankreasgewebe dieser Gruppe, während sich die Aktivitäten der beiden Schutzenzyme GSH-Px und SOD in tumorfreiem Gewebe nicht von den Aktivitäten in Tumorgewebe unterschieden.

In dieser Studie wurde ebenso der Einfluss der drei Lavage-Substanzen auf die Häufigkeit, Anzahl und Größe von Lebermetastasen sowie die Parameter der Lipidperoxidation in metastasenfreiem Lebergewebe und in Lebermetastasen untersucht.

**M. Kilian, J.I. Gregor, I. Heukamp, C. Braumann, H. Guski, I. Schimke, M.K. Walz, C.A. Jacobi, F.A. Wenger: Impact of taurolidin and octreotide on liver metastasis and lipid peroxidation after laparoscopy in chemical induced ductal pancreatic cancer. Invest New Drugs 2005, 23: 157-164.**



















## 2.5. Einfluss der Somatostatinanaloga Octreotid und SOM230 auf die Lebermetastasierung und die hepatische Lipidperoxidation

Das in der Vorstudie hinsichtlich seiner Wirkung auf Tumorwachstum und Metastasierung untersuchte Octreotid ist ein synthetisches Somatostatinanalogon, das nahezu ausschließlich an die Subtypen 2 und 4 der insgesamt 5 Somatostatin-Rezeptor- (SSTR-) Subtypen bindet (57-59). Alle 5 Subtypen (SSTR1-5) sind mit unterschiedlichen Verteilungsmustern in einer Vielzahl endokriner und nicht-endokriner Neoplasien beschrieben, beispielsweise in Mammakarzinomen, Bronchialkarzinomen, kolorektalen Karzinomen und Pankreaskarzinomen (57-61). Mit dem neuen synthetischen Somatostatinanalogon SOM230 (Pasireotid) steht erstmals eine Substanz zur Verfügung, die mit fast identischer Affinität an die Subtypen 1, 2, 3 und 5 der SSTR bindet (62-65). Zur Klärung der Frage, ob durch Blockade von 4 anstatt 2 SSTR-Subtypen ein additiver Effekt der antimetastastischen Aktivität von Somatostatinanaloga erzielt werden kann, haben wir in der nächsten Studie Octreotid und SOM230 in ihren Wirkungen auf Wachstum und Metastasierung des BOP-induzierten Pankreaskarzinoms im Hamster verglichen. Zur Kontrolle der vorherbeschriebenen Effekte auf die Lipidperoxidation wurden wiederum als Parameter der Lipidperoxidation die Aktivitäten der Schutzenzyme GSH-Px und SOD sowie die Konzentrationen der TBARS in metastasenfremem Lebergewebe und in den Lebermetastasen gemessen.

**M. Kilian, J.I. Gregor, I. Heukamp, K. Helmecke, M. Hanel, B. Wassersleben, M.K. Walz, I. Schimke, G. Kristiansen, F.A. Wenger: Impact of octreotide and SOM-230 on liver metastasis and hepatic lipidperoxidation in ductal pancreatic adenocarcinoma in syrian hamster. Clin Exp Metastasis 2009, 26: 719-727.**





















## 2.6. Einfluss des Matrixmetalloproteinase-Inhibitors RO 28-2653 auf die Lebermetastasierung und die hepatischen Konzentrationen von MMP-2 und MMP-9

Matrixmetalloproteinasen (MMP) sind eine der Grundvoraussetzungen für invasives Wachstum und Metastasierung. Ohne die Gelatinasen A und B (MMP-2 und MMP-9) können Krebszellen keine Motilität erlangen, nicht invasiv wachsen und kein Metastasierungspotential akquirieren (66). Der „angiogene Shift“ von Karzinomzellen ist Gelatinasen-abhängig (67). Nach aktuellen Erkenntnissen geht die MMP-Produktion beim Pankreaskarzinom in erster Linie nicht von den Karzinomzellen selbst, sondern von Zellen ihres „Microenvironment“ aus, wobei aktivierte pankreatische Sternzellen (PSC – pancreatic stellate cells) die Hauptquelle sind (68-70). Die von den aktivierten PSC sezernierten Gelatinasen degradieren die Basalmembranen, was bei vielen Malignomen als wachstumskritischer Schritt angesehen wird (71,72). Die epithelial-mesenchymale Transition (EMT), Grundvoraussetzung der Metastasierung durch Verlust epithelialer Merkmale und Umbau zum mesenchymalen Phänotyp, ist unter anderem MMP-abhängig (73). Beide Gelatinasen sind im Pankreaskarzinom überexprimiert (74-77). Synthetische Matrixmetalloproteinase-Inhibitoren (MMPI) inhibierten das Wachstum von experimentellen Pankreaskarzinomen (78-80).

In der nächsten Studie untersuchten wir daher den Einfluss eines neuen MMPI, RO 28-2653, auf die Metastasierung des BOP-induzierten Pankreaskarzinoms. Zudem wurde in metastasenfremem Lebergewebe und in den Lebermetastasen die Konzentration der MMP-2 und der MMP-9 bestimmt.

**M. Kilian, J.I. Gregor, I. Heukamp, M. Hanel, M. Ahlgrimm, I. Schimke, G. Kristiansen, A. Ommer, M.K. Walz, C.A. Jacobi, F.A. Wenger: Matrix metalloproteinase inhibitor RO 28-2653 decreases liver metastasis by reduction of MMP-2 and MMP-9 concentration in BOP-induced ductal pancreatic cancer in syrian hamsters: inhibition of matrix metalloproteinases in pancreatic cancer. Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids 2006, 75: 429-434.**















### 3. Diskussion

Das Adenokarzinom des Pankreas ist ein häufiges Malignom des Gastrointestinaltraktes (1,2). Trotz unbestrittener Fortschritte hinsichtlich seiner Biologie hat sich in den letzten 15 Jahren an der schlechten Prognose für die betroffenen Patienten nichts geändert (1,8,9,11,16). Die Option eines Langzeitüberlebens durch R0-Resektion des Tumors steht nur 20-30% der Patienten offen, in den übrigen Fällen wird der irresektable Lokalbefund oder die bereits vorliegende Fernmetastasierung meist auch noch von einer Resistenz sowohl gegen Bestrahlung wie auch gegen Chemotherapie begleitet (9,10,81). Die Gründe für diese häufige Radiochemoinsensibilität des Pankreaskarzinoms sind schwer definierbar, offensichtlich hochkomplex und in den spezifischen biologischen Merkmalen dieser Neoplasie zu suchen (81).

Während über den zeitlichen Ablauf mit histologisch gut klassifizierbaren Vorstufen, den sogenannten pankreatischen intraepithelialen Neoplasien (PanIN), zumindest für den häufigsten Typ (das duktales Adenokarzinom) Einigkeit besteht, ist die Ursprungszelle dieses Karzinoms weiter unklar; in der Literatur werden sowohl die duktales Zellen selbst wie auch das azinäre, das zentroazinäre und sogar das endokrine Zellsystem des Pankreas diskutiert (69,82). Das duktales Adenokarzinom des Pankreas exprimiert eine Vielzahl mitogener Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren, Dutzende Onkogene sind aktiviert und ebenso viele Suppressorgene ausgeschaltet (81,82). Besonders hochfrequent werden K-Ras-, p53- und Smad4-Mutationen gefunden (82). Wie für eine Vielzahl anderer Malignome wurde auch für das Pankreaskarzinom in den letzten Jahren eine Subpopulation von Zellen beschrieben, die CD133 und CXCR4 exprimieren, in denen embryonale Signalwege wie NOTCH und SHH aktiviert sind und die über eine multipotente Selbsterneuerungskapazität verfügen und sich somit in die „cancer stem cell“-These (CSC) einfügen (83,84). Das metastatische Potential eines Pankreaskarzinoms könnte an diese Subpopulation gekoppelt sein (83,84).

Eine tumorbiologisch ansonsten eher selten anzutreffende Spezialität des pankreatischen Adenokarzinoms ist seine häufige Perineuralscheideninfiltration, die nach neuerer Ansicht einen zusätzlichen Metastasierungsweg darstellt (85). Verschiedene neuronale Wachstumsfaktoren (NGF, BDNF, GDNF, NT-3) werden

dabei überexprimiert und sind mit einer ausgesprochen schlechten Prognose verbunden (85).

Das duktales Adenokarzinom des Pankreas ist zudem durch eine hohe, meist frühzeitig einsetzende Metastasierungsaktivität gekennzeichnet (9,10,86). Grundsätzlich sind Invasivität und Metastasierungsfähigkeit eine der 6 erworbenen Fähigkeiten einer malignen Neoplasie, ihre basalen Voraussetzungen sind der Adhärenzverlust und die Matrixdegradation (87). Während die einzelnen Schritte der Metastasierungskaskade gut untersucht und bekannt sind, gibt es für den Entstehungsmechanismus metastasierender Zellen aus einer Population nicht-metastasierender Zellen heraus verschiedene Thesen. Die Klonalthese geht davon aus, dass bestehende Tumorzellen durch zusätzliche, sich im Zeitverlauf ereignende genetische Veränderungen mit Aktivierung oder Abschaltung weiterer Stoffwechselwege Metastasierungspotential erwerben (86). Die EMT-These hingegen beruht auf einer Transition der epithelialen Zellen hin zu Zellen mit mesenchymalen Merkmalen (Kontaktverlust, Migrationsfähigkeit etc.) als Grundlage der Metastasierungsfähigkeit, während die Myeloidthese davon ausgeht, dass metastasierende Zellen aus Makrophagen oder anderen myeloiden Zellen mit pluripotentem Potential entstehen, die entweder in Tumornähe residierten oder aus dem Knochenmark akquiriert wurden (86). Welcher dieser Mechanismen beim Pankreaskarzinom im Vordergrund steht ist ebenso wenig abschließend geklärt wie die Rolle der Stammzellthese im Rahmen der Metastasierung.

Eine weitere Besonderheit, die das Pankreasadenokarzinom mit nur wenigen malignen Neoplasien (vor allem Mamma- und Prostatakarzinomen) teilt, ist die ausgeprägte desmoplastische Reaktion (69,70,88,89). Die Bedeutung dieses sogenannten „Microenvironment“ ist in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus der Forschung geraten, da seine zellulären und azellulären Bestandteile eine weit größere Rolle für die Tumoringitiation, -promotion und auch Metastasierung zu spielen scheinen als lange angenommen. Das Microenvironment des Pankreasadenokarzinoms enthält pankreatische Sternzellen (PSC), Fibroblasten, Cajal-Zellen, Lymphozyten, Monozyten, dendritische Zellen, epitheliale Zellen, Mastzellen, Endothelzellen und Perizyten teilweise in weit größerem Ausmaß als eigentliche Adenokarzinomzellen (88). Die azelluläre Matrix besteht aus Zytokinen, Chemokinen, Zelladhäsionsmolekülen, Wachstumsfaktoren, Kollagenen, Lamininen

und verschiedenen Enzymen, die sowohl von den Tumorzellen wie auch von den Zellen des Microenvironment synthetisiert werden (68,89). Die einzelnen Zellen sind dabei in unterschiedlichem Maße durch Integrine und Syndecane physisch an den Komponenten der extrazellulären Matrix befestigt; diese Membranrezeptoren wiederum sind mit dem intrazellulären Zytoskelett verbunden, so dass Zell-Matrix-Rezeptor-Zytoskelett-Signale durch Verbindungen in die nukleäre Matrix und an das Chromatin die Genexpression beeinflussen können (89). In Pankreaskarzinomen mit ihrer ausgeprägten Desmoplasie herrscht Hypoxie mit teilweise sehr niedrigen Sauerstoffpartialdrücken, was mit einer gesteigerten Aktivität des Transkriptionsfaktors HIF-1 einhergeht (88,90,91).

Das von uns verwendete Tiermodell des BOP-induzierten duktales Adenokarzinoms des Pankreas im Syrischen Hamster ist in vielerlei Hinsicht gut mit seinem humanen Gegenstück vergleichbar und weist unter anderem ebenfalls eine ausgeprägte desmoplastische Reaktion auf (17,19-21). Bei der Diskussion der Ergebnisse unserer Gruppe muss daher immer die Gesamtheit aus Tumorzellen, Zellen des Microenvironment und azellulären Bestandteilen der extrazellulären Matrix betrachtet werden, da in chemisch induzierten und die Karzinogenese wie im Zeitraffer abbildenden Modellen des Pankreaskarzinoms isolierte Betrachtungen von Tumorzellen wie bei *in-vitro*-Experimenten naturgemäß nicht möglich sind.

Das Karzinogen BOP wird über das Cytochrom-P450-System metabolisiert und generiert dabei unter anderem freie radikale Sauerstoffspezies (ROS) (92), dies führt in verschiedenen Geweben (so auch im Pankreas) zu sogenannten „free radical damages“ und zur DNA-Alkylierung (92,93). Die Nitrosamin-initiierte Karzinogenese wird zu relevanten Teilen durch oxidativen Stress getriggert (92,93). Dabei können ROS über Hypoxie und die Freisetzung inflammatorischer Zytokine zur Zellproliferation führen und die Zellpolarität ändern (4). Oxidativer Stress kann die unter physiologischen Bedingungen ruhenden PSC aktivieren und zur Synthese von VEGF, MMP-2, MMP-9 (via EMMPRIN) und TGF- $\beta$  anregen (68,70). Durch TGF- $\beta$  wiederum kann über Smad2/3 die COX-2-Synthese induziert werden, die die Eikosanoidsynthese reguliert (68). Radikale Sauerstoffspezies ihrerseits stabilisieren HIF-1, der einerseits die Lysyloxidase boostert und damit FAK-reguliert die Zell-Matrix-Adhäsion steuert und andererseits durch Hochregulation von Transkriptionssuppressorgenen einen E-Cadherinverlust herbeiführen kann (66,90).

Oxidativer Stress erhöht die Lipidperoxidation in Zellmembranen, verletzt Endothelbarrieren und setzt Proteasen frei (94-98). Bestimmte Produkte der Lipidperoxidation können wie auch ROS selbst die Eikosanoidsynthese stimulieren (99,100). Bei der pankreatischen Karzinogenese stehen ROS, Zytokine und verschiedene Eikosanoide in engem Zusammenhang (101), auch die Lipidperoxidation ist dabei beteiligt (102,103). Epidemiologisch wie experimentell sind ROS und die Endprodukte der Lipidperoxidation karzinogen, da offenbar schon leichte Störungen der empfindlichen Äquivalenz zwischen Sauerstoff-aktivierenden und protektiven enzymatischen wie nicht-enzymatischen Mechanismen Biomoleküle beschädigen können (104,105).

Es war daher naheliegend, gerade in diesem Nitrosamin-getriggerten Tumormodell den oxidativen Stress genauer zu untersuchen. Indikatoren für oxidativen Stress sind Veränderungen sowohl in den antioxidativen Schutzmechanismen wie auch im Lipidperoxidlevel (99,100). Folglich wurden in fast allen Studien die Aktivitäten der antioxidativen Schutzenzyme GSH-Px (katalysiert die Reduktion von organischen Peroxiden und Wasserstoffperoxid) und SOD (wandelt Superoxid-Anionen in Wasserstoffperoxid um) sowie die Konzentration der TBARS als Maß für Lipidperoxide gemessen. Grundsätzlich sind verschiedene Fettsäuren unterschiedlich empfindlich gegen einen „free radical attack“ und gegen die LPO, insbesondere mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) können eher geschädigt werden (106). Humane Zellen können aus den essentiellen „Startpunkten“ der *n*-3-PUFA ( $\alpha$ -Linolensäure C18:3) und der *n*-6-PUFA (Linolsäure C18:2) durch Desaturasen und Elongasen die Kohlenstoffketten verlängern und weitere Doppelbindungen einfügen (EPA C20:5 *n*-3, DHA C22:6 *n*-3,  $\gamma$ -LnA C18:3 *n*-6, AA C20:4 *n*-6), wozu Tumorzellen regelhaft nicht in der Lage sind, da ihnen Desaturasen und Elongasen fehlen (107). Je nach Verfügbarkeit konkurrieren die verschiedenen PUFA um den Einbau (vorzugsweise an die *sn*2-Position) in Membranphospholipide und verdrängen einander teilweise sogar aus dieser Position (108). Auch als nicht membrangebundene, freie Fettsäuren können PUFA durch Bindung an nukleäre PPAR die Genexpression modulieren und selbst PPAR-unabhängig über bislang nicht im Detail geklärte Mechanismen die Proliferation und Migration verschiedenster Zelltypen manipulieren (109).

Durch Modifikation der diätetischen Fettzusammensetzung könnte also die Empfindlichkeit der Zellen gegenüber dem BOP-assoziiertem oxidativem Stress verändert und dadurch die LPO beeinflusst werden, überdies könnte die Eikosanoidsynthese in ihrer Bedeutung für die Karzinogenese und Metastasierung durch die beiden PUFA-Serien in verschiedene Richtungen gelenkt werden, worauf später noch näher eingegangen wird.

Tatsächlich konnten wir in zwei ersten Studien nachweisen, dass bei einer Hochfetterernährung mit LA als Hauptbestandteil die Lebermetastasierung im BOP-Modell des Pankreaskarzinoms signifikant erhöht wird (25,26). In metastasenfremen Leberanteilen war das Ausmaß der LPO signifikant erhöht (26).

Linolsäure kann in zwei Isoformen vorliegen, wobei für die konjugierte im Gegensatz zur konventionellen Isoform eher wachstumshemmende Effekte auf verschiedene Tumoren beschrieben sind (34-38). Wir haben in unserer Studie keinen Einfluss auf die Karzinominzidenz gesehen; erwähnenswert ist jedoch die im Vergleich zu tumorfreiem Pankreasgewebe signifikant erhöhte LPO in den Pankreaskarzinomen sowohl bei LA- wie auch bei CLA-reicher Ernährung der Tiere (Publikation 1). Auch die Inzidenz von Lebermetastasen wurde nicht signifikant beeinflusst, wiederum war jedoch unter beiden LA-Isoformen die LPO in den Lebermetastasen viel ausgeprägter als in metastasenfremier Leber (Publikation 2). Ganz grundsätzlich gibt es in der Literatur auch keinen Anhalt dafür, dass CLA gegenüber oxidativem Stress und der LPO unempfindlicher wäre als LA. Auch CLA wird zu AA verstoffwechselt und als solche oder eben unverstoffwechselt in Membranphospholipide eingebaut und bleibt damit immer noch dem „free radical attack“ und der LPO ausgesetzt. Zudem werden alle PUFA der *n*-6-Konfiguration (also auch CLA) im Rahmen der Eikosanoidsynthese zu Prostaglandinen der 2er-Serie und Leukotrienen der 4er-Serie verstoffwechselt, die wachstumsfördernde Eigenschaften besitzen (110).

Der Eikosanoidstoffwechsel ist ähnlich wie die LPO von besonderer Bedeutung für das hier verwendete Tumormodell und die Arbeit unserer Gruppe. Einerseits kann er durch oxidativen Stress und ROS getriggert werden und andererseits ist er von den von uns vorgenommenen diätetischen Modifikationen betroffen. Eikosanoide entstehen durch Oxidation von AA oder verwandten PUFA, die durch die PLA<sub>2</sub> aus Membranphospholipiden freigesetzt werden (109). Sowohl ROS wie auch Produkte der LPO stimulieren die Aktivität der PLA<sub>2</sub> und schlagen damit den Bogen zum BOP-



Modell (99,100). Über die Art der eingebauten PUFA entscheidet unter anderem die Ernährung (108). Nach Abspaltung durch PLA<sub>2</sub> erfolgen die nächsten Syntheseschritte durch Cyclooxygenasen (COX) und Lipoxygenasen (LOX), deren einzelne Isoenzyme (COX-1, COX-2, 5-LOX, 12-LOX, 15-LOX) in unterschiedlichem Ausmaß in Pankreaskarzinomen überexprimiert sind (68,81,82). Je nach Art der abgespaltenen PUFA entstehen dann Prostaglandine der 2er-Serie und Leukotriene der 4er-Serie (aus *n*-6-PUFA) oder aber Prostaglandine der 3er-Serie und Leukotriene der 5er-Serie (aus *n*-3-PUFA) (108,111). Leukotriene der 4er-Serie sind an der Metastaseninitiierung und Prostaglandine der 2er-Serie am Tumorwachstum und der Metastasenprogression beteiligt (66,108,109). Demgegenüber sind die aus den *n*-3-PUFA abgeleiteten Prostaglandine der 3er-Serie und Leukotriene der 5er-Serie wie auch die *n*-3-PUFA selbst antiproliferativ und antiangiogenetisch über eine Vielzahl von Transduktionswegen wie VEGF, PDGF, NFκB (110). Für die Produkte der Lipoxygenasen sind je nach entstehender Leukotrienserie Steuerungsauswirkungen in die Ras-Raf-MEK-ERK-MAP-Kinase- und PI3-K-Akt-mTOR-Wege beschrieben (111). Eikosanoide sind in nahezu alle Schritte von Tumorentstehung, -wachstum und Metastasierung involviert (112).

Durch Art und Menge der diätetisch zugeführten Fettsäuren ist im Tiermodell des BOP-induzierten Pankreaskarzinoms folglich das Tumorwachstum und die Lebermetastasierung regulierbar. Dabei steht der BOP-induzierte und PUFA-getriggerte oxidative Stress mit gesteigerter Lipidperoxidation und gestörter Balance zwischen Sauerstoff-aktivierenden und antioxidativen Mechanismen nur am Beginn einer biochemischen Kaskade, die sich über Membranschäden, Barriereverletzungen an Endothelien, Funktionsverlust oxidierter Biomoleküle und die Eikosanoidsynthese bis hin zu nukleären Transkriptionsregulationswegen und in die Apoptose erstreckt.

So haben Boutros et al. nachgewiesen, dass EPA-induzierte Veränderungen der COX-LOX-Wege die Makrophagen-getriggerte TNF-α-Produktion in Pankreaskarzinomzelllinien hemmt, NFκB inaktiviert und proapoptotische Effekte zeigt (108). Fettsäuren der *n*-3-Serie inhibierten die ROS-induzierte Zytokinproduktion (113), DHA und Curcumin inhibierten *in-vivo* das Wachstum einer Pankreaskarzinomzelllinie über eine Erniedrigung der COX-LOX-Aktivitäten mit simultanem p21-Anstieg und konsekutiver Apoptose (114) und verschiedene *n*-3-PUFA verminderten das Wachstum vierer Pankreaskarzinomzelllinien über eine

Verhinderung der NFκB-Aktivierung (115). In eigenen Untersuchungen am BOP-Modell des Pankreaskarzinoms wurde durch eine *n*-3-PUFA-reiche Hochfetternahrung die Inzidenz makroskopischer Pankreaskarzinome und von Lebermetastasen vermindert (116,117). Die verminderte Lebermetastasierung war dabei mit signifikant niedrigeren Leukotrienkonzentrationen in der Leber verbunden (118).

Auf der anderen Seite steigerten *n*-6-PUFA in EL-Kras-B6-Mäusen (Elastase, Kras<sup>G12D</sup>) neoplastisches Wachstum im Pankreas über eine Aktivierung der Eikosanoidkaskade und interessanterweise auch über eine gesteigerte Mastzellinvasion (119). Eine Hochfettdiät mit LA stimulierte den Lipidstoffwechsel und die Generierung von ROS in einem orthotopen Mausmodell der Pankreaskarzinomzelllinie MIAPaCa-2 und förderte neoplastisches Wachstum über einen gesteigerten *cell turnover* (120). In einer *in-vitro*-Untersuchung förderte die Zugabe von AA das Wachstum von Pankreaskarzinomzelllinien mit gesteigerter Produktion von Prostaglandinen der 2er-Serie, was durch EPA bei gleichzeitigem Anstieg von Prostaglandinen der 3er-Serie inhibiert werden konnte (121). Überraschenderweise traten diese Effekte auch bei COX-2-negativen Zelllinien auf, so dass möglicherweise PPAR-γ-vermittelte Effekte berücksichtigt werden müssen (121). Auch in anderen Tumormodellen, wie einem orthotopen *in-vivo*-Modell zweier Magenkarzinomzelllinien, förderte LA das Tumorwachstum und die Metastasierung, beides konnte durch COX-Inhibition vermindert werden (122).

Auch in eigenen Untersuchungen konnte die Inzidenz, Anzahl und Größe von Lebermetastasen sowie die Inzidenz makroskopischer Pankreaskarzinome im BOP-Modell durch kombinierte COX-2- und 5-LOX-Inhibition gesenkt werden (123,124). Dieser Effekt ging sowohl mit einer erniedrigten LPO in metastasenfrier Leber als auch mit einer intra- wie extrametastatischen Absenkung der PGE<sub>2</sub>-Konzentration einher (124,125).

Zudem können Vitamine mit antioxidativen Eigenschaften im BOP-Modell die Inzidenz von Pankreaskarzinomen und Lebermetastasen vermindern (126,127). Dies war zumindest bei hochdosierter Vitamin-A-Applikation von gesteigerten Aktivitäten der antioxidativen Schutzenzyme GSH-Px und SOD im Pankreas und in der Leber begleitet, in der Leber wurde auch das Ausmaß der LPO vermindert (126,127). In einer aktuellen Studie hat der Vitamin-E-Abkömmling γ-Tocotrienol das Wachstum

mehrerer Pankreaskarzinomzelllinien *in-vitro* und *in-vivo* (orthotopes Mausmodell) inhibiert, wobei auch hier wiederum Verbindungen zwischen oxidativem Stress und Lipidperoxidation einerseits und multiplen Stoffwechselwegen andererseits (COX-2, MMP-9, NFκB, VEGF) nachgewiesen werden konnten (128).

Auch für das in den Publikationen 3 und 4 im Rahmen einer diagnostischen Laparoskopie mit abschließender Lavage mit verschiedenen Substanzen untersuchte Taurolidin haben sich in den letzten Jahren die Erkenntnisse gemehrt, dass seine antiproliferativen Eigenschaften im Zusammenhang mit oxidativem Stress und Lipidperoxidation stehen. Wenngleich diese Mechanismen bisher nur inkomplett verstanden sind, scheint Taurolidin normale Gewebe vor Schäden durch oxidativen Stress zu schützen (129). Taurolidin ist ein Taurinabkömmling und besteht aus zwei Taurinamidringen, die korrekte chemische Bezeichnung lautet Bis(1,1-dioxoperhydro-1,2,4-thia-diziny-4)Methan mit der Summenformel  $C_7H_{16}N_4O_4S_2$ .

Neben einer Angiogeneseinhibition und der Induktion einer Zytokinfreisetzungstörung fußt die antineoplastische Aktion von Taurolidin auf Apoptoseinduktion (129). Taurolidin kann in Tumorzellen in Anwesenheit von ROS – also bei erhöhtem Sauerstoffstress – das durch ROS erhöhte mitochondriale Membranpotential reduzieren und dadurch die mitochondriale Apoptose einleiten (130-133). In unserer Studie erniedrigte die Lavage mit Taurolidin die Inzidenz makroskopischer Pankreaskarzinome, in tumorfreiem Pankreasgewebe war die LPO signifikant vermindert – Taurolin schützte normales Gewebe vor oxidativem Stress und verringerte das Tumorwachstum (Publikation 3). Die Inzidenz von Lebermetastasen konnte Taurolidin hingegen nicht beeinflussen, wenngleich auch in metastasenfreiem Lebergewebe das Ausmaß der LPO deutlich verringert war (Publikation 4). Die simultan signifikant erhöhte SOD-Aktivität bei unbeeinflusster GSH-Px-Aktivität in metastasenfreier Leber könnte zum Verlassen eines „balanced state“ der LPO geführt haben, wobei die Konzentration der Superoxidanionen erniedrigt und die Wasserstoffperoxid-Konzentration erhöht wird, was ausgesprochen membranschädigend sein kann (134,135). Nicht zuletzt können hohe SOD-Aktivitäten selbst zytotoxische Effekte haben (100,136). Auch der Zeitpunkt (16 Wochen nach Induktionsbeginn) und die Applikationsform und –dauer könnten verhindert haben, dass Taurolidin die Metastasierungsrate beeinflusst, hier wäre eine systemische Applikation über einen längeren Zeitraum sicher hilfreicher.

In der Literatur sind die antineoplastischen Effekte von Taurolidin einschließlich der Verbindung zum oxidativen Stress und zur LPO inzwischen gut belegt. So induzierte Taurolidin in mehreren Zelllinien des Malignen Melanoms Apoptose über den mitochondrialen Stress-Weg (137). Auch in malignen Mesotheliomzellen konnte die Taurolidin-induzierte, Sauerstoffstress-getriggerte Apoptoseinduktion gezeigt werden (53). In einer Plattenepithelkarzinom-Zelllinie des Ösophagus induzierte Taurolidin Apoptose mit nur noch 4% lebenden Zellen nach 28 Stunden; hier war sowohl die TNF-Rezeptor-assoziierte wie auch die mitochondriale Apoptose beteiligt, zudem wurde die Aktivierung von NFκB gehemmt (138). Chromik et al. haben in einer aktuellen Publikation zwei Pankreaskarzinomzelllinien, eine Kolonkarzinomzelllinie, eine HCC-Zelllinie und eine Fibrosarkomzelllinie jeweils *in-vitro* steigenden Taurolidin-Dosierungen ausgesetzt (139). In allen Zelllinien ließ sich eine ROS-assoziierte Apoptoseinduktion nachweisen, im Gegensatz zu den anderen Zelllinien zeigten beide Pankreaslinien einen proportionalen Dosiseffekt, wobei mit steigender Dosis auch der Nekroseanteil zunahm (139).

Das ebenfalls in der Laparoskopie-Studie getestete Somatostatinanalogon Octreotid kann direkte und indirekte Effekte haben. Grundsätzlich sind direkte Effekte rezeptorgekoppelt, wobei für Somatostatin (SST) fünf Rezeptor-Subtypen (SSTR Somatostatinrezeptor) beschrieben sind, die allesamt G-Protein-gekoppelte Transmembranrezeptoren mit 7 Transmembrandomänen sind und auf 5 verschiedenen Genen kodiert werden (140). Die fünf Subtypen vermitteln jedoch durchaus unterschiedliche biologische Aktionen, so kann die Adenylatzyklase sowohl inhibiert als auch aktiviert werden, ebenso der MAPK-Weg (140). Auch die intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentration kann je nach aktiviertem SSTR-Subtyp in beide Richtungen beeinflusst werden (140). Viele epitheliale Malignome exprimieren SSTR: Mamma-, Bronchial-, Nierenzell-, hepatozelluläres, kolorektales, Prostata-, Magen-, Ovarial- und auch Pankreaskarzinom (140,141). Somatostatin selbst wird dagegen von keinem der bisher untersuchten Karzinome synthetisiert (140). Auch Endothelzellen exprimieren nach „angiogenem Shift“, also während der Angiogenese, SSTR, aber kein SST (59). Die Differenzierung zwischen direkten, Rezeptor-vermittelten, und indirekten Aktionen ist mitunter schwierig, zumindest wurden in SSTR-negativen Tumoren SST-assoziiert antiangiogene, immunmodulative und Wachstumsfaktoren-inhibierende Wirkungen nachgewiesen, die in Ermangelung von SSTR ganz offensichtlich indirekt sein müssen (59).

Dagegen scheint die Induktion von Zellzyklusarrest und die Zellinvasionsinhibition via PI3-Kinase Rezeptor-vermittelt zu sein (141).

Auch für Somatostatin ist ähnlich wie für Taurolidin die Induktion von Apoptose über einen ROS-abhängigen oxidativen Stress-Weg inklusive Aktivierungshemmung von NFκB beschrieben (141). Es ist bis heute nicht hinlänglich untersucht, ob dieser Mechanismus direkter oder indirekter Natur ist (140,141).

Abgesehen von der Sauerstoff-Radikalen-abhängigen Apoptoseinduktion in Tumorzellen konnte für SST und Octreotid gezeigt werden, dass sie die LPO im Diaphragma septischer Ratten vermindern (142). Außerdem inhibierte Octreotid den sogenannten „respiratory burst“ in aktivierten Neutrophilen und Makrophagen, der eine wichtige Quelle für ROS ist (136,143). Diese Erkenntnisse schienen insbesondere unter Berücksichtigung der beim Pankreaskarzinom klinisch wie auch im BOP-Modell regelhaft zu beobachtenden peritumoralen Inflammation und der Bedeutung des Microenvironment, in dem eine häufig ausgeprägte Infiltration mit Zellen des Immunsystems beobachtet wird (88,144), interessant für weitere Untersuchungen. Hier zeigte sich erneut ein potentieller Zusammenhang zwischen der BOP-induzierten, Hochfetterernährung-getriggerten, vom oxidativen Stress und der LPO abhängigen Karzinogenese und Metastasierung im Hamstermodell und der Wirkweise eines Medikaments.

Die Ergebnisse einer Octreotidspülung während diagnostischer Laparoskopie im BOP-Modell waren jedoch enttäuschend (Publikationen 3 und 4). Weder konnte ein wachstumshemmender Effekt auf den Primärtumor noch auf die Lebermetastasen nachgewiesen werden. Im Gegenteil war die Inzidenz makroskopischer Pankreaskarzinome in der Octreotidgruppe höher als in den anderen beiden Gruppen (Publikation 3). Auch die Lipidperoxidation und die Aktivitäten der antioxidativen Schutzenzyme wurden in dieser Studie durch Octreotid nicht beeinflusst. Dieses völlige Versagen ist nur damit zu erklären, dass Octreotid keine Wirkungen an Oberflächen entfaltet, wie es im Rahmen einer intraoperativen Spülung bei Laparoskopie erforderlich gewesen wäre. Auch scheint, möglicherweise in Kombination mit der relativ kurzen Kontaktzeit, keine relevante Resorption aus der Peritonealhöhle in die Zirkulation stattgefunden zu haben. Im Gegensatz zu Taurolidin entfaltet Octreotid offensichtlich keinerlei Wirkung bezüglich einer

intraoperativen, Capnoperitoneum-getriggerten Tumorzellverschleppung, sondern ist auf eine andere Applikationsform angewiesen (Publikation 4).

Tatsächlich konnten wir zeigen, dass Octreotid bei langfristiger, regelmäßiger subkutaner Applikation die Inzidenz makroskopischer Pankreaskarzinome und die Anzahl und Größe der Lebermetastasen im BOP-Modell vermindert (145). In derselben Studie gelang der Nachweis von SSTR in den Lebermetastasen dieses Modells (145). Die Erniedrigung von Anzahl und Größe der Lebermetastasen war mit einer Erhöhung der Aktivitäten der antioxidativen Schutzenzyme in metastasenfreiem Lebergewebe vergesellschaftet, ebenso wurde dort die Lipidperoxidation gebremst, während sie in den Lebermetastasen signifikant erhöht wurde (146). Ähnlich wie Taurolidin scheint auch Octreotid zumindest in gewissem Ausmaß tumorfreie Gewebe vor einer gesteigerten Lipidperoxidation und oxidativem Stress schützen zu können. Wie die massive Steigerung der LPO in den Metastasen durch das Octreotid vermittelt wird, ist nicht klar – jedenfalls sind extrem hohe Level von oxidativem Stress und LPO auch für Tumorzellen toxisch (106,107). Da in den Lebermetastasen SSTR nachgewiesen wurden, kommen sowohl direkte wie auch indirekte Wirkungen in Betracht (145).

Octreotid bindet spezifisch an die SSTR2 und 4 (57-59). Demgegenüber bindet das neue Somatostatinanalogon SOM230 (Pasireotid) mit nahezu identischer Affinität an die SSTR1, 2, 3 und 5 (62-65). Der oben erwähnte Nachweis von SSTR in den Lebermetastasen des BOP-Modells war mittels Octreotid-Rezeptorzintigraphie geführt worden (145), somit war nur bekannt, dass der SSTR2 und/oder der SSTR4 exprimiert werden. Zudem waren auch indirekt vermittelte Wirkungen der SST-Analoga auf das Tumorwachstum und die Metastasierung denkbar. Somit untersuchten wir in der Folgestudie die Auswirkungen von Octreotid und SOM230 auf die Lebermetastasierung und die LPO im BOP-Modell, wobei wir zur kontinuierlichen und kontrolliert-dosierten Abgabe beider SST-Analoga nunmehr subkutan implantierte osmotische Mikropumpen verwendeten (Publikation 5).

Beide SST-Analoga erwiesen sich hinsichtlich der Erniedrigung der Inzidenz von Lebermetastasen als äquivalent und senkten die Lebermetastasenrate signifikant (Publikation 5). Sowohl Octreotid wie auch SOM230 erhöhten die GSH-Px-Aktivität und die SOD-Aktivität in metastasenfreiem Lebergewebe, verglichen mit der BOP-Kontrollgruppe (Publikation 5). Auf der anderen Seite wurde die Konzentration der

TBARS als Maß für die stattfindende LPO sowohl in metastasenfreiem Lebergewebe wie auch in den Lebermetastasen durch beide Substanzen im Vergleich zur BOP-Gruppe gesenkt, war aber immer noch signifikant höher als in der „gesunden“ Leber „gesunder“ Tiere (Aqua-Kontrolle). Möglicherweise wurde durch diese gegenläufigen Verschiebungen der „balanced state“ der LPO erreicht, was als Wirkung von SST-Analoga mehrfach in der Literatur beschrieben ist (136,142,143). Die unterschiedlichen Ergebnisse bezüglich der TBARS-Konzentration in den Lebermetastasen zwischen dieser Studie und der Vorstudie (146) könnten durch die verschiedenen Versuchslängen erklärt werden, da die Vorstudie im Gegensatz zur aktuellen, 32wöchigen Studie, nur insgesamt 24 Wochen lief (146, Publikation 5). Beide SST-Analoga waren offenbar in der Lage, in metastasenfreiem Lebergewebe eine bessere Äquivalenz zwischen radikalen Sauerstoffprozessen und oxidativem Stress mit konsekutiver LPO einerseits und antioxidativen Mechanismen andererseits herzustellen und über diesen Mechanismus die Lebermetastasierung zu beeinflussen. Nach Literaturlage sind noch zwei weitere, Rezeptor-vermittelte Wirkungen beider SST-Analoga denkbar. So haben Guillermet et al. eine SSTR2-vermittelte Aktivierung der Tyrosin-Phosphatase SHP-1 nachgewiesen, die humane Pankreaskarzinomzellen für Apoptose sensitivierte (147). Kumar et al. haben in mehreren Versuchsanordnungen gezeigt, dass es durch SSTR2-Aktivierung in verschiedenen Pankreaskarzinomzelllinien zu einer Erniedrigung von Proliferationsfaktoren wie VEGF und auch MMP-2 kommen kann (148-150).

Matrixmetalloproteinasen wie die MMP-2 sind Kalzium-abhängig sezernierte, partiell membrangebundene zinkabhängige Endopeptidasen, die als eine der Grundvoraussetzungen für Wachstum und Metastasierung maligner Neoplasien gelten (66). Beim Pankreaskarzinom geht die Synthese der dort zu findenden MMP-2, -9 und -13 insbesondere von aktivierten PSC im Microenvironment aus, die die MMP-Synthese via EMMPRIN steuern und unter anderem bei oxidativem Stress induzieren (68,70). Die beiden Gelatinasen A und B (MMP-2 und MMP-9) sind an der Initiierung und Progression der Metastasierung bei einer Vielzahl von malignen Neoplasien beteiligt (66). Auch bei der weiter oben beschriebenen perineuralen Invasion des Pankreaskarzinoms spielen MMP-2 und MMP-9 eine entscheidende Rolle (85).

In Bezug auf das Tiermodell des BOP-induzierten Pankreaskarzinoms im Syrischen Hamster mit Hochfett-Ernährung zur Steigerung der Lebermetastasierung sind MMP aus mehreren Gründen von Interesse. Spencer et al. haben nachgewiesen, dass *n*-6-PUFA in mehreren *in-vitro*-Modellen epithelialer Malignome die MMP-Synthese erhöhen; ein Effekt, der durch *n*-3-PUFA verhindert werden kann (110). Die einfach ungesättigte Ölsäure (C18:1*n*-9) hatte in Mammakarzinomzelllinien proinvasive Effekte, die durch eine MMP-9-Stimulation erklärt werden (151). Das Antioxidans  $\gamma$ -Tocotrienol verminderte das *in-vivo*- und *in-vitro*-Wachstum von Pankreaskarzinomzelllinien nicht nur über eine COX-2-Hemmung, sondern auch durch verminderte MMP-9-Synthese (128). Zudem sind beide Gelatinasen, MMP-2 und MMP-9, hochfrequent im Pankreaskarzinom überexprimiert (74-77) und synthetische MMPI inhibierten das Wachstum von Pankreaskarzinomzelllinien (78-80).

Daher sollte die Frage geklärt werden, ob der neue MMP-Inhibitor RO 28-2653, der hochspezifisch die MMP-2 und MMP-9 hemmt (152,153), unter den Bedingungen des *n*-6-PUFA-Hochfett-modulierten BOP-induzierten Pankreaskarzinoms im Syrischen Hamster die Lebermetastasierung beeinflusst.

Bei beiden verwendeten Dosierungen von RO 28-2653 trat eine signifikant niedrigere Lebermetastaseninzidenz als in den Kontrollgruppen auf (Publikation 6). Dieser Effekt war mit einer signifikanten Erniedrigung der MMP-2-Konzentration in den Lebermetastasen beider Therapiegruppen verbunden, während die MMP-2-Konzentration in metastasenfreiem Lebergewebe kaum beeinflusst wurde (Publikation 6). Grundsätzlich war in allen BOP-Gruppen die MMP-2-Konzentration in metastasenfreiem Lebergewebe signifikant niedriger als in den Lebermetastasen. Dies traf auch auf die MMP-9-Konzentration zu, die in den metastasenfrenen Leberanteilen aller Gruppen homogen und ausgesprochen niedrig war, während sie in den Lebermetastasen der BOP-Gruppen mindestens viermal höher als in den metastasenfrenen Leberanteilen war (Publikation 6). Nur die höhere Dosis RO 28-2653 konnte die MMP-9-Konzentration in den Lebermetastasen gegenüber den Lebermetastasen der anderen BOP-Gruppen signifikant absenken, während die niedrigere Dosis des MMPI keinen Effekt zeigte (Publikation 6).

Zudem ist erwähnenswert, dass die Hochfettdiät an sich wie auch die Kombination aus Hochfettdiät und BOP keinen signifikanten Einfluss auf die MMP-2- und die



MMP-9-Konzentration in metastasenfreiem Lebergewebe hatten, somit ist ein direkter Effekt von oxidativem Stress und LPO auf die MMP-Produktion „gesunden“ Lebergewebes unwahrscheinlich. Im Rahmen der Metastasierungskaskade ist es erforderlich, dass sich die metastasenbildenden Zellen unter anderem durch Zuhilfenahme von MMP im Zielorgan festsetzen und sich das für ihr Wachstum erforderliche Microenvironment schaffen (66,86,87). Dieser Vollzug der letzten Schritte der Metastasierungskaskade konnte durch den selektiven MMP-2- und MMP-9-Inhibitor RO 28-2653 offensichtlich effektiv beeinflusst werden.

Synthese und Ausblick.

Nitrosamine sind allgemein anerkannte Karzinogene im Pankreas. Eine Hochfetterernährung, insbesondere mit *n*-6-PUFA-reichen tierischen Fetten, erhöht das Risiko für die Entstehung eines Pankreaskarzinoms. Das hier verwendete Tiermodell des BOP-induzierten Pankreaskarzinoms mit modifizierter, *n*-6-PUFA-reicher Hochfetterernährung simuliert im besten Falle die Kombination zweier Faktoren, die auch in der Karzinogenese des humanen Pankreaskarzinoms eine bedeutende Rolle spielen.

Eine bedeutende Rolle kommt dabei dem oxidativen Stress und der Lipidperoxidation zu, beides kann durch BOP initiiert und durch die Hochfetterernährung kontinuierlich über die jeweiligen Versuchszeiträume unterhalten werden. Unserer Gruppe ist der Nachweis gelungen, dass der Ersatz der *n*-6-PUFA in der Hochfetterernährung durch *n*-3-PUFA das Tumorwachstum und die Metastasierung verringert und dass die Lipidperoxidation dabei einer der entscheidenden Mechanismen ist. Demgegenüber hat der Austausch der konventionellen Isoform der Linolsäure gegen ihre konjugierte Form keinen Vorteil. Abgesehen von epidemiologischen und präventionsmedizinischen Fragestellungen, die sich aus der Bedeutung der einzelnen PUFA-Serien bei der pankreatischen Karzinogenese ergeben, sollte klinisch geprüft werden, ob beim klinisch manifesten Pankreaskarzinom die Verwendung von hochdosierten *n*-3-PUFA, entweder als Therapeutikum oder im Rahmen der oft erforderlichen parenteralen (Zusatz-) Ernährung, das Tumorwachstum und die Metastasierung beeinflusst oder sogar Überlebensvorteile bringt.

Taurolidin kann unter bestimmten Bedingungen das Tumorwachstum beeinflussen, auch daran ist die Lipidperoxidation beteiligt. Klinisch sollte untersucht werden, ob bei Verwendung von Taurolidin anstelle der bisher üblichen Spüllösungen im Rahmen von diagnostischen Laparoskopien oder auch bei resezierenden und palliativen Eingriffen an Patienten mit einem Pankreaskarzinom ein Vorteil gewonnen werden kann.

Hinsichtlich der Somatostatinanaloga und Matrixmetalloproteinase-Inhibitoren ist die aktuelle Erkenntnislage schwierig. In einigen Studien konnte immerhin die Lebensqualität durch SSTA-Applikation verbessert werden (154,155), die Ergebnisse mit den MMPi Marimastat und Batimastat sind eher enttäuschend (156-158).

In zukünftigen klinischen Studien sollte untersucht werden, ob durch Kombinationen des Standardtherapeutikums Gemcitabine mit modernen SSTR-Universalliganden wie SOM230 und spezifischen MMP-2- und MMP-9-Inhibitoren wie RO 28-2653 ein besseres Ansprechverhalten des Pankreaskarzinoms oder eine Verlängerung der Überlebenszeit erreicht werden können.

#### 4. Zusammenfassung

Das Pankreaskarzinom ist ein häufiges Malignom des Gastrointestinaltraktes und trotz deutlicher Erkenntnisfortschritte hinsichtlich seiner Biologie noch immer mit einer ausgesprochen schlechten Prognose behaftet. Nur durch R0-Resektion lässt sich eine mittlere Überlebenszeit von 20-22 Monaten erreichen, in der palliativen Situation überleben die Patienten meist nur 8-10 Monate.

Für Untersuchungen zu Wachstum und Metastasierung des Pankreaskarzinoms sind zelluläre und tierexperimentelle Versuchsanordnungen unverzichtbar. Dabei weisen karzinogen-induzierte Tiermodelle den Vorteil auf, über einen definierten Zeitraum multiple Ereignisse auf mehreren biologischen Ebenen hervorzurufen und damit wie im Zeitraffer die Karzinogenese und idealerweise auch die Metastasierung nachzubilden. Das N-Nitrosobis-2-oxopropylamin-(BOP)-Modell des duktales Adenokarzinoms im Syrischen Hamster weist in vielerlei Hinsicht eine anerkannt gute Vergleichbarkeit mit dem häufigsten Typ des Pankreaskarzinoms im Menschen, dem duktales Adenokarzinom, auf. Durch Modifikation der Ernährung gelang uns die Steigerung der im Ausgangsmodell bei maximal 30-60% liegenden Lebermetastasierungsrate auf konstant mindestens 90%. Dabei wurde der Fettanteil der Nahrung auf mehr als 20% angehoben, wobei Linolsäure der Hauptbestandteil war. Oxidativer Stress und die Lipidperoxidation sind Mechanismen, über die sowohl die Nitrosamin-induzierte Karzinogenese als auch die Hochfettertnahrung ihre Wirkung entfalten, was durch Veränderungen in den Aktivitäten der antioxidativen Schutzenzyme GSH-Px und SOD und der TBARS-Konzentration als Maß für die Lipidperoxidation nachgewiesen werden konnte.

Für die konjugierte Form der Linolsäure waren in der Literatur im Gegensatz zur konventionellen Isoform eher wachstumshemmende Effekte auf Neoplasien beschrieben. Wir untersuchten daher den Einfluss beider Isoformen auf die Pankreaskarzinominzidenz und die intrapankreatische sowie intratumorale Lipidperoxidation. Dabei ließ sich weder hinsichtlich der Primärtumore noch der Lebermetastasen ein signifikanter Unterschied nachweisen.

Bei Patienten mit einem Pankreaskarzinom können in diagnostischer, kurativer und palliativer Absicht operative Eingriffe erforderlich werden. Die dabei regelhaft

erfolgende Spülung des Bauchraumes könnte je nach verwendeter Substanz Auswirkungen auf das Tumorwachstum und die Metastasierung haben. Wir simulierten daher nach BOP-Induktion eines Pankreaskarzinoms im Hamster eine diagnostische Laparoskopie, in deren Rahmen wir abschließend verschiedene Spüllösungen anwandten. Neben dem Standard mit 0,9%iger NaCl-Lösung wurde Taurolidin verwendet, das in tierexperimentellen Studien wachstumshemmende Effekte auf verschiedene Tumore gezeigt hatte. Zudem setzten wir das Somatostatinanalogon Octreotid ein, für das wir eine Beeinflussung von Größe und Anzahl der Lebermetastasen bei längerer subkutaner Applikation im BOP-Modell nachgewiesen hatten. In dieser Laparoskopie-Studie konnte nur Taurolidin eine signifikante Verringerung der Inzidenz makroskopischer Pankreaskarzinome mit begleitender Verringerung der Lipidperoxidation im Pankreas erreichen, Octreotid blieb wirkungslos. Die Lebermetastasierung wurde in diesem Versuchsaufbau von keiner der beiden Substanzen beeinflusst.

Octreotid bindet nur an zwei der fünf bekannten Somatostatinrezeptoren. Das neue Somatostatinanalogon SOM230 (Pasireotid) bindet hingegen mit nahezu identischer Affinität an vier Rezeptorsubtypen. Daher haben wir in der nächsten Studie Octreotid und SOM230 in ihren Wirkungen auf Wachstum und Metastasierung des BOP-induzierten Pankreaskarzinoms im Hamster verglichen, wobei wir zur kontinuierlichen und kontrolliert-dosierten Abgabe beider SST-Analoga subkutan implantierte osmotische Mikropumpen verwendeten. Beide Substanzen führten zu einer signifikanten Erniedrigung der Lebermetastasierungsrate, erhöhten die Aktivität der antioxidativen Schutzenzyme in der Leber und verringerten dort das Ausmaß der Lipidperoxidation.

Matrixmetalloproteinasen werden regelhaft von Pankreaskarzinomen exprimiert, deren Wachstum *in-vitro* durch MMP-Inhibitoren gehemmt werden konnte. Zudem ist nachgewiesen, dass bestimmte Fettsäuren – auch Linolsäure – die MMP-Produktion in Zelllinien epithelialer Tumore steigern kann. In der nächsten Studie untersuchten wir daher den Einfluss eines neuen MMP-Inhibitors, RO 28-2653, auf die Metastasierung des BOP-induzierten Pankreaskarzinoms. Zudem wurde in metastasenfremem Lebergewebe und in den Lebermetastasen die Konzentration der MMP-2 und der MMP-9 bestimmt. Durch beide von uns verwendete RO 28-2653-Dosierungen wurde die Lebermetastaseninzidenz signifikant gesenkt. Desweiteren

kam es zu einer signifikanten Erniedrigung der MMP-2-Konzentration in den Lebermetastasen, während die MMP-2-Konzentration in metastasenfreiem Lebergewebe faktisch nicht beeinflusst wurde.

Das hier verwendete Tiermodell kombiniert zwei Faktoren, die auch bei der Karzinogenese des humanen Pankreaskarzinoms eine bedeutende Rolle spielen: Nitrosamine und *n*-6-Fettsäuren in hoher Dosierung. Oxidativer Stress und die Lipidperoxidation sind sowohl an Tumorwachstum und Metastasierung wie auch bei der pharmakologischen Beeinflussung des Modells durch Taurolidin, Somatostatinanaloga und Matrixmetalloproteinase-Inhibitoren entscheidend beteiligt.

Die zukünftige klinische Forschung sollte einerseits im Rahmen der bei Pankreaskarzinompatienten oft erforderlichen parenteralen Ernährung auf *n*-6—Fettsäuren-reiche Lösungen verzichten und die Wirkungen von *n*-3-Fettsäuren-angereicherten Nährlösungen weiter eruieren. Andererseits muss die Wirkung von Taurolidin als intraoperativer Spüllösung bei Eingriffen an Patienten mit einem Pankreaskarzinom weiter untersucht werden. Schließlich sollte – nicht zuletzt angesichts der günstigen Nebenwirkungsprofile – in einer klinischen Phase-2-Studie die Kombination aus Gemcitabine, SOM230 und RO 28-2653 in adjuvanter und palliativer Situation geprüft werden.

## 5. Literaturangaben

1. Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010, 362: 1605-1617
2. Cascinu S, Jelic S. Pancreatic cancer: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009, 20(Suppl4): iv37-iv40
3. Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009, 6: 699-708
4. Li D, Abbruzzese JL. New strategies in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2010, 16: OF1-OF6
5. Jones S, Zhang X, Parsons DW, et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science* 2008, 321: 1801-1806
6. Jacobs EJ, Chanock SJ, Fuchs CS, et al. Family history of cancer and risk of pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium (PanScan). *Int J Cancer* 2010, 127: 1421-1428
7. Parsons CM, Sutcliffe JL, Bold RJ. Preoperative evaluation of pancreatic adenocarcinoma. *J HPB Surg* 2008, 15: 429-435
8. Duffy MJ, Sturgeon C, Lamerz R, et al. Tumor markers in pancreatic cancer: a european group on tumor markers (EGTM) status report. *Ann Oncol* 2010, 21: 441-447
9. Hines OJ, Reber HA. Pancreatic surgery. *Curr Opin Gastroenterol* 2009, 25: 460-465
10. Evans DB, Farnell MB, Lillemoe KD, et al. Surgical treatment of resectable and borderline resectable pancreas cancer: expert consensus statement. *Ann Surg Oncol* 2009, 16: 1736-1744
11. Abrams RA, Lowy AM, O'Reilly EM, et al. Combined modality treatment of resectable and borderline resectable pancreas cancer: expert consensus statement. *Ann Surg Oncol* 2009, 16: 1751-1756
12. Ghaneh P, Smith R, Tudor-Smith C, et al. Neoadjuvant and adjuvant strategies for pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol* 2008, 34: 297-305

13. Diener M, Heukaeufer C, Schwarzer G, et al. Pancreaticoduodenectomy (classic Whipple) versus pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (pp Whipple) for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma. Cochrane Database of Systematic Reviews 2008, Issue 2. Art. No.: CD006053. DOI: 10.1002/14651858.CD006053.pub2
14. Loos M, Kleeff J, Friess H, et al. Surgical treatment of pancreatic cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2008, 1138: 169-180
15. Garcea G, Dennisson AR, Pattenden CJ, et al. Survival following curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. A systematic review of the literature. *JOP J Pancreas* 2008, 9: 99-132
16. Rivera F, López-Tarruella S, Vega-Villegas E, et al. Treatment of advanced pancreatic cancer: from gemcitabine single agent to combinations and targeted therapy. *Cancer Treat Rev* 2009, 35: 335-339
17. Ding Y, Cravero JD, Adrian K, et al. Modeling pancreatic cancer in vivo. From xenograft and carcinogen-induced systems to genetically engineered mice. *Pancreas* 2010, 39: 283-292
18. Longnecker DS, Curphey TJ. Adenocarcinoma of the pancreas in azaserine-treated rats. *Cancer Res* 1975, 35: 2249-2258
19. Gingell R, Wallcave L, Nagel D, et al. Metabolism of the pancreatic carcinogens N-nitroso-bis(2-oxopropyl)amine and N-nitroso-bis(2-hydroxypropyl)amine in the syrian hamster. *J Natl Cancer Inst* 1976, 57: 1175-1178
20. Pour P, Althoff J, Gingell R, et al. A further pancreatic carcinogen in syrian golden hamsters: N-nitroso-bis(2-acetoxypropyl)amine. *Cancer Lett* 1976, 1: 197-202
21. Pour P, Mohr U, Cardesa A, et al. Pancreatic neoplasms in an animal model: morphological, biological and comparative studies. *Cancer* 1975, 36: 379-389
22. Chester JF, Gaissert HA, Ross JS, et al. Pancreatic cancer in the syrian hamster induced by N-nitroso-bis(2-oxopropyl)amine: cocarcinogenic effect of epidermal growth factor. *Cancer Res* 1986, 46: 2954-2957

23. Longnecker DS. Experimental cancer of the pancreas. *Curr Opin Gastroenterol* 1991, 7: 731-738
24. Meijers M, van Garderen-Hoetmer A, Lamers CB, et al. Role of cholecystokinin in the development of BOP-induced pancreatic lesions in hamsters. *Carcinogenesis* 1990, 11: 2223-2226
25. Wenger FA, Jacobi CA, Kilian M, et al. Does dietary  $\alpha$ -linolenic acid promote liver metastases in pancreatic carcinoma in syrian hamster? *Ann Nutr Metabol* 1999, 43: 121-126
26. Wenger FA, Kilian M, Jacobi CA, et al. Does  $\alpha$ -linolenic acid in combination with linoleic acid influence liver metastasis and hepatic lipid peroxidation in BOP-induced pancreatic cancer in syrian hamsters? *Prostaglandines Leukotrienes Essent Fatty Acids* 2000, 62: 329-334
27. Lupulescu AP. Control of precancer cell transformation into cancer cells: ist relevance to cancer prevention. *Cancer Detect Prev* 1996, 20: 634-637
28. Rose DP. Dietary fatty acids and cancer. *Am J Clin Nutr* 1997, 66: 998-1003
29. Rose DP. Effects of dietary fatty acids on breast and prostate cancers: evidence from in vitro experiments and animal studies. *Am J Clin Nutr* 1997, 66: 1513-1522
30. Appel MJ, Woutersen RA. Dietary fish oil (MaxEPA) enhances pancreatic carcinogenesis in azaserine treated rats. *Br J Cancer* 1996, 73: 36-43
31. Davies GR, Rampton DS. Eicosanoids: role in gastrointestinal inflammation and cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997, 9: 1033-1044
32. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Annal Biochem* 1979, 95: 351-358
33. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med* 1990, 9: 515-540
34. Belury MA. Conjugated dienoic linoleate: a polyunsaturated fatty acid with unique chemoprotective properties. *Nutr Rev* 1995, 53: 83-89



35. Schoenberg S, Krokan HE. The inhibitory effect of conjugated dienoic derivatives (CLA) of linoleic acid on the tumor growth of human tumor cell lines is in part due to increased lipid peroxidation. *Anticancer Res* 1995, 15: 1241-1246
36. Sebedio JL, Gnaedig S, Chardigny JM. Recent advances in conjugated linoleic acid research. *Curr Opin Clin Nutr Metabol Care* 1999, 2: 499-506
37. Basu S, Smedman A, Vessby B. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in humans. *FEBS Lett* 2000, 468: 33-36
38. Ip M, Masso-Welch PA, Shoemaker SF, et al. Conjugated linoleic acid inhibits proliferation and induces apoptosis of normal rat mammary epithelial cells in primary culture. *Exp Cell Res* 1999, 250: 22-34
39. Merchant NB, Conlon KC. Laparoscopic evaluation in pancreatic cancer. *Semin Surg Oncol* 1998, 15: 155-165
40. Catheline JM, Turner R, Rizk N, et al. The use of diagnostic laparoscopy supported by laparoscopic ultrasonography in the assessment of pancreatic cancer. *Surg Endosc* 1999, 13: 239-245
41. Reddy KR, Levi J, Livingstone A, et al. Experience with staging laparoscopy in pancreatic malignancy. *Gastrointest Endosc* 1999, 49: 498-503
42. Mayo SC, Austin DF, Sheppard BC, et al. Evolving preoperative evaluation of patients with pancreatic cancer: does laparoscopy have a role in the current era? *J Am Coll Surg* 2009, 208: 87-95
43. Nduka CC, Monson JRT, Menzies-Gow N. Abdominal metastases following laparoscopy. *Br J Surg* 1994, 81: 648-652
44. Jorgensen JO, McCall JL, Morris DL. Port site seeding after laparoscopic ultrasonographic staging of pancreatic carcinoma. *Surgery* 1995, 117: 118-119
45. Watson DI. Abdominal wall metastasis after laparoscopic gastroenterostomy. *Med J Aust* 1995, 163: 106-107
46. Jacobi CA, Sabat R, Böhm B, et al. Pneumoperitoneum with carbon dioxide stimulates growth of malignant colonic cells. *Surgery* 1997, 121: 72-78

47. Neuhaus SJ, Watson DI, Ellis T, et al. Wound metastasis after laparoscopy with different insufflation gases. *Surgery* 1998, 123: 579-583
48. Jacobi CA, Sabat R, Ordemann J, et al. Peritoneal instillation of taurolidine and heparin for preventing intraperitoneal tumor growth and trocar metastases in laparoscopic operations in the rat model. *Langenbecks Arch Chir* 1997, 382: 31-36
49. Wenger FA, Jacobi CA, Kilian M, et al. The impact of laparoscopic biopsy of pancreatic lymph nodes with helium and carbon dioxide on port site and liver metastasis in BOP-induced pancreatic cancer in hamster. *Clin Exp Metast* 2000, 18: 11-14
50. Bedrosian I, Sofia RD, Wolff SM, et al. Taurolidine, an analogue of the amino acid taurine, suppresses interleukin 1 and tumor necrosis factor synthesis in human peripheral blood mononuclear cells. *Cytokine* 1991, 3: 568-575
51. Jacobi CA, Ordemann J, Böhm B, et al. Inhibition of peritoneal tumor cell growth and implantation in laparoscopic surgery in a rat model. *Am J Surg* 1997, 174: 359-363
52. Neuhaus SJ, Watson DI, Ellis T, et al. Efficacy of cytotoxic agents for the prevention of laparoscopic port-site metastases. *Arch Surg* 1998, 133: 762-766
53. Aceto N, Bertino P, Barbone D, et al. Taurolidine and oxidative stress: a rationale for local treatment of mesothelioma. *Eur Respir J* 2009, 34: 1399-1407
54. Wenger FA, Kilian M, Mautsch I, et al. Influence of octreotide and tamoxifen on tumor growth and liver metastasis in N-nitroso-bis(2oxopropyl)amine-induced pancreatic cancer in syrian hamsters. *Horm Res* 2000, 54: 74-77
55. Wenger FA, Kilian M, Jacobi CA, et al. Effects of octreotide on liver metastasis and intrametastatic lipid peroxidation in experimental pancreatic cancer. *Oncology* 2001, 60: 282-288
56. Wenger FA, Kilian M, Mautsch I, et al. Effects of octreotide on liver metastasis and hepatic lipid peroxidation in BOP-induced pancreatic cancer in syrian hamsters. *Pancreas* 2001, 23: 266-272

57. Li M, Wang X, Li W, et al. Somatostatin receptor-1 induces cell-cycle arrest and inhibits tumor growth in pancreatic cancer. *Cancer Sci* 2008, 11: 2218-2223
58. Lamberts SWJ, van der Lely AJ, Hofland LJ. New somatostatin analogs: will they fulfill old promises? *Eur J Endocrinol* 2002, 146: 701-705
59. Appetecchia M, Baldelli R. Somatostatin analogues in the treatment of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours, current aspects and new perspectives. *J Exp Clin Cancer Res* 2010, 29: 19
60. Adams RL, Adams IP, Lindow SW, et al. Somatostatin receptors 2 and 5 are preferentially expressed in proliferating endothelium. *Br J Cancer* 2005, 92: 1493-1498
61. Nayak TK, Atcher RW, Prossnitz ER. Enhancement of somatostatin-receptor-targeted (177)Lu-[DOTA(0)-Tyr(3)]-octreotide therapy by gemcitabine pretreatment-mediated receptor uptake, up-regulation and cell cycle modulation. *Nucl Med Biol* 2008, 35: 673-678
62. Pasquali D, Rossi U, Conzo G, et al. Effects of somatostatin analogue SOM-230 on cell proliferation, apoptosis and catecholamine levels in cultured pheochromocytoma cells. *J Mol Endocrinol* 2008, 40: 263-271
63. Hoek J, Herder WW, Feelders RA, et al. A single dose comparison of the acute effects between the new somatostatin analog SOM-230 and octreotide in acromegalic patients. *J Clin Endocrinol Metabol* 2004, 89: 638-645
64. Lewis I, Bauer W, Albert R, et al. A novel somatostatin mimic with broad somatotropin release inhibitory factor binding and superior therapeutic potential. *J Med Chem* 2003, 46: 2334-2344
65. Schmid HA, Schoeffter P. Functional activity of the multiligand analog SOM-230 at human recombinant somatostatin receptor subtypes supports its usefulness in neuroendocrine tumours. *Neuroendocrinology* 2004, 80(suppl1): 47-50
66. Chiang AC, Massagué J. Molecular basis of metastasis. *New Engl J Med* 2008, 359: 2814-2823
67. Whipple C, Korc M. Targeting angiogenesis in pancreatic cancer: rationale and pitfalls. *Langenbecks Arch Surg* 2008, 393: 901-910

68. Masamune A, Shimosegawa T. Signal transduction in pancreatic stellate cells. *J Gastroenterol* 2009, 44: 249-260
69. Kleeff J, Beckhove P, Esposito I, et al. Pancreatic cancer microenvironment. *Int J Cancer* 2007, 121: 699-705
70. Vonlaufen A, Phillips PA, Xu Z, et al. Pancreatic stellate cells and pancreatic cancer cells: an unholy alliance. *Cancer Res* 2008, 68: 7707-7710
71. Phillips PA, Wu MJ, Kumar RK, et al. Cell migration: a novel aspect of pancreatic stellate cell biology. *Gut* 2003, 52: 677-682
72. Phillips PA, McCarroll JA, Park S, et al. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: implications for extracellular matrix turnover. *Gut* 2003, 52: 275-282
73. Kabashima A, Higuchi H, Takaishi H, et al. Side population of pancreatic cancer cells predominates in TGF- $\beta$ -mediated epithelial to mesenchymal transition and invasion. *Int J Cancer* 2009, 124: 2771-2779
74. Qian X, Rothmann VL, Nicosia RF, et al. Expression of Thrombospondin-1 in human pancreatic adenocarcinoma: role in matrix metalloproteinase-9 production. *Pathol Oncol Res* 2001, 7: 251-259
75. Zervos EE, Shafil AE, Rosemurgy AS. Matrix metalloproteinase (MMP) inhibition selectively decreases type II MMP activity in a murine model of pancreatic cancer. *J Surg Res* 1999, 81: 65-68
76. Koshiba T, Hosotani R, Wada M, et al. Involvement of matrix metalloproteinase-2 activity in invasion and metastasis of pancreatic carcinoma. *J Am Cancer Soc* 1998, 10: 642-650
77. Zervos EE, Shafil AE, Haq M, et al. Matrix metalloproteinase inhibition suppresses MMP-2 activity and activation of Panc-1 cells in vitro. *J Surg Res* 1999, 84: 162-167
78. Zervos EE, Norman JG, Gower WR, et al. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates human pancreatic cancer growth in vitro and decreases mortality and tumorigenesis in vivo. *J Surg Res* 1997, 69: 467-371

79. Matsushita A, Onda M, Uchida E, et al. Antitumor effect of a new selective matrix metalloproteinase inhibitor, MMI-166, on experimental pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2001, 92: 434-440
80. Jimenez R, Hartwig W, Antoniu BA, et al. Effect of matrix metalloproteinase inhibition on pancreatic cancer invasion and metastasis. *Ann Surg* 2000, 231: 644-654
81. Adrian TE. Inhibition of pancreatic cancer cell growth. *Cell Mol Life Sci* 2007, 64: 2512-2521
82. Korc M. Pancreatic cancer-associated stroma production. *Am J Surg* 2007, 194: S84-S86
83. Sergeant G, Vanekelecom H, Gremeaux, et al. Role of cancer stem cells in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nature Rev Clin Oncol* 2009, 6: 580-586
84. Ischenko I, Seeliger H, Jauch KW, et al. Metastatic activity and chemotherapy resistance in human pancreatic cancer – influence of cancer stem cells. *Surgery* 2009, 146: 430-434
85. Liebig C, Ayalo G, Wilks JA, et al. Perineural invasion in cancer. A review of the literature. *Cancer* 2009, 115: 3379-3391
86. Huysentruyt LC, Seyfried TN. Perspectives on the mesenchymal origin of metastatic cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2010, 29: 695-707
87. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000, 100: 57-70
88. Guturu P, Shah V, Urrutia R. Interplay of tumor microenvironment cell types with parenchymal cells in pancreatic cancer development and therapeutic implications. *J Gastrointest Cancer* 2009, 40: 1-9
89. Sprenger CC, Plymate SR, Reed MJ. Aging-related alterations in the extracellular matrix modulate the microenvironment and influence tumor progression. *Int J Cancer* 2010, 127: 2739-2748
90. Lu X, Kang Y. Hypoxia and hypoxia-inducible factors (HIFs): master regulators of metastasis. *Cancer Res* 2010 Oct 20, online published ahead: DOI10.1158/1078-0432.CCR-10-1360

91. Greenhough A, Smartt HJM, Moore AE, et al. The COX-2/PGE<sub>2</sub> pathway: key roles in the hallmarks of cancer and adaptation to the tumour microenvironment. *Carcinogenesis* 2009, 30: 377-386
92. Bartsch H, Hietanen E, Malaveille C. Carcinogenic nitrosamines: free radical aspects of their action. *Free Radic Biol Med* 1989, 7: 637-644
93. Loeppky RN, Li YE. Nitrosamine activation and detoxication through free radicals and their derived cations. *IARC Sci Publ* 1991, 105: 314-321
94. O'Shea M, Stanton C, Devery R. Antioxidant enzyme defence responses of human MCF-7 and SW480 cancer cells to conjugated linoleic acid. *Anticancer Res* 1999, 19: 1953-1960
95. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ Carol Med* 1990, 115: 2320-2332
96. Cheeseman KH. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol Asp Med* 1993, 14: 191-197
97. Lafrenie R, Shaughnessy SG, Orr FW. Cancer cell interactions with injured or activated endothelium. *Cancer Metastasis Rev* 1992, 11: 377-388
98. Hill GE, Whitten CW. The role of the vascular endothelium in inflammatory syndromes, and the propagation of the disease. *J Cardiothoracic Vasc Anesth* 1997, 11: 316-321
99. Schimke I, Griesmacher A, Weigel G, et al. Effects of reactive oxygen species on eicosanoid metabolism in human endothelial cells. *Prostaglandins* 1992, 43: 281-292
100. Benzie IF. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *Int J Food Sci Nutr* 1996, 47: 233-261
101. Farrow B, Evers BM. Inflammation and the development of pancreatic cancer. *Surg Oncol* 2002, 10: 153-169
102. Mufti SI, Eskelson CD, Odeleye OE, et al. Effects of polyunsaturated fatty acids on carcinogenesis in animal models. *Alcohol Alcohol* 1993, 28: 621-628

103. Odeleye OE, Watson RR, Eskelson CD, et al. Dietary polyunsaturated fatty acids promote peroxidation and its possible role in the promotion of cancer. *Adv Exp Med Biol* 1991, 283: 789-791
104. Dreher D, Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur J Cancer* 1996, 32: 30-38
105. Dianzani MU. Lipid peroxidation and cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 1993, 15: 125-147
106. Rysman E, Brusselmans K, Scheys K, et al. De novo lipogenesis protects cancer cells from free radicals and chemotherapeutics by promoting lipid saturation. *Cancer Res* 2010 Sept 28; online published ahead DOI10.1158/0008-5472.CAN-09-3871
107. Horrobin DF. Essential fatty acids, lipidperoxidation and cancer. In: Horrobin DF (ed.):  $\omega$ -6 Essential fatty acids. Wiley-Liss New-York, 1990, pp 351-378
108. Boutros C, Somasundar P, Razzak A, et al. Omega-3 fatty acids. Investigations from cytokine regulation to pancreatic cancer gene suppression. *Arch Surg* 2010, 145: 515-520
109. Panigrahy D, Kaipainen A, Greene ER, et al. Cytochrome P450-derived eicosanoids: the neglected pathway in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2010, 29: 723-735
110. Spencer L, Mann C, Metcalfe M, et al. The effect of omega-3 FAs on tumour angiogenesis and their therapeutic potential. *Eur J Cancer* 2009, 45: 2077-2086
111. Comba A, Pasqualini ME. Primers on molecular pathways – lipoxygenases: their role as an oncogenic pathway in pancreatic cancer. *Pancreatology* 2009, 9: 724-728
112. Rose DP, Connolly J. Regulation of tumor angiogenesis by dietary fatty acids and eicosanoids. *Nutr Cancer* 2000, 37: 119-127
113. Park KS, Lim JW, Kim H. Inhibitory mechanism of omega-3 fatty acids in pancreatic inflammation and apoptosis. *Ann N Y Acad Sci* 2009, 1171: 421-427

114. Swamy MV, Citineni B, Patlolla JMR, et al. Prevention and treatment of pancreatic cancer by curcumin in combination with omega-3 fatty acids. *Nutr Cancer* 2008, 60: 81-89
115. Hering J, Garrean S, Dekoj TR, et al. Inhibition of proliferation by omega-3 fatty acids in chemoresistant pancreatic cancer cells. *Ann Surg Oncol* 2007, 14: 3620-3628
116. Gregor JI, Heukamp I, Kilian M, et al. Does enteral nutrition of dietary polyunsaturated fatty acids promote oxidative stress and tumour growth in ductal pancreatic cancer? Experimental trial in syrian hamster. *Prostaglandins Leukotr Essent Fatty Acids* 2006, 74: 67-74
117. Heukamp I, Gregor JI, Kilian M, et al. Influence of different dietary fat intake on liver metastasis and hepatic lipid peroxidation in BOP-induced pancreatic cancer in syrian hamsters. *Pancreatology* 2006, 6: 96-102
118. Heukamp I, Kilian M, Gregor JI, et al. Impact of polyunsaturated fatty acids on hepato-pancreatic prostaglandin and leukotriene concentration in ductal pancreatic cancer – is there a correlation to tumour growth and liver metastasis? *Prostaglandins Leukotr Essent Fatty Acids* 2006, 74: 223-233
119. Cheon EC, Strouch MJ, Barron MR, et al. Alteration of strain background and a high omega-6 fat diet induces earlier onset of pancreatic neoplasia in EL-Kras transgenic mice. *Int J Cancer* 2010 Aug 19, online published ahead, PMID: 20725998
120. Wang F, Kumagai-Braesch M, Herrington MK, et al. Increased lipid metabolism and cell turnover of MIAPaCa2 cells induced by high-fat diet in an orthotopic system. *Metabol Clin Exp* 2009, 58: 1131-1136
121. Funahashi H, Satake M, Hasan S, et al. Opposing effects of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on pancreatic cancer growth. *Pancreas* 2008, 36: 353-362
122. Matsuoka T, Adair JE, Lih FB, et al. Elevated dietary linoleic acid increases gastric carcinoma cell invasion and metastasis in mice. *Br J Cancer* 2010, 103: 1182-1191



123. Wenger FA, Kilian M, Achucarro P, et al. Effects of celebrex and zyflo on BOP-induced pancreatic cancer in syrian hamster. *Pancreatology* 2002, 2: 54-60
124. Wenger FA, Kilian M, Bisevac M, et al. Effects of celebrex and zyflo on liver metastasis and lipidperoxidation in pancreatic cancer in syrian hamsters. *Clin Exp Metast* 2002, 19: 681-687
125. Gregor JI, Kilian M, Heukamp I, et al. Effects of selective COX-2 and 5-LOX inhibition on prostaglandin and leukotrien synthesis in ductal pancreatic cancer in syrian hamster. *Prostaglandins Leukotr Essent Fatty Acids* 2005, 73: 89-97
126. Wenger FA, Kilian M, Ridders J, et al. Influence of antioxidative vitamins A, C and E on lipid peroxidation in BOP-induced pancreatic cancer in syrian hamsters. *Prostaglandins Leukotr Essent Fatty Acids* 2001, 65: 165-171
127. Heukamp I, Kilian M, Gregor JI, et al. Effects of the antioxidatice vitamins A, C and E on liver metastasis and intrametastatic lipid peroxidation in BOP-induced pancreatic cancer in syrian hamsters. *Pancreatology* 2005, 5: 403-409
128. Kunnumakkara AB, Sung B, Ravindran J, et al.  $\gamma$ -Tocotrienol inhibits pancreatic tumors and sensitizes them to gemcitabine treatment by modulating the inflammatory microenvironment. *Cancer Res* 2010 Oct 19, online published ahead, PMID: 20864511
129. Neary PM, Hallihan P, Wang JH, et al. The evolving role of taurolidine in cancer therapy. *Ann Surg Oncol* 2010, 17: 1135-1143
130. Möhler T, Willhauck-Fleckenstein M, Schwartz-Albiez R, et al. Inhibition of endothelial cell adhesion and in vitro angiogenesis by taurolidine. *Cancer Ther* 2008, 6: 623-628
131. Rodak R, Kubota H, Ishihara H, et al. Induction of reactive oxygen intermediates-dependent programmed cell death in human malignant ex vivo glioma cells and inhibition of the vascular endothelial growth factor production by taurolidine. *J Neurosurg* 2005, 102: 1055-1068
132. Han Z, Ribbizi I, Pantazis P, et al. The antibacterial drug taurolidine induces apoptosis by a mitochondrial cytochrome  $c$ -dependent mechanism. *Anticancer Res* 2002, 22: 1959-1964

133. Brüne B. NO apoptosis or turning it ON? *Cell Death Differ* 2003, 10: 864-869
134. DeHaan JB, Christiano F, Janello R, et al. Elevation in the ratio of Cu/Zn superoxide dismutase to glutathione peroxidase activity induces features of cellular senescence and this effect is mediated by hydrogen peroxide. *Human Molec Genet* 1996, 5: 283-292
135. Oberley TD, Oberley LW. Antioxidant enzyme levels in cancer. *Histol Histopathol* 1997, 12: 525-535
136. Niedermühlbichler M, Wiedermann CJ. Suppression of superoxide release from human monocytes by somatostatin related peptides. *Regul Pept* 1992, 41: 39-47
137. Sun BS, Wang JH, Liu LL, et al. Taurolidine induces apoptosis of murine melanoma cells in vitro and in vivo by modulation of the Bcl-2 family proteins. *J Surg Oncol* 2007, 96: 241-248
138. Daigeler A, Chromik AM, Geisler A, et al. Synergistic apoptotic effects of taurolidine and TRAIL on squamous carcinoma cells of the esophagus. *Int J Oncol* 2008, 32: 1205-1220
139. Chromik AM, Daigeler A, Bulut D, et al. Comparative analysis of cell death induction by taurolidine in different malignant human cancer cell lines. *J Exp Clin Cancer Res* 2010, 29: 21
140. Volante M, Rosas R, Allía E, et al. Somatostatin, cortistatin and their receptors in tumours. *Mol Cell Endocrinol* 2008, 286: 219-229
141. Pyronnet S, Bousquet C, Najib S, et al. Antitumor effects of somatostatin. *Mol Cell Endocrinol* 2008, 286: 230-237
142. Arias Diaz J, Vara E, Torres Melero J, et al. Local production of oxygen free radicals and nitric oxide in rat diaphragm during sepsis: effects of pentoxifylline and somatostatine. *Eur J Surg* 1997, 163: 619-625
143. Wiedermann CJ, Reinisch N, Niedermühlbichler M, et al. Inhibition of recombinant human growth hormone induced and prolactin induced activation of neutrophils by octreotide. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1993, 347: 336-341

144. Farrow B, Albo D, Berger DH. The role of tumor microenvironment in the progression of pancreatic cancer. *J Surg Res* 2008, 149: 319-328
145. Wenger FA, Kilian M, Mautsch I, et al. Influence of octreotide and tamoxifen on tumor growth and liver metastasis in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced pancreatic cancer in syrian hamsters. *Horm Res* 2000, 54: 74-77
146. Wenger FA, Kilian M, Jacobi CA, et al. Effects of octreotide on liver metastasis and intrametastatic lipid peroxidation in experimental pancreatic cancer. *Oncology* 2001, 60: 282-288
147. Guillermet J, Saint-Laurent N, Rochaix P, et al. Somatostatin receptor subtype 2 sensitizes human pancreatic cancer cells to death ligand-induced apoptosis. *PNAS* 2003, 100: 155-160
148. Kumar M, Liu ZR, Thapa L, et al. Antiangiogenic effect of somatostatin receptor subtype 2 on pancreatic cancer cell line: inhibition of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-2 expression in vitro. *World J Gastroenterol* 2004, 10: 393-399
149. Kumar M, Liu ZR, Thapa L, et al. Mechanisms of inhibition of growth of human pancreatic carcinoma implanted in nude mice by somatostatin receptor subtype 2. *Pancreas* 2004, 29: 141-151
150. Kumar M, Liu ZR, Thapa L, et al. Anti-angiogenic effects of somatostatin receptor subtype 2 on human pancreatic cancer xenografts. *Carcinogenesis* 2004, 25: 2075-2081
151. Soto-Guzman A, Navarro-Tito N, Castro-Sanchez L, et al. Oleic acid promotes MMP-9 secretion and invasion in breast cancer cells. *Clin Exp Metast* 2010, 27: 505-515
152. Coussens LM, Fingleton B, Matrisian LM, et al. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science* 2002, 295: 2387-2392
153. Overall CM, Lopez-Otin C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nature Rev* 2002, 2: 657-672

154. Fazenly B, Baur M, Prohaska M, et al. Octreotide combined with goserelin in the therapy of advanced pancreatic cancer – results of a pilot study and review of the literature. *J Cancer Res Clin Oncol* 1997, 123: 45-52
155. Schally AV. New approaches to the therapy of various tumors based on peptide analogues. *Horm Metab Res* 2008, 40: 315-322
156. Bramhall SR, Hallissey MT, Whiting J, et al. Marimastat as maintenance therapy for patients with advanced gastric cancers: a randomised trial. *Br J Cancer* 2002, 86: 1864-1870
157. Zucker S, Cao J, Chen WT. Critical appraisal of the use of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer treatment. *Oncogene* 2000, 19: 6642-6650
158. Fingleton B. Matrix metalloproteinase inhibitors for cancer therapy: the current situation and future prospects. *Exp Opin Ther Targets* 2003, 7: 385-397

## Danksagung

An erster Stelle möchte ich meiner Lebensgefährtin Katharina Busch danken, die das mitunter schmerzhafteste Werden dieser Arbeit mit großer Liebe und unendlicher Geduld unterstützt und begleitet hat. Ohne ihren nie in Frage stehenden Rückhalt wäre das nicht möglich gewesen.

Ich danke meinem chirurgischen Lehrer und Klinikdirektor über fast 10 Jahre, Herrn Professor Dr. J. M. Müller. Das Verhältnis eines Chirurgen zu seinem Lehrer war schon immer etwas Besonderes und wird es aus meiner Sicht auch immer bleiben. Ohne seine nimmermüde Unterstützung wäre weder diese Arbeit entstanden noch wäre ich Chirurg geworden.

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Schwenk für viele Jahre klinischer Zusammenarbeit, in denen ich auch von seinem wissenschaftlichem Verständnis profitieren und menschlich wie chirurgisch an ihm wachsen durfte.

Ich danke allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe, ohne deren aufopfernden Fleiß kein einziges Manuskript hätte entstehen können. Insbesondere möchte ich Herrn Professor Dr. I. Schimke und Herrn Prof. Dr. H. Guski danken, ohne deren profunde biochemische und pathologische Expertise unsere Forschung kaum möglich geworden wäre.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern, dass sie mir den Weg in die Medizin ermöglicht und diesen wie mein ganzes Leben begleitet haben. Ex ungue leonem.

## Erklärung

-gemäß §4 Abs. 3(k) HabOMed der Charité-

Hiermit erkläre ich, dass

-weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,

-die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen/Wissenschaftlern und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,

-mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

---

Datum

---

Unterschrift