

Aus der Klinik für Chirurgie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss der perineuralen Infiltration auf die Therapie und  
klinische Prognose des duktaalen Pankreasadenokarzinoms  
The influence of perineural infiltration on therapy and clinical  
prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Flora Theresa Lindhammer

aus Berlin-Friedrichshain

Datum der Promotion: 30.06.2024

## Vorwort

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht im *Journal of Clinical Medicine*, 2022 Apr 23;11(9):2367 unter dem Titel „Perineural Invasion in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC): A Saboteur of Curative Intended Therapies?“.

Daran beteiligt waren: Matthäus Felsenstein, Flora Lindhammer, Mathilde Feist, Karl Herbert Hillebrandt, Lea Timmermann, Christian Benzing, Brigitta Globke, Dario Zocholl, Mengwen Hu, Uli Fehrenbach, Bruno Valentin Sinn, Uwe Pelzer, Igor Maximillian Sauer, Johann Pratschke, Thomas Malinka

# 1 Inhaltsverzeichnis

## Inhalt

1	Inhaltsverzeichnis .....	3
2	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis .....	5
2.1	Tabellenverzeichnis.....	5
2.2	Abbildungsverzeichnis.....	6
3	Abkürzungsverzeichnis .....	7
4	Zusammenfassung .....	9
5	Einleitung.....	11
5.1	Das Pankreasadenokarzinom (PDA).....	11
5.2	Therapie des PDAs .....	14
5.3	Anatomische Besonderheiten und Ausbreitung des PDAs.....	18
5.3.1	Histologie des Pankreas .....	21
5.4	Histopathologische Klassifikation .....	22
5.4.1	TNM-Klassifikation .....	22
5.5	Rekurrenz und Bedeutung der Perineuralscheideninfiltration.....	26
5.6	Mechanismus der Perineuralscheideninvasion .....	28
5.6.1	Zelluläre Faktoren .....	29
5.6.2	Molekulare Faktoren .....	31
5.7	Fragestellung/Hypothese.....	34
6	Material und Methoden .....	36
6.1	Studiendesign.....	36
6.2	Studienparameter .....	38
6.2.1	Histopathologische Befunde .....	40
6.3	Statistische Auswertung .....	41
7	Ergebnisse.....	42
7.1	Charakterisierung des eingeschlossenen Patientenkollektivs .....	42
7.2	PNI korreliert mit Tumormasse und schlechter Prognose .....	45
7.2.1	Klinische und histopathologische Prädiktoren für das Gesamt- (OS) und krankheitsfreie (DFS) Überleben.....	49
7.3	Die Auswirkung der R0-Resektion auf das OS und DFS.....	51

7.4	Der Einfluss adjuvanter und neoadjuvanter Chemotherapie auf das OS und DFS .....	55
7.5	Patienten mit Langzeitüberleben nach Resektion .....	58
8	Diskussion .....	62
8.1	Die perineurale Invasion - eine ubiquitär vorliegende Erscheinung des PDAs? ... ..	62
8.2	Einfluss der perineuralen Invasion auf die Prognose.....	65
8.3	Der perineurale Status im Kontext der histopathologischen Gesamtbeurteilung drauf .....	68
8.4	Die Bedeutung der neo-/ adjuvanter Chemotherapien in Abhängigkeit der perineuralen Invasion .....	71
8.5	Die große Hürde der kurativen Resektion und ihr Einfluss auf das Langzeitüberleben.....	75
8.6	Aktuelle Ansätze und Entwicklungen zur gezielten Diagnostik und Therapie der perineuralen Dissemination.....	77
9	Literaturverzeichnis.....	79
10	Eidesstaatliche Versicherung.....	90
11	Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen .....	91
12	Lebenslauf .....	92
13	Publikationsliste .....	93
14	Danksagung.....	94
15	Bescheinigung des Instituts für Statistik .....	95

## 2 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

### 2.1 Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1:</b> PDA-Risiko assoziierte Gene und Syndrome [7].....	13
<b>Tab. 2:</b> ABC-Kriterien der Resektabilität.* .....	17
<b>Tab. 3:</b> Aktuelle TNM-Klassifikation.* .....	22
<b>Tab. 4:</b> Ergänzende Parameter der TNM-Klassifikation.* .....	23
<b>Tab. 5:</b> UICC-Stadien.* .....	24
<b>Tab. 6:</b> Anteilsübersicht an Abbildungen und Tabellen. ....	37
<b>Tab. 7:</b> Erfasste Daten aus SAP und GTDS.....	38
<b>Tab. 8:</b> Erfasste Daten aus den Pathologieberichten. ....	38
<b>Tab. 9:</b> 8. und 7. Ausgabe der UICC-Stadieneinteilung im Vergleich. [66, 133].....	40
<b>Tab. 10:</b> Patientencharakteristika der Gesamtkohorte.* .....	44
<b>Tab. 11:</b> Histopathologischer Tumorstatus der Pn0- und Pn1-Gruppe.* .....	46
<b>Tab. 12:</b> Logistische Regressionsanalyse von verschiedenen Variablen und ihr Einfluss auf die perineurale Invasion. [135].....	48
<b>Tab. 13:</b> Multivariablen-Cox-Regressions-Analyse zum Gesamtüberleben. [135] .....	50
<b>Tab. 14:</b> Multivariablen-Cox-Regressions-Analyse zum krankheitsfreien Überleben.[135] .....	50
<b>Tab. 15:</b> Chemotherapeutische Behandlung des Patientenkollektivs.....	56
<b>Tab. 16:</b> Patientencharakteristika der Langzeitüberlebenden (über 5 Jahre). ....	60
<b>Tab. 17:</b> Histopathologische Begutachtung der Langzeitüberlebenden (über 5 Jahre). 61	

## 2.2 Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 1:</b> Darstellung der anatomischen Lagebeziehung des Pankreas.* .....	20
<b>Abb. 2:</b> Darstellung der vegetativen Innervation des Pankreas durch die Ganglia coeliaca.* .....	20
<b>Abb. 3:</b> Histologische Bilder des gesunden Pankreas.* .....	21
<b>Abb. 4:</b> Histologische Bilder des pathologisch veränderten Pankreas.* .....	21
<b>Abb. 5:</b> Markierung der zirkumferenten Resektionsränder am OP-Präparat.* .....	25
<b>Abb. 6:</b> Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben der resezierten PDA-Patienten (Pn0 vs. Pn1). <b>(A)</b> Gesamtüberleben der Pn0 und Pn1 Gruppe. <b>(B)</b> Krankheitsfreies Überleben der Pn0 und Pn1 Gruppe. [135].....	47
<b>Abb. 7:</b> Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben von resezierten PDA-Patienten (R0 vs. R1). <b>(A)</b> Gesamtüberleben von resezierten PDA-Patienten. <b>(B)</b> Krankheitsfreies Überleben von resezierten PDA-Patienten. ....	52
<b>Abb. 8:</b> Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben von PDA-Patienten (R0-Pn0 vs. R0-Pn1). <b>(A)</b> Gesamtüberleben von resezierten PDA-Patienten. <b>(B)</b> Krankheitsfreies Überleben von resezierten PDA-Patienten. [135].....	53
<b>Abb. 9:</b> Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben der R0-resezierten PDA-Patienten mit positiven oder negativen Lymphknotenbefall (N0 vs. N1). <b>(A)</b> Gesamtüberleben der resezierten PDA-Patienten. <b>(B)</b> Krankheitsfreies Überleben der resezierten PDA-Patienten. ....	54
<b>Abb. 10:</b> Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben von Pn1-Patienten mit oder ohne postoperative Chemotherapie. <b>(A)</b> Gesamtüberleben der Pn1-Patienten. <b>(B)</b> Krankheitsfreies Überleben der Pn1-Patienten. [135].....	56
<b>Abb. 11:</b> Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben von R0-Pn1-Patienten mit oder ohne postoperative Chemotherapie. <b>(A)</b> Gesamtüberleben von R0-Pn1-Patienten. <b>(B)</b> Krankheitsfreies Überleben von R0-Pn1-Patienten. [135] .....	57

Alle nicht selbst entworfenen Abbildungen (Abb. 1-5) unterliegen dem Urheberrechts-Wissensgesellschafts-Gesetz (UrhWissG). Nach § 60c ist die Nutzung einzelner Abbildungen zur eigenen nicht-kommerziellen Forschung auch ohne Lizenz durch den Verlag gestattet. Aus diesem Grund wurden die Abbildungen in der online zur Verfügung stehenden Version entfernt.

### 3 Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ARNT	Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator
ASCO	Americal Society of Clinical Oncology
BMI	Body-Mass-Index
BDNF	Brain-Derived neurotropher Faktor
CA19-9	Carbohydrat-Antigen 19-9
CCL2	CC-Chemokin-Ligand-2
CCR2	CC-Chemokin-Rezeptor-2
CRM	Circumferential Resection Margin
CSF-1	Colony Stimulating Factor 1
CT	Computertomographie
CTC	Circulating tumor cells
ctDNA	Circulating tumor DNA
ddPCR	Digitale Tröpfchen-PCR
DFS	Krankheitsfreies Überleben
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRG	Dorsal Root Ganglien
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EGF	Epidermal Growth Factor
ERCP	Cholangiopankreatikographie
EUS	Endoskopische Ultraschalluntersuchung
EV	Extrazelluläre Vesikel
FDA	Food and Drug Administration
GDNF	Glial derived neurotropic factor, Glial cell line-derived neurotrophic factor
GFL	Glial cell line-derives neurotrophic Family Ligands
GFR $\alpha$ 1	Alpha-1 Rezeptor der GDNF-Familie
GTDS	Gießener Tumordokumentationssystem
IAP	International Association of Pancreatology, International Association of Pancreatology
iBike	Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie, Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie
IL	Interleukin
LAPC	Lokal fortgeschrittenes PDA
LIF	Leukemia Inhibitory Factor
MHC	Major histocompatibility complex
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
MSI	Mikrosatelliteninstabilität
N. vagus	Nervus vagus, X. Hirnnerv

NET .....	Neuroendokriner Tumor
NGF .....	Nerve grow Factors
NGS.....	Next Generation Sequencing
NT-3 .....	Neurotrophin 3
OS .....	Gesamtüberleben
p75 .....	Neurotrophinrezeptor 75
PD1 .....	Programmed cell death Protein 1
PDA .....	Duktales Adenokarzinom des Pankreas
PET .....	Positronen-Emissionstomographie
PNI .....	Perineurale Invasion
PNP .....	Peripankreatischer Nervenplexus
PNS .....	Peripheres Nervensystem
PPPD.....	Pyloruserhaltende partielle Duodenopankreatektomie
RET .....	Rearranged during Transfection, Rezeptortyrosinkinase
RNA.....	Ribonukleinsäure
ROBO.....	Roundabout Homolog
SHH.....	Sonic Hedgehog
SLIT2.....	Slit Guidance Ligand 2
STAT3 .....	Signal transducer and activator of transcription 3
TGF .....	Transforming growth factor
TrkA.....	Tropomyosinrezeptorkinase A
TrkC.....	Tyrosin-Proteinkinase C
UICC.....	Union for International Cancer Control
USPSTF .....	Unites States Prevention and Screening Task Force
V. ....	Vena
ZNS .....	Zentrales Nervensystem



## 4 Zusammenfassung

**Background:** Pancreatic adenocarcinoma (PDAC) is one of the deadliest human cancers worldwide. Despite curative concepts, recurrence rates are high and overall survival rates poor. Perineural invasion (PNI) found at resection margins is a common feature of PDAC and can have an impact on patients' survival. We sought to investigate the clinical consequence of PNI in surgically treated patients at our institution.

**Methods:** PDAC patients who underwent curative intended resection at our institution from 2008 to 2019 were included. Patients with incomplete documentation of medical history, R status, PNI status, tumor stage and survival data were excluded.

**Results:** In a total of 571 patients, we identified 40 Pn0 (7%) and 531 Pn1 patients (93%). Perineural invasion associated with poor differentiation, high rates of lymph node- and microvascular invasion. Pn0 patients demonstrated better disease-free ( $p < 0,001$ ; HR: 2,16) and overall survival ( $p < 0,001$ ; HR: 2,50). PNI could be identified as an important variable for poor survival by Cox-proportional Hazards regression. Subgroup analysis of all R0 resected patients confirmed decreased survival probability of R0-Pn1 compared to R0-Pn0 (HR = 3.21) and particularly benefit from adjuvant chemotherapy ( $p < 0.01$ ).

**Conclusion:** Our study adds to the body of evidence that PNI decreases survival of patients with resected PDAC. In addition, PNI challenges the probability of long-term survival, especially in patients with negative resection margins. We need to better understand the pathobiology of the neural invasion process in PDAC in order to find more effective therapies.

**Hintergrund:** Das Pankreasadenokarzinom (PDA) ist eine der tödlichsten Krebserkrankungen des Menschen weltweit. Trotz kurativer Ansätze sind die Rezidivraten hoch und das Gesamtüberleben schlecht. Die perineurale Invasion (PNI) an den Resektionsrändern ist ein häufiges Merkmal des PDAs und kann sich auf das Überleben der Patienten auswirken. Wir untersuchten den klinischen Einfluss der PNI bei chirurgisch behandelten Patienten in unserer Einrichtung.

**Methoden:** Eingeschlossen wurden Patienten mit PDA, die sich in den Jahren 2008 bis 2019 in unserer Einrichtung einer kurativen Resektion unterzogen. Patienten mit unvollständiger Dokumentation von Anamnese, R-Status, PNI-Status, Tumorstadium und Überlebensdaten wurden ausgeschlossen.

**Ergebnisse:** Bei insgesamt 571 Patienten identifizierten wir 40 Pn0 (7%) und 531 Pn1-Patienten (93%). Die perineurale Invasion ging mit einer schlechten Differenzierung sowie einer hohen Rate an Lymphknoten- und mikrovaskulärer Invasion einher. Pn0-Patienten hatten ein besseres krankheitsfreies ( $p < 0,001$ ; HR: 2,16) und Gesamtüberleben ( $p < 0,001$ ; HR: 2,50). PNI konnte durch eine Cox-Proportional-Hazards-Regression als Variable für ein schlechtes Überleben identifiziert werden. Eine Subgruppenanalyse aller R0-resezierten Patienten bestätigte die geringere Überlebenswahrscheinlichkeit von R0-Pn1 im Vergleich zu R0-Pn0 (HR = 3,21) und den besonderen Nutzen einer adjuvanten Chemotherapie ( $p < 0,01$ ).

**Schlussfolgerung:** Unsere Studie ergänzt die Erkenntnisse, dass PNI die Überlebensrate von Patienten mit reseziertem PDA verringert. Darüber hinaus stellt die PNI die Wahrscheinlichkeit des Langzeitüberlebens in Frage, insbesondere bei Patienten mit negativen Resektionsrändern. Wir sollten die pathologischen Prozesse der neuralen Invasion bei PDAs besser verstehen, um wirksamere Therapien zu finden.

## 5 Einleitung

### 5.1 Das Pankreasadenokarzinom (PDA)

Das humane Pankreasadenokarzinom (PDA) zählt weltweit zu den aggressivsten Tumorerkrankungen des Menschen, mit mehrheitlich schlechter Prognose und niedrigen Überlebensraten [1]. Primäre Tumore des Pankreas lassen sich ätiologisch in exokrine und endokrine Entitäten unterteilen, wobei maligne Entitäten der exokrinen Drüsen (PDA, Azinuszellkarzinom) 90% der Tumore ausmachen und nur 10% auf weitere Entitäten fallen (neuroendokrine Tumore, Zystische Neoplasien, Pankreatoblastom) [2]. Die weltweite Krebsstatistik der GLOBOCAN 2020 verzeichnet 19,3 Millionen neue Krebsdiagnosen und fast 10 Millionen tumorbedingte Mortalitätsfälle [3]. Davon sind 2,6% der Neudiagnosen (495.773 Menschen) und 4,7% Mortalitätsfälle (466.003 Menschen), auf das PDA zurückzuführen. Die höchsten Inzidenzraten werden in Europa und Nordamerika gemessen (7,6 pro 100.000 Menschen), wohingegen in Afrika nur 2,2 pro 100.000 Menschen betroffen sind [4]. Aktuell steht das PDA an 11. Stelle der weltweit häufigsten Krebserkrankungen, die Inzidenz nimmt jedoch jährlich um etwa 0,5-1% zu. Voraussichtlich wird das PDA bis 2030 die zweithäufigste Krebstodesursache in den USA sein, was den steigenden Stellenwert dieser Erkrankung unterstreicht [5]. Die Inzidenz- und Mortalitätsrate korreliert mit zunehmendem Alter (medianes Alter bei Diagnosestellung: 71 Jahre) und tritt bei Männern 1,3-mal häufiger auf als bei Frauen [4]. Aktuell gilt das PDA als dritthäufigste Ursache für eine krebsbedingte Sterblichkeit [6]. Erworbene Risikofaktoren sind vor allem ein übermäßiger Alkohol- und Tabakkonsum, sowie ein Mangel an körperlicher Bewegung, Adipositas (BMI über 30), eine chronische Pankreatitis und Diabetes mellitus Typ II [7]. Daraus ließ sich auch ableiten, dass das PDA vermehrt bei Einwohnern in Industrieländern auftritt und zu den durch den Lebensstil beeinflussten Krebserkrankungen zählt [8]. Circa 25% der Patienten weisen zum Zeitpunkt der Diagnose bereits einen Diabetes mellitus auf, und etwa 40% haben bereits eine gestörte Glukosetoleranz [9]. Auch genetische Risikofaktoren wie das hereditäre Brust- und Eierstockkrebssyndrom, sowie das Melanom- und Peutz-Jeghers-Syndrom können zur Entstehung des PDAs beitragen und beruhen meist auf nachweisbaren Keimbahnmutationen (siehe Tab. 1) [6]. Das Risiko für Patienten mit hereditärer Pankreatitis an einem Pankreaskarzinom bis zum 70. Lebensjahr zu erkranken, liegt zwischen 40-44% [10]. Im Jahr 2014 überlebten nur 5% der Betroffenen 5 Jahre nach

Diagnosestellung [11]. 2021 konnte ein 5-Jahres-Überleben von über 10% erreicht werden, was auf eine Verbesserung der Therapien und der Diagnostik hindeutet [1, 5]. Dennoch weisen bereits 50% der Patienten bei der Diagnosestellung Metastasen (AJCC-Stadium IV) auf, die vornehmlich in der Leber (90%), aber auch in der Lunge (25%), regionalen Lymphknoten (25%) und/oder dem Peritoneum (20%) zu finden sind [12]. In nur etwa 20% der Fälle handelt es sich um eine lokalisierte und damit primär resektable Erkrankung (AJCC-Stadium I und II), wohingegen weitere 20-30% der Betroffenen eine lokal fortgeschrittene (borderline-resektabel) und in 50-60% eine systemische (metastasierte) Tumorausbreitung erkennen lassen [6]. Klinisch manifestiert sich das PDA in frühen Stadien durch eher unspezifische Symptome wie: Appetitminderung, Verdauungsstörungen und Veränderungen der Darmgewohnheiten [13]. Etwa 70% der PDAs entstehen im Pankreaskopf, wodurch es bei Fortschreiten der Erkrankung zu einer Gallengangsobstruktion kommt, die weitere Symptome verursacht. Dazu zählen Gewichtsverlust, dunkler Urin, Gelbsucht, Müdigkeit und eine exokrine Pankreasinsuffizienz. Entsteht das Karzinom im Pankreasschwanz oder -körper entstehen weitere Beschwerden wie Bauch- und Rückenschmerzen, Neuauftreten oder Verschlimmerung eines Diabetes mellitus, sowie kachexiebezogene Symptome. In 3% der Fälle geht das PDA aus einer akuten Pankreatitis hervor [14].

Der zeitliche Verlauf zwischen dem Auftreten erster genetischer Alterationen in epithelialen Zellen und der klinischen Manifestation eines Pankreaskarzinoms stellt eine Möglichkeit der Früherkennung dar, konnte jedoch bislang nicht direkt klinisch ausgenutzt werden [15]. Mithilfe der CT- (Computertomographie) und/oder MRT- (Magnetresonanztomographie) Schnittbildgebung ist es heute möglich eine zuverlässige und effiziente Beurteilung des Tumorausmaßes und der betroffenen Strukturen durchzuführen. Dazu zählen vornehmlich die lokalen Blutgefäße (obere Mesenterial- und Pfortader, Zöliakal-, Leber- und obere Mesenterialvene), sowie mögliche vorhandene distante Metastasen. Eine Cholangiopankreatikographie (ERCP) kann bei der Beurteilung der lokalen Tumormasse, Durchführung direkter interventioneller Maßnahmen und der Probeentnahme behilflich sein [7]. Positronen-Emissionstomographieaufnahmen (PET-CT) mit einem Fluordesoxyglucose-Tracer, können den Glukosestoffwechsel des Tumors bildlich darstellen und helfen dabei maligne und benigne Läsionen voneinander zu unterscheiden [16]. Die Glukoseaufnahme ins Gewebe kann jedoch durch lokal vorhandene Entzündungen und Infektionen gesteigert sein, wodurch die Interpretation

dieser Daten beeinträchtigt wird. Zur Diagnosesicherung werden regelmäßig endoskopische Ultraschalluntersuchungen (EUS) vorgenommen, mit denen eine sensitivere Visualisierung uneindeutiger Befunde am Pankreaskopf/ -korpus, sowie eine zusätzliche Beurteilung der Gefäßbeteiligung erreicht werden kann [7]. Im Rahmen einer solchen Diagnostik kann zusätzlich eine Feinnadel-Kernbiopsie zur histologischen Diagnosesicherung am Pankreaskopf/-korpus vorgenommen werden. Erst in Zusammenschau der Befunde kann eine endgültige Beurteilung zur Resezierbarkeit des Malignoms getroffen werden. Als Tumormarker im Blutserum dient das CA19-9 (Carbohydrat-Antigen 19-9) als relativ zuverlässiges Screening-Instrument für Tumore des Gastrointestinaltraktes. Da fast alle Neoplasien des Magen-Darm-Systems CA19-9 bilden können, wird dieser Wert daher oft nur zur Bewertung der Tumorlast und Überwachung der Tumorpatienten angewandt [17].

<b>Gen</b>	<b>Syndrom</b>	<b>PDA-Lebenszeitrisiko</b>	<b>Andere assoziierte Krebserkrankungen</b>
BRCA1	Hereditäres Brust- und Ovarialkarzinom-Syndrom	2%	Brust, Ovar, Prostata, Melanom
BRCA2	Familiäres Brust- und Eierstockkarzinom	5-10%	Brust, Ovar, Prostata, Melanom
CDKN2A	Familiäres atypisches multiples Muttermal- und Melanom-syndrom (FAMMM)	10-30%	Kolorektal, Uterus, oberer GI-Trakt, Ovar, Harnwege, Gehirn, Talgdrüsen
STK11	Peutz-Jeghers-Syndrom (PJS)	10-30%	Brust, Kolorektal, oberer GI-Trakt, Lunge, Gebärmutter, Ovar, Hoden

**Tab. 1:** PDA-Risiko assoziierte Gene und Syndrome [7].

## 5.2 Therapie des PDAs

Die Therapie des PDAs richtet sich nach seiner systemischen Ausbreitung und der lokalen Infiltration von anatomischen Nachbarstrukturen. Weiterhin wird die operative Resektion als Voraussetzung zur kurativ intendierten Therapie gesehen, sofern diese im Gesunden erfolgen kann (R0). Zur Beurteilung der Resezierbarkeit werden die Kriterien des American Joint Committee on Cancer (AJCC) herangezogen [7]. Zusätzlich können die ABC-Konsensus-Regeln als richtungsweisend für die Resektabilität sein (siehe Tab. 2). [18] Diese beinhalten sowohl anatomische als auch biologische Gesichtspunkte. Die IAP (International Association of Pancreatology) empfiehlt Patienten, die diesen Merkmalen entsprechen und einen ausreichenden ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) -Performance-Status von bis zu 2 aufweisen, zu reseziieren. In der Regel wird bei einer Neoplasie im Pankreaskopf und im processus uncinatus eine pyloruserhaltene Pankreatoduodenektomie (PPPD) oder eine klassische Kausch-Whipple-Operation durchgeführt. Im Vergleich zur Kausch-Whipple-Operation, kann die PPPD eine physiologische Magenentleerung unter Erhalt des Pylorus (Magenpförtner) gewährleisten. Damit assoziierte Komplikationen (Magen-Entleerungsstörung) sollen hierdurch reduziert werden, wobei bisher kein eindeutiger Vorteil in Studien gezeigt werden konnte [19]. Bei Tumoren des Pankreaskörpers und -schwanz ist überwiegend eine distale oder totale Pankreatektomie erforderlich. Operationen am Pankreasorgan sind mit zahlreichen unerwünschten Komplikationen verbunden, darunter zählen die verzögerte Magenentleerung, Pankreasfistel und die postoperative Wundinfektion [20]. In Studien konnte zuletzt festgestellt werden, dass laparoskopisch bzw. robotisch durchgeführte chirurgische Eingriffe zwar zu ähnlichen Komplikationen und Überlebensraten, aber zu deutlich kürzeren Krankenhausaufenthalten postoperativ führen können [21, 22]. Daher werden diese technischen Entwicklungen in den großen Pankreaszentren zunehmend angeboten. Des Weiteren sollte grundsätzlich eine perioperative Antibiotikaphylaxe erfolgen, da hierunter infektiöse Komplikationen und Wundinfektionen signifikant reduziert werden konnten (10-25% vs. <5%) [23].

Grundsätzlich wird für Patienten nach der Operation eine frühzeitige Rehabilitation angestrebt. Diese umfasst Physio- und Ergotherapie, sowie ein individuelles Ernährungsmanagement mit Substitution von Pankreasenzymen. Im Sinne eines multimodalen, kurativen Konzeptes und um ein verbessertes OS (Gesamtüberleben) und

DFS (krankheitsfreies Überleben) zu erzielen, sollen alle Patienten (inklusive R0 resezierte Patienten) im UICC-Stadium I-III mit ausreichend gutem ECOG-Performance-Status eine adjuvante Chemotherapie innerhalb von 12 Wochen postoperativ erhalten [7]. Das mediane OS liegt bei einer Monotherapie mit Gemcitabin (CONKO-001) oder 5-FU (ESPAC-3) bei 24 Monaten [24, 25]. Eine Kombinationstherapie aus Gemcitabin und Capecitabin konnte das OS bereits auf 28 Monate steigern [26]. Insbesondere bei R1-resezierten Patienten wird eine additive Chemotherapie über insgesamt 6 Monate empfohlen [7]. In der CONKO-006-Studie konnte bei dieser Gruppe ein verbessertes OS festgestellt werden, wenn sie 7-12 Zyklen Gemcitabin in Monotherapie erhalten haben, im Gegensatz zu denjenigen, die nur bis zu 6 Zyklen durchliefen (18 Monate vs. 29.1 Monate) [27]. Sollte der ECOG-Status zwischen 0 und 1 liegen, wird eine adjuvante Chemotherapie mit mFOLFIRINOX präferiert, da diese das DFS auf 21,6 Monate und das OS auf 54,4 Monate signifikant verlängert [28]. Bei einem ECOG > 1-2 sollte weiterhin Gemcitabin mono oder Gemcitabin/Capecitabin in Kombination angewendet werden. Im Falle eines „borderline-resektabel“ (grenzwertig-operabel) eingeschätzten Pankreaskarzinom, ist eine neoadjuvante Chemotherapie anzuwenden [29]. Zusätzlich wird dieses Vorgehen von der ASCO 2016 als präoperative Therapie empfohlen, wenn der Verdacht auf eine okkulte extrahepatische Manifestation besteht, bei reduziertem Allgemeinzustand in der ein abdominal-chirurgischer Eingriff nicht gewährleistet werden kann, bei mesenterialer Gefäßinvasion, sowie bei deutlich erhöhtem CA19-9 [30].

Nach erfolgter neoadjuvanter Chemotherapie mit moderatem oder gutem Ansprechen, kann nach erfolgter Schnittbildgebung eine chirurgische Exploration zur Beurteilung einer sekundären Resektabilität erfolgen. Die Resektionsrate beträgt in der Regel zwischen 30-60%, wobei in diesen Fällen bis zu 90% eine R0-Resektion gewährleistet werden kann [31, 32].

Wird der Tumor in einem bereits fortgeschrittenen, inoperablen Stadium diagnostiziert, empfiehlt sich primär eine Chemotherapie einzuleiten. In der Palliativsituation kann eine zytotoxische Chemotherapie (ECOG 0-2) mit:

- FOLFIRINOX (mono)
- Gemcitabin (mono)
- Gemcitabin und nab-Paclitaxel
- Gemcitabin und Erlotinib (EGF-Rezeptor-Tyrosinkinaseinhibitor)

zur Verbesserung der Lebensqualität und Überlebenszeit angewandt werden [33]. Der klinische Vorteil liegt dabei häufig in einem geringeren Schmerzmittelverbrauch und Gewichtsverlust [12, 34]. Die Wahl des Therapeutikums richtet sich nach dem Allgemeinzustand, den Komorbiditäten und den Präferenzen des Patienten. Zusätzlich kann eine palliative Strahlentherapie bei Skelett- und zerebralen Metastasen in Erwägung gezogen werden. Zur supportiven Therapie ist das WHO-Stufenschema zur medikamentösen Schmerztherapie anzuwenden. Zusätzlich kann bei einigen Patienten eine Coeliacusblockade indiziert sein [35].

Die Rolle der Bestrahlung der Tumormasse ist gegenwärtig eher umstritten und findet hauptsächlich in Studien Anwendung, deren Resultate bisher uneinheitlich ausfallen. In der ECCOG 4201-Studie konnte ein verlängertes OS unter Radiochemotherapie erreicht werden (11,1 Monate vs. 9,2 Monate), doch kam es unter der hohen Konzentration von Gemcitabin (600mg/m<sup>2</sup>) vermehrt zu auftretenden gastrointestinalen Nebenwirkungen [36]. In anderen Studien war die Radiochemotherapie der alleinigen Chemotherapie in Hinblick auf das Gesamtüberleben der Patienten (8,6 vs. 13 Monate) unterlegen. In der Gruppe der bestrahlten Personen, kamen zu den gastrointestinalen Nebenwirkungen noch hämatologische Toxizitäten hinzu. Diese Begleiterscheinungen sind auf die Bestrahlungsdosis von 60Gy und das Bestrahlungsvolumen, sowie die Gabe von Cispatin (6x5x20mg/m<sup>2</sup>) und 5-FU (6x5x300mg/m<sup>2</sup>) zurückzuführen [37]. Eine bessere Tumorkontrolle und lokoregionäre Rezidivfreiheit kann durch höhere Strahlendosen (<70 Gy) nach erfolgter initialer Chemotherapie erreicht werden [38].

Neue Ansätze in der Tumorthherapie stellt die direkte Beeinflussung der Tumorumgebung (TME= „*Tumor microenvironment*“) mit Hilfe neuerer Erkenntnisse der Immunonkologie dar. Moderne Ansätze mit sogenannten Immun-Checkpoint-Inhibitoren zeigten jedoch bisher keinen durchschlagenden Erfolg [39]. Matrix- Metalloproteinasen (MMPs) werden im fortlaufenden Krankheitsstadium unterschiedlich exprimiert. MMP2 erhöht die Invasivität des Tumors und korreliert mit dem Fibrosegrad [40]. MMP7 hingegen wird überexprimiert und trägt vermutlich zum Tumorwachstum und zur Metastasierung bei. Die Entwicklung von Multi-MMP-Inhibitoren zur Unterdrückung der Tumorprogression in Form von Marimastat und Tanostat konnte keinen klinischen Vorteil erbringen [41, 42]. Ähnliche Studien wurden mit SHH-Inhibitoren (Sonic-Hedgehog Inhibitoren) durchgeführt und konnten ebenfalls keine befriedigenden Resultate erbringen. Daraus ließe sich ableiten, dass die verwendeten Mausmodelle nur bedingt auf den Menschen



anzuwenden sind und das TME nicht allein für die Progression verantwortlich ist [43]. Die *Food and Drug Administration* (FDA) hat bislang Pembrolizumab als einziges zielgerichtetes Medikament für Patienten mit Mikrosatelliteninstabilität (MSI) als Zweitlinientherapie zugelassen. Die monoklonalen Antikörper blockieren den PD1-Rezeptor, wodurch das Immunsystem Tumorzellen wahrnimmt und bekämpft [44]. Inwieweit Immun-Target-Therapien zukünftig Anwendung finden, ist bislang noch unklar, da die aktuell laufenden Studien dazu noch nicht abgeschlossen sind [45]. Weitere aktuelle Therapieansätze zur Behandlung von PDA beruhen auf onkologischen Viren, sowie deren Kombination mit zielgerichteten- und neuen Chemotherapiekombinationen [46].

<b>Resektabilität</b>	<b>A (anatomisch)</b>	<b>B (biologisch)</b>	<b>C (konditional)</b>
<b>Resektabel</b> (R, resectable)	R-Typ A	Neg: R-Typ A Pos: BR-Typ B	Neg: R-Typ A Pos: Br-Typ B
<b>Grenzwertig-resektabel</b> (BR, borderline resectable)	BR-Typ A	Neg: BR-Typ A Pos: BR-Typ AB	Neg: BR-Typ A Pos: BR-Typ AC
<b>Lokal-fortgeschritten</b> (LA, locally advanced)	LA-Typ A	Neg: LA-Typ A Pos: LA-Typ AB	Neg: LA-Typ A Pos: LA-Typ AC
Abkürzungen A: „anatomical“ Verhältnisse zu den Gefäßen B: „biological“ CA-19-9 > 500 IU/ml oder befallene regionäre Lymphknoten C: „conditional“ ECOG-Performancestatus 2 und höher Neg: negativ für die o.g. Parameter Pos: positiv für die o.g. Parameter			

**Tab. 2: ABC-Kriterien der Resektabilität.\***

\*Gemäß dem Konsens der International Assoziation of Pancreatology (IAP) [7, 18].

### 5.3 Anatomische Besonderheiten und Ausbreitung des PDAs

Das Pankreas liegt sekundär retroperitoneal zwischen Magen und der Aorta abdominalis bzw. V. cava inferior auf Höhe des 2. Lendenwirbels.

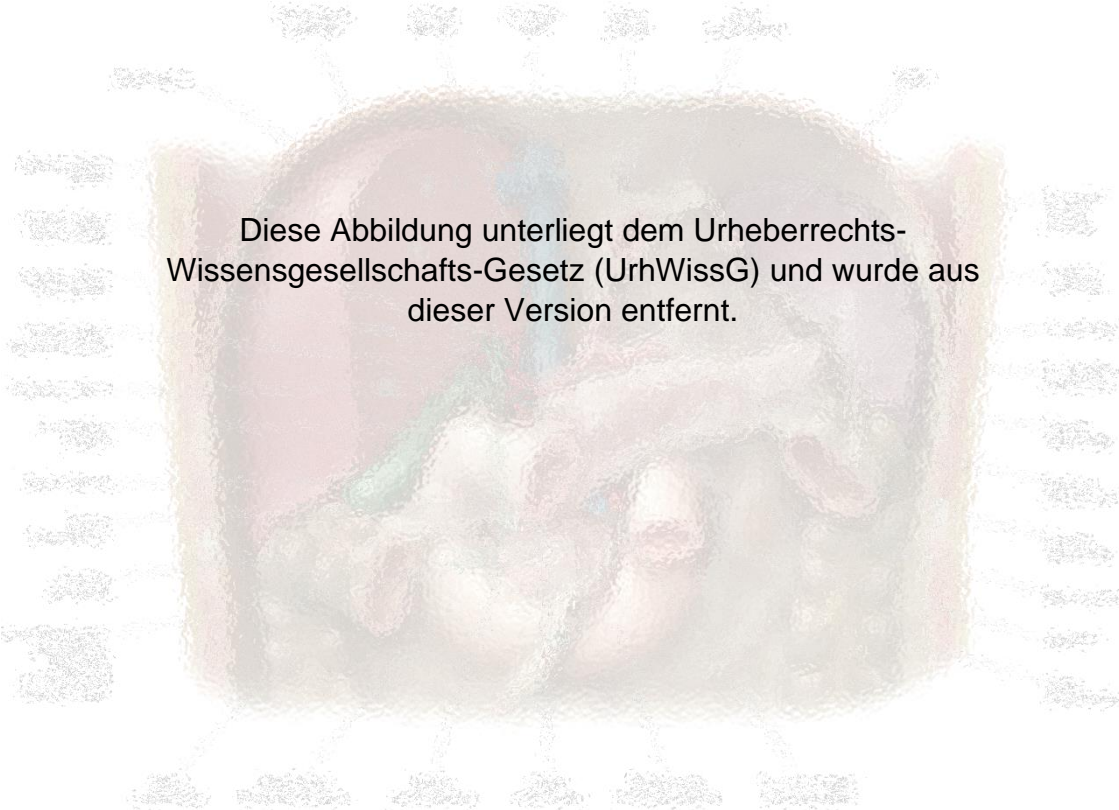
Die sympathische Innervation erfolgt durch einen Nervenplexus aus dem Ganglion Coeliacum, welches mit den Gefäßen verläuft (Abb. 2). Parasympathisch wird das Organ über die Rr. pancreatici des Nervus vagus (N. vagus , X. Hirnnerv) innerviert. Diese peripheren Nerven sind regelmäßig an dem TME beteiligt [47]. Sie können sich an die neoplastischen Begebenheiten anpassen und eine bidirektionale Kommunikation mit dem Tumor herstellen [48]. Aufgrund der anatomischen Nähe zum Truncus coeliacus und der Beschaffenheit des Pankreas kommt es vermehrt zur perineuralen Invasion, welche auch die Schmerzsymptomatik des PDAs in vielen Fällen erklären kann [49]. In Tierversuchen wurde bereits festgestellt, dass eine Denervierung des Pankreas zur Reduzierung der Tumorprogression führt [50].

Die allgemeine Organanatomie spielt bei der Symptomatik vom Pankreaskarzinom eine tragende Rolle (Abb. 1). Das Pankreas kann grob in drei Abschnitte eingeteilt werden.

- *Caput pancreatis* (Pankreaskopf): Dem Duodenalbogen anliegend und beinhaltet den *Processus Uncinatus*, der an der Incisura pancreatis die Arteria (A.) mesenterica superior umschlingt
- *Corpus pancreatis* (Pankreaskörper): Bildet die dorsale Wand der Bursa omentalis
- *Cauda pancreatis* (Pankreasschwanz): Entlang der Milzgefäße bis zur linken Kolonflexur

Der *Ductus pancreaticus* (Pankreasgang) mündet gemeinsam mit dem *Ductus choledochus* (Gallengang) in der Papilla duodeni major, an welcher der Verdauungssaft entleert wird. Circa zwei Drittel der PDA treten im Pankreaskopf auf [51]. Durch die enge Lagebeziehung mit der Gallenblase kommt es so häufig zur Gallengangsobstruktion. Andere PDAs finden sich im Pankreaskörper oder -schwanz. Dies führt oft zu unspezifischen Symptomen wie: Schmerzen und Gewichtsverlust. Der Gewichtsverlust kann durch Anorexie, Maldigestion und Kachexie verursacht sein. Diese Tumore verursachen mit geringerer Wahrscheinlichkeit obstruktive Anzeichen und klinische Symptome [52]. Spezifische Symptome treten erst bei Progression des Tumors auf, was dazu führt, dass das PDA regelmäßig erst in einem späten Stadium diagnostiziert werden

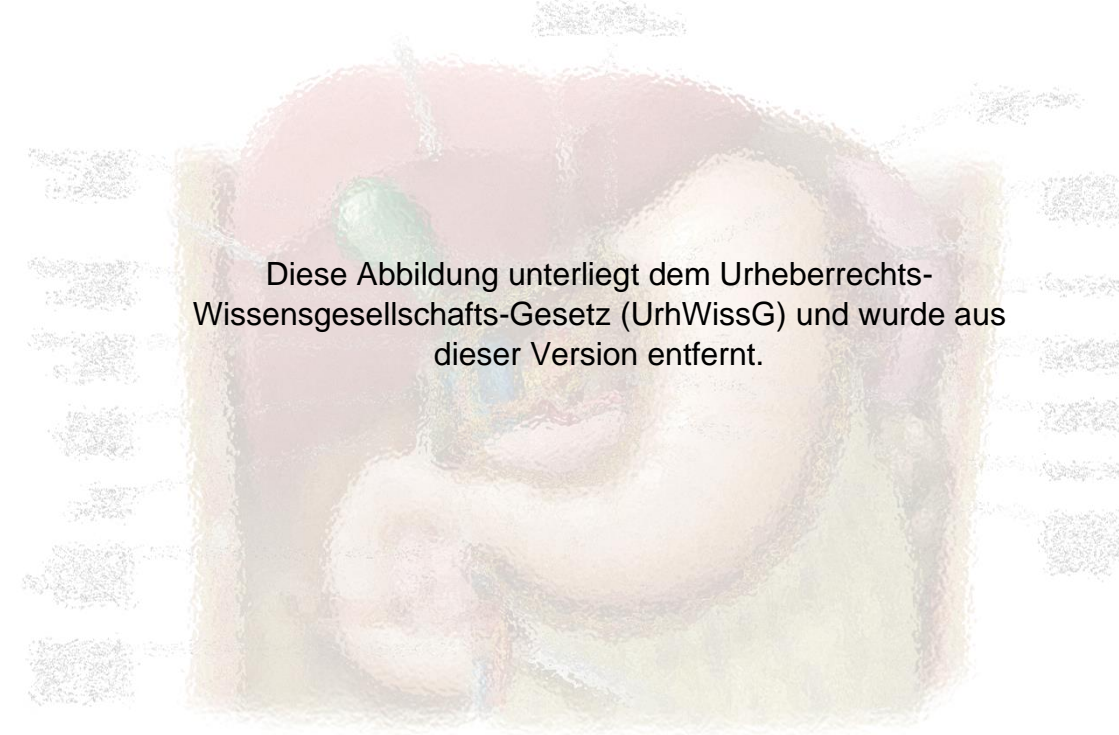
kann, wenn es bereits zur Metastasierung gekommen ist. Die meisten dieser Neoplasien werden im Tumorstadium III oder IV erkannt [4, 11, 53] und sind dann nicht mehr resezierbar. Die lokal fortgeschrittenen Tumore (LAPC) weisen typischerweise eine Beteiligung der A. mesenterica superior, des Truncus coeliacus, der A. hepatica communis oder der Pfortader auf, die operativ nur selten rekonstruiert werden können [54]. Die Wege der systemischen Metastasierung folgen den lymphogenen und hämatogenen Bahnen. Am häufigsten kann eine Fernmetastasierung in der Leber, Lunge und dem Peritoneum festgestellt werden. Die Ursachen der frühen und regelmäßigen Metastasierung sind im Detail noch nicht verstanden. Eine enge anatomische Lagebeziehung zu den zentral versorgenden Gefäßen, wie in den folgenden Abbildungen (Abb.1 und 2) dargestellt, wird dabei eine nicht unwesentliche Rolle spielen. Zudem verstehen wir zunehmend, dass sowohl komplexe molekulare als auch immunologische Ursachen eine gewichtete Rolle spielen [55-58]. Es lässt sich zusammenfassen, dass es zur Verringerung der MHC-I-Expression kommt, die unter anderem durch neoplastische Zellen evoziert wird. Dadurch entgehen Tumorzellen der Erkennung durch CD8+ T-Zellen [59]. Zudem wird die Fas-Expression der Tumorzellen reduziert, wodurch eine Fas-vermittelte Apoptose verhindert wird. Weiterhin werden vermehrt immunsuppressive Interleukine (IL-10) und TGF $\beta$  sezerniert, um die Anti-Tumor-Immunantwort zu überwinden [60, 61].



Diese Abbildung unterliegt dem Urheberrechts-  
Wissensgesellschafts-Gesetz (UrhWissG) und wurde aus  
dieser Version entfernt.

**Abb. 1:** Darstellung der anatomischen Lagebeziehung des Pankreas.\*

\*Extrahiert aus: Prometheus Lernatlas der Anatomie Innere Organe. Georg Thieme Verlag, 2018, pp. 266-285 [62].



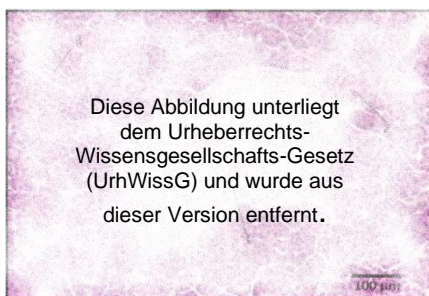
Diese Abbildung unterliegt dem Urheberrechts-  
Wissensgesellschafts-Gesetz (UrhWissG) und wurde aus  
dieser Version entfernt.

**Abb. 2:** Darstellung der vegetativen Innervation des Pankreas durch die Ganglia coeliaca.\*

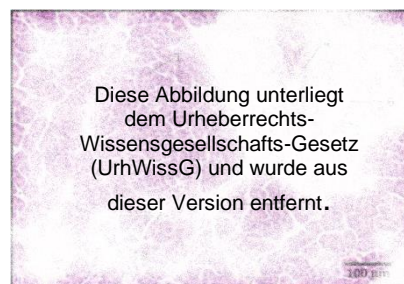
\*Extrahiert aus: Prometheus Lernatlas der Anatomie Innere Organe. Georg Thieme Verlag, 2018, pp. 266-285 [62].

### 5.3.1 Histologie des Pankreas

Nach Funktion und histologisch lässt sich das Pankreas in exokrine und endokrine Anteile unterteilen. Die Langerhans-Inseln repräsentieren die endokrine Funktion. In ihnen werden mehrere Hormone des Stoffwechsels gebildet wie: Insulin (Beta-Zellen), Glukagon (Alpha-Zellen), Somatostatin (Delta-Zellen) und pankreatisches Peptid. Das exokrine Pankreas besteht als seröse Drüse aus tubulo-azinären Endstücken, welche in einem komplizierten Gangsystem münden (Abb. 3). Dabei werden die Azini hormonell und neuronal gesteuert, um proteolytische Enzyme zu sezernieren und über die Papilla vateri an das Duodenum abzugeben.



- 1: Langerhans-Insel (endokrin)
- 2: seröses Endstück (exokrin)
- 3: Schaltstück



- 1: zentroazinäre Zelle
- 2: intralobuläres Bindegewebe
- 3: intralobulärer Ausführungsgang
- 4: interlobulärer Ausführungsgang
- 5: seröser Azinus
- 6: interlobuläres Bindegewebe

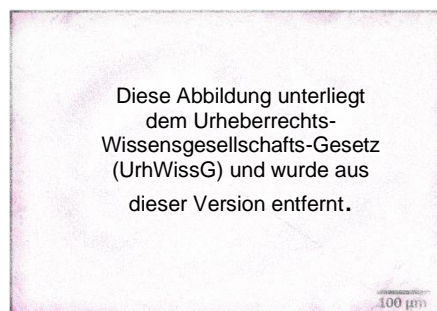
**Abb. 3: Histologische Bilder des gesunden Pankreas.\***

\*Modifiziert nach „visuelle Mikroskopie“ der Universität Halle [63].

Kommt es zur Ausbildung eines PDA, verändert sich das Gewebe (Abb. 4). Es zeigt sich histologisch ein Tumor, der aus unregelmäßig gestalteten, invasiv wachsenden Gangstrukturen besteht. Hinzu kommt eine Anisokaryose und Pleomorphie mit Ausbildung eines desmoplastischen Stromas und Immunzellinfiltration [64].



- 1: Stromainfiltrierende Tumorzellen (Gruppe)
- 2: Stromainfiltrierende Tumorzellen (einzeln)
- 3: schlecht differenzierte/unvollständige drüsige Strukturen



- 1: peripherer Nerv
- 2: atypisches Drüseneithel

**Abb. 4: Histologische Bilder des pathologisch veränderten Pankreas.\***

\*modifiziert nach „visuelle Mikroskopie“ Universität Halle [65].

## 5.4 Histopathologische Klassifikation

### 5.4.1 TNM-Klassifikation

Der Chirurg P. Denoix gilt als einer der Pioniere bösartige Tumore systematisch zu klassifizieren. 1950 übernahm die *Union for International Cancer Control* (UICC) seine TNM-Klassifizierung (Tab. 3) und entwickelte sie stetig weiter (Mittlerweile gibt es bereits die 8. Ausgabe). Sie dient in der klinischen Praxis und Forschung weltweit als einheitliche Tumorkategorisierung, zu Prognoseeinschätzung von Patienten und zur Vereinheitlichung von Behandlungsstrategien [66, 67]. Besonders hilfreich ist die Klassifikation zur prä-operativen Therapieplanung [68].

<b>Kategorie T: anatomische Ausdehnung des Primärtumors</b>
T <sub>0</sub> : Kein Primärtumor nachweisbar
T <sub>1-4</sub> : Primärtumor mit zunehmender Größe bzw. Eindringtiefe
<b>Kategorie N: Status der regionalen Lymphknoten</b>
N <sub>0</sub> : Kein Lymphknotenbefall nachweisbar
N <sub>1-2</sub> : Zunehmender Lymphknotenbefall in Tumornähe
<b>Kategorie M: Vorhandensein von Fernmetastasen</b>
M <sub>0</sub> : Keine Fernmetastasen nachweisbar
M <sub>1</sub> : Nachweis von Fernmetastasen

**Tab. 3:** Aktuelle TNM-Klassifikation. \*

\*Nach der 8. Ausgabe der AJCC-Klassifikation [66, 69].

Fernmetastasen befinden sich beim PDA am häufigsten in Leber, Peritoneum und in den Lungen. Metastasen in anderen Regionen gelten als außergewöhnlich, oder werden nicht entdeckt aufgrund des kurzen Intervalls zwischen Diagnose der Fernmetastase und dem Tod des Patienten [68]. Mittlerweile wurde das System weiterentwickelt und um weitere Parameter ergänzt (Tab. 4):

<b>Kategorie R: Vorhandensein von residualltumoren nach der Operation</b>
R <sub>0</sub> : Kein Residualltumor nachweisbar
R <sub>1</sub> : Tumorzellen sind am definitiven Tumorrand zu finden
R <sub>2</sub> : makroskopischer Residualltumor
<b>Kategorie V: Blutgefäßinvasion durch Tumorzellen</b>
V <sub>0</sub> : Keine Invasion der Blutgefäße nachweisbar
V <sub>1</sub> : mikroskopische Invasion der Blutgefäße
V <sub>2</sub> : makroskopische Invasion der Blutgefäße
<b>Kategorie L: Lymphgefäßinvasion durch Tumorzellen</b>
L <sub>0</sub> : Keine Invasion der Lymphgefäße nachweisbar
L <sub>1</sub> : Lymphgefäßinvasion nachweisbar
<b>Kategorie Pn: Perineuralscheideninvasion durch Tumorzellen</b>
Pn <sub>0</sub> : keine perineuralscheideninvasion nachweisbar
Pn <sub>1</sub> : Perineuralscheideninvasion nachweisbar

**Tab. 4:** Ergänzende Parameter der TNM-Klassifikation.\*

\*Nach der 8. Ausgabe der AJCC-Klassifikation [66].

Durch das Anfügen von klein geschriebenen Präfixen kann die Beschreibung des Tumors weiter spezialisiert werden. Der Präfix „p“ weist auf ein postchirurgisch vom Pathologen ermitteltes Stadium hin. „r“ bezieht sich auf die Klassifikation von Rezidivtumoren und der Präfix „c“ verweist auf ein klinisch erstelltes Staging.

Die *American Joint Commission on Cancer* (AJCC) wurde 1959 gegründet und entwickelte gemeinsam mit der UICC ein Stagingssystem, welches Patienten mit PDA anhand der jeweiligen TNM-Klassifikation in Tumorstadien I- IV einteilt. Jedem Stadium konnte ein eigener Krankheitsverlauf und eine spezifische Prognose zugeordnet werden. Das Stadium I weist dabei die beste und Stadium IV die schlechteste Prognose auf. Durch den wissenschaftlichen Fortschritt und das stetig überarbeitete Stagingssystem, können resezierte PDAs akkurat eingeteilt werden (Tab. 5) [67].

Eine Voraussetzung für eine Resektion ist eine hochwertige Schnittbildgebung (CT, MRT), um eine präzise, präoperative und nichtinvasive Klassifizierung zu gewährleisten [68].

<b>Stadium I: Limitierte Ausbreitung und eindeutig resezierbar</b>
<b>IA:</b> Der Tumor ist auf die Bauchspeicheldrüse beschränkt, kleiner als 2cm
<b>IB:</b> Der Tumor ist auf die Bauchspeicheldrüse beschränkt, 2-4 cm Größe
<b>Stadium II: Lokale Ausbreitung / grenzwertig resezierbar</b>
der Tumor ist größer als 4cm oder hat sich lokal ausgebreitet
<b>Stadium III: weitere Ausdehnung / inoperabel</b>
der Tumor hat sich lokal auf anatomische Nachbarstrukturen ausgedehnt, ist aber noch nicht zu entfernten Körperregionen metastasiert
<b>Stadium IV: Metastasierender Tumor</b>
Tumorzellen sind in entfernte Körperregionen metastasiert

**Tab. 5:** UICC-Stadien.\*

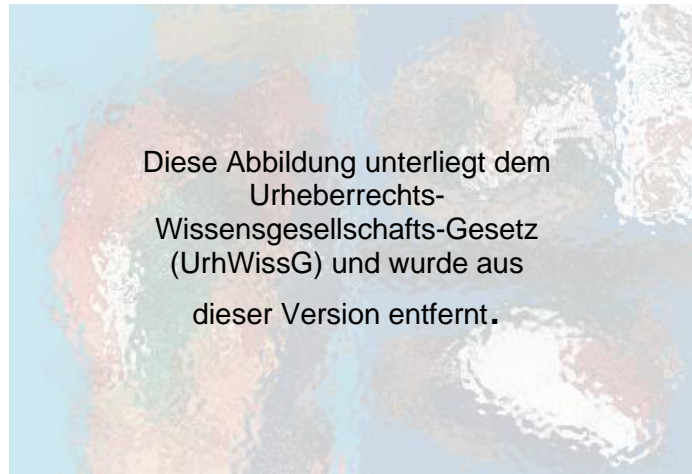
\*Nach der 8. Ausgabe der AJCC-Klassifikation [66].

Das Grading geht über die klassische TNM-Klassifizierung hinaus. Während des histologischen Malignitätsgrades werden einheitliche Tumore in Gruppen (1-4) nach unterschiedlicher zellulärer Differenzierung unterteilt. Diese Einteilung wird zusätzlich während der histopathologischen Begutachtung vom Pathologen vorgenommen.

- G1: gut differenziert (wenig bösartig)
- G2: mäßig differenziert
- G3: schlecht differenziert
- G4: nicht differenziert (sehr bösartig)

Eine geringe Differenzierung bedeutet, dass diese Zelle dem umliegenden Ursprungsgewebe wenig oder nicht mehr ähnelt und damit maligne ist, einhergehend mit schlechter Prognose [67].





**Abb. 5:** Markierung der zirkumferenten Resektionsränder am OP-Präparat.\*

\*Modifiziert nach S. R. P. Benz, S. Böck, T. Brunner [7].

A: Pankreasschnitttrand; B: D. choledochus; C: (grüne Farbmarkierung) Resektionsrand zu den Mesenterialgefäßen; D: (blaue Farbmarkierung) retropankreatischer Resektionsrand; E: proc. uncinatus; F: Duodenum; G: (weiße Farbmarkierung) ventrale Fläche

Anhand dieser standardisierten Farbmarkierungen (Abb.5) kann der zirkumferente Resektionsrand, der sich aus einem vorderen, medialen und dem posterioren Resektionsrand zusammensetzt, beurteilt werden. In der Gefäßachse mit der arteria mesenterica superior (AMS) befinden sich viele Lymphknoten, die ebenfalls begutachtet werden sollten. Mikroskopisch wird vom Pathologen der Abstand zum Resektionsrand im Pathologiebericht in Millimeter angegeben. Intraoperativ wird eine Schnellschnittuntersuchung empfohlen, um so die Rate der R0-resezierten Pankreaskarzinome zu erhöhen [70]. Eine Nachresektion empfiehlt sich, wenn nach „Schnellschnitt“ Tumorzellen im Parenchymresektionsrand gefunden werden [7]. Es empfiehlt sich, dass die Resektionsränder zusätzlich zum R-Status, nach dem CRM-Konzept (*Circumferential Resection Margin*) zu klassifizieren, da vermehrt Tumorzellen bis an den Resektionsrand reichen. R0 -resezierte Pankreaskarzinome werden in Analogie zum CRM-Konzept des Rektums dann als CRM-positiv klassifiziert, wenn der Abstand der Tumorzellen zum Resektionsrand weniger als 1 mm beträgt, diesen jedoch nicht erreicht [7]. Als CRM-negativ sind Tumore einzuteilen, deren Abstand zum Resektionsrand mehr als 1mm betragen. Es konnte bereits festgestellt werden, dass Patienten deren Tumorzellabstand größer als 1,5mm war, bessere Prognosen aufweisen [71]. Weiterhin können in einem ähnlichen Ansatz präzise Daten gesammelt werden, um das Rezidivrisiko und Verlaufsprognosen noch besser abschätzen zu können [72].

## 5.5 Rekurrenz und Bedeutung der Perineuralscheideninfiltration

Die perineurale Invasion (PNI) ist ein charakteristisches Merkmal des Adenokarzinoms der Bauchspeicheldrüse, welches histopathologisch in 60-95% der Fälle bestätigt wird [73]. Aufgrund des gehäuften Auftretens nimmt die PNI beim PDA eine gesonderte Rolle ein. Sie ist definiert als das Vorhandensein von neoplastischen Zellen entlang der Nerven und/oder innerhalb der verschiedenen Schichten der Nervenfasern: Epineurium, Perineurium und Endoneurium [49]. Die anatomische Lage und der starke Neurotropismus der neoplastischen Pankreaszellen können die Inzidenzen nur teilweise erklären, da nicht alle invasiven Pankreastumore den gleichen Grad der neuralen Invasion aufweisen. So konnte nachgewiesen werden, dass PNI deutlich weniger auftritt bei invasiven IPMNs und NETs [49, 74].

Vor circa 150 Jahren wurde erstmalig eine neuronale Infiltration der Tumorzellen beschrieben und trotz des hohen Stellenwerts ist diese heute noch unzureichend erforscht [75]. Studien konnten belegen, dass PNI mit dem Wiederauftreten eines invasiven Pankreaskarzinoms korreliert [76, 77]. In einer klinischen Untersuchung des Johns Hopkins University Hospitals konnte anhand von 1103 Patienten, die sich einer Resektion zwischen 2000 und 2010 unterzogen, festgestellt werden, dass 531 Patienten (76,7%) der vermeintlich kurativ resezierten Patienten ein Rezidiv entwickelten. Mehr als die Hälfte (51,2%) dieses Kollektivs wies bereits innerhalb von 12 Monaten nach der Resektion einen erneuten Tumorherd auf. 57,8% Prozent davon entwickelten das Rezidiv an einer entfernten Stelle, hauptsächlich in der Leber. An einem Lokalrezidiv litten 23,7%, wohingegen die restliche Kohorte sowohl lokale als auch entfernte Rezidive entwickelte [78]. Auch das mediane Gesamtüberleben der Patienten korreliert mit der Beteiligung von Nerven. Patienten mit PNI haben eine deutlich kürzere Überlebenszeit (15,4 vs. 29,2 Monate) [79]. Ebenso wirkt sich PNI negativ auf die Entstehung von Schmerzen aus [73]. Präoperativ traten bei Patienten mit Pankreaskopfkarcinomen im Stadium I höhere Schmerzinterferenzwerte auf, als bei Patienten im Stadium II [80], was darauf schließen lässt, dass PNI bereits im sehr frühen Tumorstadium stattfindet [75, 81]. Das Eindringen von malignen Zellen in intrapankreatische Nerven vereinfacht die lokale und entfernte Tumorausbreitung und hat eine lokale Entzündung zur Folge. Dabei werden Entzündungsmediatoren und neurotrophe Faktoren ausgeschüttet, die zu einer

Nervenhypertrophie, besserer Erregbarkeit, vermehrten perineuralen Invasion und zum erhöhten Schweregrad der PNI-assoziierten Schmerzen führen [82-85].

Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass ca. 80% der Patienten mit Bauchspeicheldrüsenkarzinom zusätzlich eine Glukoseintoleranz oder Diabetes mellitus erleiden [86]. Diese Tatsache vermindert zusätzlich die Überlebenszeit der Erkrankten, da die Hyperglykämie in der TME eine passive Nahrungsquelle und einen proaktiven Effekt auf das biologische Verhalten der Tumorzellen ausübt [87, 88]. Ein andauernd gesteigerter Glukosespiegel führt zu neuronalen Schäden, wodurch die PNI begünstigt wird. Dies ist auf eine erhöhte Expression des Nerve Growth Factors (NGF) und p75 zurückzuführen, welche durch Hyperglykämie induziert wird [88].

## 5.6 Mechanismus der Perineuralscheideninvasion

Das Nerven insbesondere bei PDA, einen alternativen Metastasierungsweg für Krebszellen darstellen, wurde bereits 1944 beschrieben [80, 89]. Bis heute war es jedoch nicht möglich den genauen ursächlichen Mechanismus dahinter zu verstehen. Durch neuro-epitheliale Interaktion beim PDA kommt es zu einer Neoneurogenese, die sich in einer Nervenhypertrophie und vermehrter Nervendichte äußert [75]. Dies geschieht vermutlich bereits im Stadium der Vorläuferläsionen [82]. Sobald die Tumorzellen sich im Inneren der Nerven befinden, gehören sie mit zur TME. Dies führt zu einer verstärkten Proliferation, Hemmung der Apoptose, sowie einer verstärkten Migration der Tumorzellen [73]. In Tierversuchen (Mäuse) konnte festgestellt werden, dass Veränderungen der Innervation und der sensorischen Neuroneneigenschaften parallel zum Krankheitsprozess verlaufen und sogar vor dem Auftreten von malignen Entartungen beginnen [90]. Nach der Invasion schädigen die Tumorzellen die Nerven, was zu Entzündungs- und Regenerationsprozessen führt, welche vom Malignom zur Vermehrung genutzt werden können. Verschiedene lokal vorkommende Zelltypen (Fibroblasten, Immunzellen, Schwann-Zellen) unterstützen dabei die Wechselwirkung zwischen Nerven und Tumorparenchym [91-93]. An der Entstehung von PNI sind des Weiteren diverse Signalmoleküle, Neurotropine, Rezeptoren, Zelloberflächenliganden, über verschiedene Wege, beteiligt. Sie können sowohl von den Krebszellen, als auch von den Nerven ausgehen [73]. Im Folgenden werden die zellulären und molekularen Faktoren der Perineuralscheideninfiltration zusammengefasst:

## 5.6.1 Zelluläre Faktoren

### *Fibroblasten:*

Sie werden im Wesentlichen für die Ausbildung eines ausgeprägten Tumorstromas im PDA verantwortlich gemacht und tragen auf diesem Weg entscheidend zur Invasivität, Angiogenese und Metastasierung bei [49, 94, 95]. Durch Schädigung der Fibroblasten kommt es zu einer erhöhten Permeabilität der Blutnervenbarriere für Tumorzellen [94]. Weiterhin wird von diesen SLIT2 (Axonleitmolekül) sezerniert, welches über ROBO1- und ROBO2-Rezeptoren den Umbau von Nerven und die Proliferation von Schwann-Zellen stimuliert. Dies führt unter anderem zu einer erhöhten Nervendichte [96]. Zwischen den pankreatischen Stellat- (aktivierte Fibroblasten) und Tumorzellen besteht ein bidirektionales Zusammenspiel. Sie werden durch den Tumor aktiviert und fördern die Metastasierung und Progression. Darüber hinaus modellieren sie das Neuritenwachstum und die Migration von Tumorzellen in Richtung der Nerven. Sie sind auch an anderen Signalwegen beteiligt, die sich auch auf das Gefäßsystem auswirken und so zur Chemoresistenz beitragen [97].

### *Immunzellen:*

Entzündliche Veränderungen können sowohl in Vorläuferläsionen als auch frühen Tumorstadien beobachtet werden [49]. Makrophagen und Fibroblasten sezernieren Leukemia Inhibitory Factor (LIF), welches die Migration und Plastizität von Schwann-Zellen [98, 99]. *In-vitro* hat das zu einem verstärkten Wachstum von Neuriten geführt [100]. Während der Malignomentstehung sezernieren Tumorzellen Colony Stimulating Factor (CSF-1), um Makrophagen zu rekrutieren. Die rekrutierten Zellen setzen wiederum GDNF (Glial derived neurotropic factor) frei, der RET (Rearranged during transfection) auf den Krebszellen aktiviert und so die Nerveninvasion fördert. Untersuchungen gaben Aufschluss über eine Beteiligung der CCL2-CCR2-Achse an der perineuralen Invasion [92]. CCR2-defiziente Mäuse wiesen eine reduzierte Beteiligung der Nerven auf. Klinisch konnte belegt werden, dass Schwann-Zellen CCL2 absondern, um Monozyten aus dem Blutstrom zu rekrutieren. Diese differenzieren dann zu Cathepsin B

sezernierenden Makrophagen, die lytisch auf die extrazelluläre Matrix des Perineuriums wirken und so die Tumorinvasion erleichtern [101].

*Schwann-Zellen:*

Die Schwann-Zellen sind in Äquivalenz der Gliazellen (ZNS), die Bindegewebszellen des peripheren Nervensystems (PNS). Sie spielen eine entscheidende Rolle bei der Adhäsion von Tumorzellen an den Axonen, da sie in Richtung der Bauchspeicheldrüsen- und Dickdarmkrebszellen wandern [102]. *In vitro* konnte festgestellt werden, dass Schwann-Zellen in der Lage sind, die Matrix um die Tumorzellen herum abzubauen, die Progression der Krebszellen nach dem Kontakt zu beschleunigen und die Tumorzellen während der Invasion den Nerv entlangzuleiten [103].

## 5.6.2 Molekulare Faktoren

### *Neurotrophe Faktoren und Neurotrophin-Rezeptoren:*

Das Neurotrophin NGF (Nerve Growth Factor) dient dem Überleben und dem Erhalt von sympathischen und sensorischen Neuronen [104, 105]. Der Tumor setzt während des Wachstums NGF frei. Der Faktor bindet daraufhin mit hoher Affinität an den TrkA-Rezeptor (Tyrosin-Proteinkinase-Rezeptor) und mit geringerer Affinität an p75NTR (p75-Neurotrophin-Rezeptor), die vermehrt von PDA-Zellen und Nerven exprimiert werden. Das freigesetzte NGF erhöht die Proliferation und hemmt die Apoptose von Tumorzellen, wodurch es zu einer erhöhten Aggressivität des Karzinoms kommt [73, 106].

Schwann-Zellen setzen ebenfalls NGF frei, wodurch davon ausgegangen wird, dass dieses Neurotrophin auch an der PNI beteiligt ist [107].

In einer Studie von Zhu et al. wurden 27 karzinomfreie und 37 karzinomhaltige Gewebeproben des Pankreas untersucht [85]. Es konnte nachgewiesen werden, dass der NGF- und TrkA-mRNA-Spiegel in Pankreaskarzinomgeweben zwischen 2,7 und 5,6-fach erhöht war. NGF war im Zytoplasma der Pankreaskarzinomzellen präsent und TrkA im Perineurium der pankreatischen Nerven. Erhöhte NGF und TrkA Expression korrelieren nachweislich mit der Schwere von perineuraler Invasion [75, 106, 108]. BDNF (Brain-Derived Neurotrophin Faktor) wird in metastasierenden PDA-Zellen überexprimiert [109], ohne einen Einfluss auf die PNI zu haben [110]. NT-3 (Neurotrophin-3) und TrkC (Tyrosin-Proteinkinase-C) werden stark von intratumoralen Nerven exprimiert. In einem murinen Xenotransplantationsmodell wurde eine Blockierung von NT-3 vorgenommen, was zu einer Hemmung des PDA-Wachstums führte [111]. Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Expression von NT-3 und schmerzbezogenen Proteinen (TRPV1 und TRPV2), was darauf schließen lässt, dass NT-3 zusätzlich an der Entstehung von Schmerzen beteiligt ist [112].

### *GDNF-Familie:*

Der GDNF-RET-Signalübertragungsweg wurde mit der Metastasierung und der Invasion verschiedener Karzinome in Verbindung gebracht. Dieser Signalweg fördert die Veränderung der TME, was zu einer modifizierten zellulären Zusammensetzung des umgebenden Stromas führt und letztendlich zu einer

verstärkten Tumorinvasion und Metastasierung [113, 114]. RET und GFR $\alpha$ 1 (Alpha-1 Rezeptor der GDNF- Familie) werden in 40-65% der duktaalen Adenokarzinome des Pankreas exprimiert und sind Indikatoren für eine schlechtere Prognose [61, 84]. Deren Expression ist besonders bei fortgeschrittenen metastasierten PDA mit lymphatischer und perineuraler Ausbreitung häufig. Sowohl der Tumor, intra- bzw. extrahepatische Nerven und Makrophagen des Perineuriums sezernieren GDNF (Glial cell line-derived neurotrophic factor) und ARNT (Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator) [84, 115, 116]. Die Sekretion von GFL (Glial cell line-derived neurotrophic Family Ligands) und GFR $\alpha$ 1 innerhalb des Nervens stimuliert die Bewegung der RET-exprimierenden Tumorzellen entlang eines chemotaktischen Gradienten. So können maligne Zellen in den perineuralen Raum eindringen und sich entlang der Nerven in Richtung des ZNS ausbreiten [48, 84, 92, 114].

#### *Chemokine:*

Neurone und Endothelzellen exprimieren CX3CL1, den einzigen Liganden des CX3CR1-Rezeptors, der im ZNS entscheidend für die Interaktion der Neuronen mit der Mikroglia ist [117]. Eine vermehrte Expression geht sowohl von PDA-Zellen, als auch von PanIN aus, was darauf schließen lässt, dass diese Moleküle an der frühen Chemotaxis von Tumorzellen beteiligt sein könnten, um die Nerveninvasion zu fördern [118].

#### *Matrix-Metalloproteasen (MMPs):*

Wie bereits erwähnt spielen die MMPs eine entscheidende Rolle bei der Tumoraggressivität und -progression [49]. Einen weiteren Stellenwert nehmen sie im neuritischen Wachstum und der Regeneration von Nervenverletzungen ein. In diesem Fall werden vermehrt MMP-2 und MMP-9 von Schwann-Zellen exprimiert, die daraufhin Beta-Dystroglykan spalten und somit die Struktur der axonalen Kompartimente verändern [119]. GDNF erhöht ebenfalls die Expression von MMP-9, während der NGF-TrKA-Signalweg dieses mit MMP-2 macht [120, 121].

#### *Neurotransmitter:*

Auch Neurotransmitter können die Tumorprogression negativ beeinflussen. Einen besonderen Stellenwert nimmt dabei Noradrenalin ein. Es hat sich gezeigt, dass die sympathische Signalübertragung über Noradrenalin *in-vitro* die neurale Invasion in



DRG-Neuronen durch Aktivierung des STAT3-Adrenorezeptors (Signal Transducer and Activator of Transcription 2) fördert [122]. Eine weitere Beteiligung besteht in der noradrenalininduzierten Hochregulation der MMP-2- und MMP-9-Expression in PDA-Zellen [123]. Erhöhte Katecholaminwerte fördern darüber hinaus die Sekretion von NGF und BDNF, wodurch nicht nur das Tumorwachstum, sondern auch die Tumorrinnervation vorangetrieben wird [124]. Neueste Studien deuten darauf hin, dass eine Blockade der adrenergen Rezeptoren das Überleben von PDA-Patienten verbessern könnte [125, 126]. Während die Stimulation des Sympathikus die Tumorprogression fördert, könnte der Parasympathikus gegenteiliges bewirken. In Tiermodellen konnte durch eine Vagotomie ein Voranschreiten der Neoplasie beobachtet werden [127]. Klinische Befunde konnten bestätigen, dass die parasympathische Aktivität des N. Vagus eine protektive Wirkung bei Patienten mit PDA hat [128].

## 5.7 Fragestellung/Hypothese

Zahlreiche Studien konnten bereits die Auswirkungen der perineuralen Invasion auf das Gesamtüberleben, das krankheitsfreie Überleben und das Wiederauftreten des Tumors bestätigen [73, 79, 129-132]. Häufig wurden in diesen Studien jedoch kleine Patientenkohorten über einen kurzen Zeitraum hin untersucht. Um klinisch relevante Aussagen im Rahmen retrospektiver Kohortenstudien treffen zu können, ist es notwendig, größere Patientenkollektive zu betrachten. Inwiefern die perineurale Invasion Einfluss auf das Ansprechen aktueller Therapieregime bei PDA-Patienten besitzt, konnte bisher nur unzureichend untersucht werden.

Ziel dieser Arbeit war es, retrospektiv anhand einer Kohorte von 571 Patienten, die sich innerhalb von 12 Jahren (2008-2019) einer kurativen Resektion an der Charité - Universitätsmedizin Berlin unterzogen, klinisch bedeutsame Aussagen zu treffen. Inwiefern man bei einer vorliegenden PNI überhaupt von einer kurativen Resektion sprechen kann, sollte in der vorliegenden Arbeit diskutiert werden. Kurative Resektion bedeutet tumorfreie zirkumferente Resektionsränder. Da die perineurale Invasion bereits sehr früh auftritt, ist davon auszugehen, dass die umliegenden Nerven des Präparates bereits eine Mikroinvasion erfahren haben. Eine weitere gegenwärtig durchgeführte Diskussion besteht in der Klassifizierung der perineuralen Invasion. Diese wird ausschließlich in „vorhanden“ (Pn1) und „nicht vorhanden“ (Pn0) angegeben. Aus histopathologischer Sicht ließe sich der Befall von Nerven eventuell differenzierter einteilen in [79]:

- Intrapankreatisch, intratumoral
- Intrapankreatisch, extratumoral
- Extrapankreatisch, retroperitoneal

Durch die enge Lagebeziehung des Pankreas zu peripheren Nerven (siehe dazu Abb.2) und die hohen Inzidenzen der perineuralen Invasion, stellt sich die Frage, ob es überhaupt möglich ist, keine Infiltration von Nerven aufzuweisen. Dieser Thematik sollte sich künftig in klinischen Studien auseinandergesetzt werden.

Zu den vorrangig untersuchten Parametern zählten das Langzeitüberleben, das Gesamtüberleben sowie das krankheitsfreie Überleben der Patienten. Zu den sekundär betrachteten Parametern zählten der Einfluss einer post-operativen (adjuvanten) bzw.

Prä-operativen (neoadjuvanten) Chemotherapie, sowie einzelner Patientencharakteristika auf das Überleben in Berücksichtigung des Vorhandenseins oder Fehlens einer perineuralen Invasion. Weiterhin wurden die resezierten Patienten in dieser Arbeit auf zusätzliche Faktoren hin untersucht, die basierend auf den neuesten Studien, einen Einfluss auf die Überlebensprognose und die PNI haben könnten. Dazu zählt:

- Die Einnahme von Beta-Blockern
- Das Vorhandensein von Diabetes mellitus (Typ I/Typ II)
- Der BMI
- Das Operationsverfahren in Bezug auf Tumorage und -größe

Die übergeordnete Hypothese dieser Arbeit lautet: Ein Langzeitüberleben im Falle einer vollständigen operativen Entfernung des PDAs, kann nur bei PNI-negativen Patienten erreicht werden. Um diese Fragestellung zu beantworten, wurde eine retrospektive Analyse der klinischen Daten gewählt, während es zurzeit nur wenig geeignete Modelle gibt, um die PNI experimentell zu erforschen.

## 6 Material und Methoden

### 6.1 Studiendesign

Ziel dieser Arbeit war es, anhand einer retrospektiven Analyse der zentrumsinternen Behandlungsdaten, tumorresezierte Patienten mit PDA mittels statistischer Verfahren untereinander zu vergleichen. Vornehmlich wurde die Kohorte der perineural nicht infiltrierte Patienten im Vergleich zu den Patienten mit PNI untersucht. Der Einschluss der Patienten erfolgte im Rahmen eines Ethikvotums (EA1/208/12; EA1/188/17) unter Einhaltung der Deklaration von Helsinki.

Zur Datenerhebung wurde eine bereits verfügbare Datenbank aller Patienten, die sich einem operativen Eingriff der Bauchspeicheldrüse an dem Zentrum für Chirurgie (CC08, Charité Universitätsmedizin Berlin) unter Berücksichtigung der vorrangigen und sekundären Parameter der Studie, bearbeitet. Wir betrachteten hierbei einen hinreichend langen Untersuchungszeitraum (03/2008 – 12/2019, 12 Jahre), um einen repräsentativen Querschnitt aller resezierten Patienten und eine ausreichende Teststärke (Power) für statistisch relevante Aussagen zu gewährleisten. In diesem Zeitraum stellten sich insgesamt 1.005 Patienten für eine Pankreasresektion vor und wurden gleichfalls in unserer erweiterten Pankreasdatenbank registriert. Alle operativen Eingriffe wurden an der Charité Universitätsmedizin Berlin in der chirurgischen Klinik am Campus Virchow-Klinikum (CVK) und Campus Mitte (CCM) durchgeführt.

Die während dieses Zeitraums erfassten Patienten stellten jedoch nicht die Gesamtheit des betrachteten Patientenkollektivs dar, da eine Vielzahl der Patienten an anderen Tumoren oder anderen Erkrankungen des Pankreas litten und somit für die vorliegende Studie ausgeschlossen wurden. Nach Sichtung aller erforderlichen Patientenakten, konnten insgesamt 660 Patienten mit einem resezierten PDA identifiziert, jedoch nur 571 in das Studienkollektiv eingeschlossen werden. Eingeschlossen wurden dabei nur Patienten, die sich einer klassischen Kausch-Whipple Operation, einer pyloruserhaltenden Pankreatikoduodenektomie (PPPD), einer distalen Pankreatektomie oder einer totalen Pankreatektomie mit kurativer Absicht (angestrebter R0-Status) unterzogen hatten. Bei allen Patienten wurde das PDA histopathologisch bestätigt. Ebenfalls relevant für den Studieneinschluss war die lückenlose Dokumentation der Krankengeschichte, ein vollständiger Operations- und Pathologiebericht, sowie

vorliegende Überlebensdaten. Die Aufnahme der Patienten in diese Arbeit beruhte ausschließlich auf diesen Kriterien unabhängig von Alter, Geschlecht und Ethnie, da nur so die Heterogenität der Patientenkohorte gesichert werden konnte. Anhand der Identifikationsnummer wurden die Patientenakten mit Hilfe des institutiellen Computerprogramms (SAP) und dem Gießener Tumordokumentationssystem (GTDS) gesichtet und ausgewertet. Voraussetzung für die statistische Auswertung und Aufarbeitung der Daten war die systematische Aufführung und die tabellarische Zusammenfassung der Untersuchungsparameter im Programm Microsoft-Excel und SPSS. Die anschließende statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe von Dario Zocholl aus dem Charité internen Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) am CCM. Dort wurden die Ergebnisse anhand eines bioinformatischen Skripts ausgewertet und in Graphen oder Tabellen zur Visualisierung zusammengefasst. Zusätzliche Tabellen sind anhand dieser Auswertung durch meine Person erstellt worden. Eine Übersicht welche Abbildungen und Tabellen von Dario Zocholl oder mir erstellt bzw. eingefügt wurden, befindet sich in Tabelle 6. Für die Regressionsanalysen wurden alle Patienten ausgeschlossen, die innerhalb der ersten 30 Tag nach Operationsdatum verstarben und die Patienten, bei denen keine Nachbeobachtung stattfand.

	<b>Dario Zocholl</b>	<b>Flora Lindhammer</b>
Abbildungen	Abb. 6 - Abb. 11	Abb. 1 - Abb. 5
Tabellen	Tab. 12 - Tab. 14	Tab. 1 - Tab. 11 Tab. 15 - Tab. 17

**Tab. 6:** Anteilsübersicht an Abbildungen und Tabellen.

## 6.2 Studienparameter

Zur Bearbeitung der vorrangigen und sekundären Parameter der Studie wurden folgende spezifische Parameter erhoben, welche über das Patientenakten Erfassungsprogramm der Charité (SAP), sowie dem Gießener Tumordokumentationssystem (GTDS) einheitlich erfasst werden konnten (siehe Tab. 7).

<b>Daten von SAP und GTDS</b>
Alter
Geschlecht
BMI
Medikation (Einnahme von Beta-Blockern)
Systemische Erkrankungen (DM I und II)
OP-Berichte
Pathologieberichte
Laborberichte
Therapieprotokolle
Überlebensdaten (In-house-Mortalität)

**Tab. 7:** Erfasste Daten aus SAP und GTDS.

Aus Pathologieberichten konnten bei allen Patienten Informationen zum Tumor gewonnen werden. Dabei konnten folgende Parameter entnommen werden (Tab. 8):

<b>Daten aus Pathologieberichten</b>
Tumorgröße (T)
Lymphknotenstatus (N)
Fernmetastasen (M)
Tumorbefall von Blutgefäßen (V)
Tumorbefall von Lymphbahnen (L)
Perineuraler Status (Pn)
Differenzierungsgrad (G)
Vorhanden sein von Residualtumoren (R)

**Tab. 8:** Erfasste Daten aus den Pathologieberichten.

Das Gießener Tumordokumentationssystem (GTDS) wird als Dokumentationsplattform für sämtliche Tumorkonferenzen an der Charité verwendet und umfasst alle Daten des Tumorboards, Studieneinschlüsse, Tumortherapien, sowie die Rezidivierung der Tumore. Besonders nützlich ist dieses System bei der Erfassung von Überlebenszeiten der Betroffenen, da dieses regelmäßig automatisiert mit dem Sterberegister abgeglichen wird und so zuverlässige Nachverfolgungsdaten erhoben werden können. Vor Beendigung unserer Recherchearbeit, wurde ein Antrag auf Abgleich mit dem deutschen Sterberegister gestellt, um so die neusten Überlebensdaten der Patienten erfassen zu können. Der letzte Abgleich unserer Daten erfolgte am 13.03.2021. Folgende Patientendaten sind dem Tumorboard entnommen worden:

- Zeitpunkt und Ort von Metastasen
- Sterbedatum
  - o Langzeitüberleben (über 5 Jahre)
  - o 30-Tage postoperative Mortalität
- Anwendung einer neoadjuvanten/ adjuvanten Chemotherapie
  - o Chemotherapeutikum
  - o Einschluss in Therapiestudien
- UICC-Stadium nach 2018

Alle Parameter wurden aus den jeweiligen Akten entnommen und chronologisch nach Operationsdatum in einer Exceltabelle zusammengefasst. Diese wurden anonymisiert zur statistischen Auswertung an das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) weitergeleitet.

## 6.2.1 Histopathologische Befunde

Innerhalb des Beobachtungszeitraumes, basierend auf inhaltlichen Anpassungen der TNM-Klassifikation, kam es durch die *Union Internationale Contre le Cancer* (UICC) zu zwei unterschiedlichen Versionen der Stadieneinteilung (7th und 8th Edition). Diese unterscheiden sich in einzelnen Merkmalen. Um mögliche Diskrepanzen zwischen den unterschiedlichen Versionen zu vermeiden, wurden alle Tumore der Studienteilnehmer nach der aktuellen 8. Ausgabe der AJCC-Klassifikation von 2017 neu eingeteilt. Die Einteilung und Bedeutung des jeweiligen Stadiums sind in der folgenden Tabelle (Tab. 9) aufgeschlüsselt.

8. Ausgabe AJCC Klassifikation				7. Ausgabe AJCC Klassifikation			
UICC	T-Status	N-Status	M-Status	UICC	T-Status	N-Status	M-Status
Stadium 0	Tis	N0	M0	Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0	Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IB	T2	N0	M0	Stadium IB	T2	N0	M0
Stadium IIA	T3	N0	M0	Stadium IIA	T3	N0	M0
Stadium IIB	T1-3	N1	M0	Stadium IIB	T1-3	N1	M0
Stadium III	T1-3	N2	M0	Stadium III	T4	Jedes N	M0
	T4	Jedes N	M0	Stadium IV	Jedes T	Jedes N	
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1	Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

**Tab. 9:** 8. und 7. Ausgabe der UICC-Stadieneinteilung im Vergleich. [66, 133]

Unter einer perineuralen Invasion (PNI) versteht man das Vorhandensein von Tumorzellen in allen drei Schichten des Nervens, dazu zählt das Endoneurium, Perineurium und Epineurium [134]. Findet man in diesen Schichten keine malignen Zellen, so handelt es sich um einen negativen perineuralen Status. Um die Tumorstadien der Pn0- und Pn1-Gruppen besser miteinander vergleichen zu können, wurden die Karzinome nach Tumordurchmesser und Arterieninfiltration (Truncus coeliacus; A. mesenterica superior; A. hepatica communis), gemäß dem aktuellen Konsens [135], in 4 Gruppen unterteilt:

- 1: Tumorgröße bis 2 cm
- 2: Tumorgröße 2 - 4 cm
- 3: Tumorgröße über 4 cm
- 4: Tumor weist eine Arterieninfiltration auf



Für die Beurteilung des Lymphknotenbefalls durch Tumorzellen, haben wir die Tumore in N0 (negativ) und N+ (positiv) eingeteilt.

### 6.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung dieser Arbeit wurde in enger Kollaboration mit Dario Zocholl vom Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) am Charité Campus Mitte vorgenommen. Eine Zusammenarbeit mit dem iBikE war notwendig, um aufwändigere statistische Untersuchungen ungleicher Gruppengrößen durchzuführen. Alle Daten beruhen auf einer explorativen Analyse, die zur Hypothesenfindung beitrug.

Für alle Analysen wurde die Statistiksoftware R (The R Foundation, Version 4.0.0) verwendet. Die kontinuierlichen Variablen werden als Median, dem Maximum und dem Minimum (Bereich, Standardabweichung) beschrieben und mit dem studentischen t-test verglichen. Für den Vergleich der kategorialen Variablen, wurde zwischen den einzelnen Gruppen der exakte Test nach Fisher durchgeführt. Überlebenszeitanalysen wurden anhand von Kaplan-Meier-Kurven grafisch dargestellt. Dazu zählt insbesondere die Untersuchung des krankheitsfreien- und Gesamtüberleben. Dafür wurden Subgruppenvergleiche mit Hilfe des Log-Rank-Tests analysiert. Für den Ausschluss von Störfaktoren und zur Angabe von Risikofaktoren, wurde zusätzlich eine Cox-Proportionale-Hazard-Regression durchgeführt. Multivariable Analysen mit PNI als Ergebnisvariable wurden mittels multipler logistischer Regression durchgeführt.

Das Konfidenzniveau wurde für alle Analysen auf 95% festgelegt und das Signifikanzniveau auf 5%. So ist ein p-Wert von  $<0,05$  als statistisch signifikant zu beurteilen. Für ein multiples Testen wurde kein p-Wert adjustiert.

## 7 Ergebnisse

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden im Journal of Clinical Medicine veröffentlicht [136].

### 7.1 Charakterisierung des eingeschlossenen Patientenkollektivs

Die Patientenkohorte schließt alle Patienten ein, die sich einer operativen Therapie eines PDAs zwischen 03/2008 und 2019 (12 Jahre) an der Chirurgischen Klinik der Charité Universitätsmedizin (CVK/CCM) unterzogen haben. Von den 660 identifizierten Patienten konnten in 571 Fällen (86,5%) die histopathologischen Aufzeichnungen vollständig ausgewertet werden. Das daraus gebildete Kollektiv umfasst 40 Patienten mit negativen (7% Pn0) und 531 Patienten mit positiven (93% Pn1) perineuralen Invasionsstatus. Die Merkmale dieser Patientengruppen werden in Tabelle 10 zusammengefasst und aufgeschlüsselt.

Es konnten 22 weibliche (55%) und 18 männliche (45%) Patienten identifiziert werden, bei denen keine perineurale Invasion festgestellt wurde (Pn0-Gruppe), mit einem Durchschnittsalter von 64,7 Jahren (Bereich 35-87). Die Gruppe mit perineuraler Invasion (Pn1-Gruppe) beinhaltet 242 weibliche (45,6%) und 289 männliche (54,4%) Personen mit einem Durchschnittsalter von 65,6 Jahren (Spanne 31-94). In beiden Kollektiven befand sich der Tumor überwiegend im Pankreaskopf (Pn0: 70%, Pn1: 75,1%), gefolgt vom Pankreasschwanz (Pn0: 17,5%, Pn1: 11,9%) und dem Pankreaskörper (Pn0: 7,5%, Pn1: 8,1%). Chirurgisch wurde das Karzinom entweder mit einer PPPD (Pn0: 50%, Pn1: 64,6%), dem Kausch-Whipple-Verfahren (Pn0: 12,5%, Pn1: 4,5%), der distalen Pankreatektomie (Pn0: 22,5%, Pn1: 14,3%) oder der totalen Pankreatektomie (Pn0: 15%, Pn1: 16,6%) entfernt. In beiden Patientengruppen gab es Patienten bei denen sowohl eine neoadjuvante (Pn0: 20%, Pn1: 10,5%), und/oder eine adjuvante (Pn0: 70%, Pn1: 61,2%) Chemotherapie durchgeführt wurde. Nachuntersuchungen wurden im Kollektiv der negativen perineuralen Invasion durchschnittlich für 24,2 Monaten (Intervall 0-89 Monate) und im Kollektiv der positiven Invasion für 16,6 Monaten (Intervall 0-146 Monate) beobachtet. Bei 81 Patienten (15,3%) der Pn1-Gruppe war es leider nicht möglich langfristige Nachuntersuchungen nachzuvollziehen (keine Nachbereitung). Ein Langzeitüberleben (über 5 Jahre) der Pn0-Gruppe konnte bei 4 Patienten (10%) verzeichnet werden, wohingegen das der Pn1-Gruppe nur bei 15 Patienten (2,8%;  $p=0,04$  nach exaktem Test nach Fischer) lag. Die 30-Tage Mortalität postoperativ war

ausschließlich in der Pn1-Gruppe relevant (5,6%). Bei 29 Patienten (72,5%) des Pn0-Kollektivs und bei 375 Patienten (70,6%) des Pn1-Kollektivs konnte keine Rekurrenz des Tumors dokumentiert werden. Nur bei insgesamt 167 Patienten (Pn0: 11, Pn1: 156) wurde ein Rezidiv des Tumors dokumentiert. Dieses trat in 11,9% in der Leber, 11,9% lokal und bei 2,8% in den Lungen auf. Insgesamt wiesen 30 Patienten (5,3%) eine andere Rezidivlokalisierung auf, eine multilokuläre Ausbreitung wurde bei 33 Patienten (5,8%) festgestellt. Ein präoperativer Diabetes mellitus Typ I wurde bei 19 Patienten (3,3%) in der Gesamtkohorte beobachtet, wohingegen ein präoperativer Diabetes Typ II bei 116 Personen (20,3%) derselben Gruppe beobachtet wurde, jeweils ohne Verteilungsunterschiede in den Gruppen. Statistisch relevante Abweichungen konnten in Bezug auf den Body-Mass-Index (BMI) der beiden Patientenkollektive festgestellt werden. Der mediane BMI der Pn0-Gruppe lag bei 23,6 kg/m<sup>2</sup> und in der Pn1-Gruppe bei 25,2 kg/m<sup>2</sup> (p=0,05, nach exaktem Test nach Fischer). Unterschiede zeichneten sich ebenfalls beim Carcinoembryonales Antigen- (CEA) Wert im Blut ab (p=0,28, nach exaktem Test nach Fischer), wobei dieser vermutlich aufgrund der unterschiedlichen Gruppengrößen keine Signifikanz erreichte. Die Pn0-Kohorte wies dabei einen durchschnittlichen Wert von 4,5 µg/l auf, wohingegen das Pn1-kollektiv mit 20 µg/l deutlich darüber lag. Ähnliche Ergebnisse erbrachte die Untersuchung der Carbohydrat-Antigen- (CA) 19-9-Konzentration postoperativ (p=0,49, nach exaktem Test nach Fischer). Dabei wurde in der Pn0-Gruppe ein medianes Ergebnis von 453,6 U/ml und in der Pn1-Gruppe von 888,5 U/ml verzeichnet. Regressionsanalysen konnten ebenfalls keinen signifikanten Einfluss dieser beiden Faktoren auf die PNI ergeben (p=0,19, Logistische Regressionsanalyse). Alle 12 Patienten der Gesamtkohorte, die einen non-selektiven Betablocker einnahmen, stammen aus der Pn1 Gruppe. Dem gegenüber stehen insgesamt 168 Studienteilnehmer, die  $\beta$ 1-selektive Betablocker konsumierten (Pn0: 9 Pn1: 159).

	<i>Total</i>	<i>%</i>	<i>Pn0</i>	<i>%</i>	<i>Pn1</i>	<i>%</i>	<i>Statistik*</i>
<b>Fälle</b>	571		40		531		
<b>Alter (Jahre)</b>	65.6 (+/-11.1)		64.7 (+/-10.5)		65.6 (+/-10.8)		p = 0.58
<b>Geschlecht</b>	weiblich 264 männlich 307	46.2 53.8	weiblich 22 männlich 18	55 45	weiblich 242 männlich 289	45.6 54.4	p = 0.26
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25.1 (+/-4.3)		23.6 (+/-4.0)		25.2 (+/-4.3)		<b>p = 0.05</b>
<b>Diabetes mellitus</b>							
DM I	19	3.3	0	0	19	3.6	p = 0.39
DM II	116	20.3	7	17.5	109	20.5	p = 0.84
<b>Betablocker</b>							
β1-selektiv	168	29.4	9	22.5	159	29.9	p = 0.22
Non-selektiv	12	2.1	0	0	12	2.3	
<b>CA19-9 (U/ml)</b>	846.3 (+/-3014)		453.6 (+/-1303)		888.5 (+/-3142)		p = 0.49
<b>CEA (µg/l)</b>	18.8 (+/-67.9)		4.5 (+/-3.2)		20.0 (+/-72.9)		p = 0.28
<b>Tumorklassifikation</b>							
Kopf	427	74.8	28	70	399	75.1	p = 0.77
Schwanz	70	12.3	7	17.5	63	11.9	
Körper	46	8.1	3	7.5	43	8.1	
Proc. uncinatus	28	4.9	2	5	26	4.9	
<b>Chirurgisches Vorgehen</b>							
PPPD	363	63.6	20	50	343	64.6	<b>p = 0.05</b>
Whipple	29	5.1	5	12.5	24	4.5	
Totale Resektion	94	16.5	6	15	88	16.6	
Distale Resektion	85	14.9	9	22.5	76	14.3	
<b>Chemotherapie</b>							
Pre-operativ	64	11.2	8	20	56	10.5	p = 0.11
Post-operativ	353	61.8	28	70	325	61.2	p = 0.31
<b>Klinisches Ergebnis</b>							
Nachbereitung (Monate)	17.2		24.2		16.6		<b>p = 0.04</b>
30-Tage Mortalität	28	5.2	0	0	28	5.6	p = 0.25
Tot	383	78.8	15	37.5	368	81.8	<b>p &lt; 0.001</b>
am Leben	103	18.0	21	52.5	82	15.4	<b>p &lt; 0.001</b>
keine Nachbereitung	85	14.9	4	10.0	81	15.3	p = 0.49
Langzeitüberlebende (>5 Jahre)	19	3.3	4	10.0	15	2.8	<b>p = 0.04</b>
<u>Rekurrenz</u>							
Ja	167	29.2	11	27.5	156	29.4	p = 0.86
Nein	404	70.8	29	72.5	375	70.6	
<u>Lokalisation der Rekurrenz</u>							
Lokal	44	11.9	3	7.5	41	7.7	
Leber	44	11.9	2	5.0	42	7.9	
Lunge	16	2.8	1	2.5	15	2.8	
Andere	30	5.3	3	7.5	27	5.1	
Multilokulär	33	5.8	2	5.0	31	5.8	

\*Exakter Test von Fisher für kategoriale Variablen und t-Test für kontinuierliche Variablen

**Tab. 10: Patientencharakteristika der Gesamtkohorte.\***

\*Modifiziert nach Felsenstein M et al. [135].

## 7.2 PNI korreliert mit Tumormasse und schlechter Prognose

Die resezierten Tumore wurden durch das Institut für Pathologie der Charité Universitätsmedizin Berlin (CCM) aufbereitet, begutachtet und gemäß der aktuellen TNM-Klassifikation eingeteilt. So war es möglich die Tumore in Größe, Infiltrationsstatus, Differenzierungsgrad und der erfolgreichen Tumorzelleliminierung miteinander zu vergleichen. Die Ergebnisse der histopathologischen Tumoruntersuchung innerhalb der Pn0- und Pn1-Gruppe sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Um die Infiltrationsstadien zwischen Pn0- und Pn1-Gruppe zu vergleichen, haben wir die Tumore entsprechend dem Tumordurchmesser und dem Vorhandensein einer Gefäßinfiltration eingeteilt. 30% der Pn0-Patienten wiesen einen pT1-Tumor auf (Pn0: pT1: 30%; pT2: 50%; pT3: 20%; pT4: 0%), wohingegen bei der Pn1-Gruppe nur 10,5% einen Tumordurchmesser unter 2cm aufwiesen (Pn1: pT1: 10,5%; pT2: 57,1%; pT3: 27,9%; pT4: 4,5%). Die Mehrheit der Pn1-Tumore wies Lymphknotenmetastasen auf (Pn1: N+: 75,5% versus Pn1: N-: 24,5%), während Lymphknoteninfiltrationen nur bei 40% der Pn0-Tumore auftraten (Pn0: N+: 40% versus Pn0: N-: 60%). Signifikante Unterschiede ( $p < 0,001$ , nach exaktem Test nach Fischer) konnten auch bei der Lymphangiosis carcinomatosa verzeichnet werden. 44,1% der Pn1-Tumore waren auf diesen Parameter positiv (Pn1 L1: 44,1%; Pn1 L0: 55,9%). Pn0-Tumore waren nur in 17,5% positiv für Lymphangiosis carcinomatosa (Pn0 L1: 17,5%; Pn0 L0: 82,5%). Deutliche Abweichungen konnten auch im Grading von Pn1-Patienten verzeichnet werden ( $p = 0,03$ , nach exaktem Test nach Fischer). Der Grad der Differenzierung verschob sich in Richtung G2 und G3 (Pn1 G1: 3%; Pn1 G2: 60,5%; Pn1 G3: 36,5%), wohingegen Pn0-Patienten vermehrt besser differenzierte Karzinome erkennen lassen (Pn0 G1: 10%; Pn0 G2: 67,5%; Pn0 G3: 22,5%). Bei der vaskulären Invasion konnten keine signifikanten Unterschiede, mit Hilfe des exakten Tests nach Fischer, zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

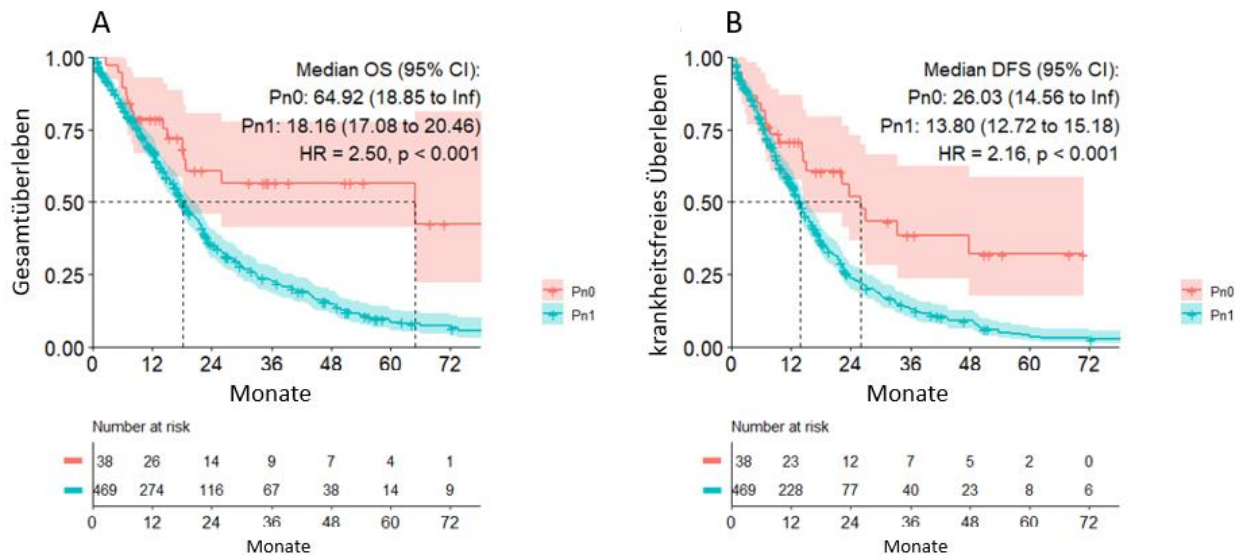
	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>Pn0</b>	<b>%</b>	<b>Pn1</b>	<b>%</b>	<b>Statistik*</b>
<b>Fälle</b>	571		40		531		
<b>Tumorstadium</b>							
pT1 (<2cm)	68	11.9	12	30	56	10.5	<b>p = 0.007</b>
pT2 (2-4cm)	323	56.6	20	50	303	57.1	
pT3 (>4cm)	156	27.3	8	20	148	27.9	
pT4 (Gefäßinfiltration)	24	4.2	0	0	24	4.5	
<b>Lymphknotenmetastasen</b>							
N-	154	27	24	60	130	24.5	<b>p &lt; 0.001</b>
N+	417	73	16	40	401	75.5	
<b>Entfernte Metastasen</b>							
M0	510	89.3	38	95	472	88.9	<b>p = 0.3</b>
M1	61	10.7	2	5	59	11.1	
<b>Histologischer Grad</b>							
G1	20	3.5	4	10	16	3	<b>p = 0.03</b>
G2	348	60.9	27	67.5	321	60.5	
G3	203	35.6	9	22.5	194	36.5	
<b>Resektionsrand</b>							
R0	359	62.9	31	77.5	328	61.8	<b>p = 0.06</b>
R1	212	37.1	9	22.5	203	38.2	
<b>Vaskuläre Infiltration</b>							
V0	467	81.8	37	92.5	430	81	<b>p = 0.09</b>
V1	104	18.2	3	7.5	101	19	
<b>Lymphatische Infiltration</b>							
L0	330	57.8	33	82.5	297	55.9	<b>p &lt; 0.001</b>
L1	241	42.2	7	17.5	234	44.1	

\*Exakter Test von Fisher für kategoriale Variablen und t-Test für kontinuierliche Variablen

**Tab. 11:** Histopathologischer Tumorstatus der Pn0- und Pn1-Gruppe.\*

\*Modifiziert nach Felsenstein M et al. [135].

Das mediane Gesamtüberleben (OS) in der Pn0-Gruppe betrug 64,9 Monate im Vergleich zur Pn1-Gruppe mit 18,2 Monaten (Abb. 6a). Auch das krankheitsfreie Überleben (DFS) der Patienten mit negativer perineuraler Invasion war mit durchschnittlich 26 Monaten deutlich höher als das der Patienten mit positivem perineuralen Status, deren durchschnittliches DFS 13,8 Monate (Abb. 6b) betrug.



**Abb. 6:** Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben der resezierten PDA-Patienten (Pn0 vs. Pn1). **(A)** Gesamtüberleben der Pn0 und Pn1 Gruppe. **(B)** Krankheitsfreies Überleben der Pn0 und Pn1 Gruppe. [135]

Durch ein logistisches Regressionsmodell konnten wir verschiedenen Variablen und ihren unabhängigen Einfluss auf die perineurale Invasion innerhalb dieser Patientenkohorte untersuchen. Dabei stellte die Lymphknotenmetastasierung einen signifikanten Prädiktor ( $p=0,008$ , Logistische Regressionsanalyse) für PNI dar (Tab. 12). Andere unabhängige untersuchte Variablen zeigten keine statistisch nachweisbaren Unterschiede auf.

20% (8/40) der Patienten in der Pn0-Gruppe und 10,5% (58/531) der Patienten in der Pn1-Gruppe erhielten eine neoadjuvante Chemotherapie. Die Regressionsanalyse zeigte keinen signifikanten Einfluss der neoadjuvanten Chemotherapie auf die Infiltration von Nerven durch Tumorzellen. Ähnlich verhielt es sich mit den präoperativen Parametern BMI, Diabetes mellitus Typ I und II, Medikation mit selektiven und nicht selektiven Betablockern, sowie CA 19-9-Werten. Statistisch relevante Unterschiede der CEA-Werte in der Vergleichsanalyse zwischen der Pn0- und der Pn1-Gruppe, konnten in der logistischen Regressionsanalyse nicht validiert werden.

Einfluss auf PNI				
Term	Schätzung	SE	Statistik	p-Wert
Nullmodell	4.369	0.772	1.910	0.056
Alter	1.155	0.323	0.444	0.657
Geschlecht	0.615	0.684	-0.710	0.478
Tumorstadium	0.747	0.736	-0.395	0.693
G3 vs. G1-2	1.921	0.755	0.864	0.388
R1 vs. R0	3.166	0.892	1.292	0.196
N+ vs. N-	6.080	0.679	2.659	<b>0.008</b>
Neoadjuvante Chemotherapie	0.830	0.705	-0.264	0.792
BMI	1.517	0.315	1.325	0.185
Diabetes mellitus Typ II	0.480	0.813	-0.905	0.366
CEA	5.105	2.140	0.762	0.446
CA 19-9 (vor OP)	0.924	0.285	-0.278	0.781

**Tab. 12:** Logistische Regressionsanalyse von verschiedenen Variablen und ihr Einfluss auf die perineurale Invasion. [135]

Anhand der erfassten Daten konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Pn1-Gruppe und der fortgeschrittenen Tumorausbreitung festgestellt werden. Diese manifestiert sich im Tumorstadium, Lymphknotenmetastasen, dem histologischen Differenzierungsgrad und der Lymphangiosis carcinomatosa. Insgesamt führt dies zu schlechterer Prognose und reduzierter Überlebensrate von Patienten mit einer Perineuralscheideninfiltration. Auch Patienten, die R0-reseziert wurden, aber dennoch eine PNI aufweisen, erleiden signifikant häufiger und früher ein Rezidiv als Patienten mit gleichem Resektionsstatus, aber nicht vorhandener Tumorerinfiltration in Nerven (siehe Kapitel 7.3.).



### 7.2.1 Klinische und histopathologische Prädiktoren für das Gesamt- (OS) und krankheitsfreie (DFS) Überleben

Es war bereits bekannt, dass der Pn0-Status mit einem verbesserten krankheitsfreien und langfristigen Gesamtüberleben einhergeht [79]. Die in unserer Studie durchgeführte Regressionsanalyse konnte diese These stützen. Zur Analyse der Merkmale von PDA-Patienten, die möglicherweise einen signifikanten Einfluss auf das DFS und OS haben, wurde ein Cox-Proportional-Hazard-Regressionsmodell durchgeführt. Durch die Betrachtung der Hazard-Funktion im Cox-Modell, konnten einzelne autonome Einflussvariablen auf das Gesamtüberleben und das krankheitsfreie Überleben ermittelt werden.

Beim Gesamtüberleben konnten als Prädiktoren folgende Merkmale ermittelt werden (Tab. 13):

- R1 (HR: 1,69;  $p < 0,001$ )
- PNI (HR: 2,13;  $p = 0,009$ )
- Adjuvante Chemotherapie (HR: 0,6;  $p = 0,007$ )

Beim krankheitsfreien Überleben konnten folgende Parameter identifiziert werden (Tab. 14):

- R1 (HR: 1,56;  $p < 0,001$ )
- PNI (HR: 2,09;  $p = 0,013$ )
- G3 (HR: 1,25;  $p = 0,035$ )

Das mediane Gesamtüberleben und krankheitsfreie Überleben der Pn0-Gruppe lag signifikant über dem der Pn1-Gruppe. Durch das angewandte Regressionsmodell war es uns möglich mehrere unabhängige Prädiktoren für das OS und DFS zu ermitteln. Dabei stellte sich heraus, dass PNI nicht nur einen Einfluss auf das krankheitsfreie Überleben hat, sondern auch auf das Gesamtüberleben der betroffenen Patienten. Auch ein positiver Resektionsrand (R1) konnte als Prädiktor für das OS und DFS ermittelt werden.

Gesamtüberleben				
Term	Schätzung	SE	Statistik	p-Wert
Alter	1.021	0.005	3.902	<b>&lt;0.001</b>
Geschlecht	0.827	0.109	-1.739	0.082
Pn1 vs. Pn0	2.013	0.270	2.596	<b>0.009</b>
Tumorstadium	1.203	0.116	1.591	0.112
N+ vs. N-	1.190	0.130	1.340	0.180
R1 vs. R0	1.708	0.115	4.637	<b>&lt;0.001</b>
G3 vs. G1-2	1.211	0.112	1.706	0.088
Adjuvante Chemotherapie	0.721	0.121	-2.696	<b>0.007</b>
Neoadjuvante Chemotherapie	0.601	0.240	-2.121	<b>0.034</b>

**Tab. 13:** Multivariablen-Cox-Regressions-Analyse zum Gesamtüberleben. [135]

Krankheitsfreies Überleben				
Term	Schätzung	SE	Statistik	p-Wert
Alter	1.014	0.005	2.712	<b>0.007</b>
Geschlecht	0.872	0.109	-1.261	0.207
Pn1 vs. Pn0	1.963	0.271	2.490	<b>0.013</b>
Tumorstadium	1.204	0.117	1.592	0.111
N+ vs. N-	1.308	0.130	2.058	<b>0.040</b>
R1 vs. R0	1.568	0.116	3.885	<b>&lt;0.001</b>
G3 vs. G1-2	1.269	0.113	2.112	<b>0.035</b>
Adjuvante Chemotherapie	0.936	0.123	-0.538	0.590
Neoadjuvante Chemotherapie	0.658	0.241	-1.737	0.082

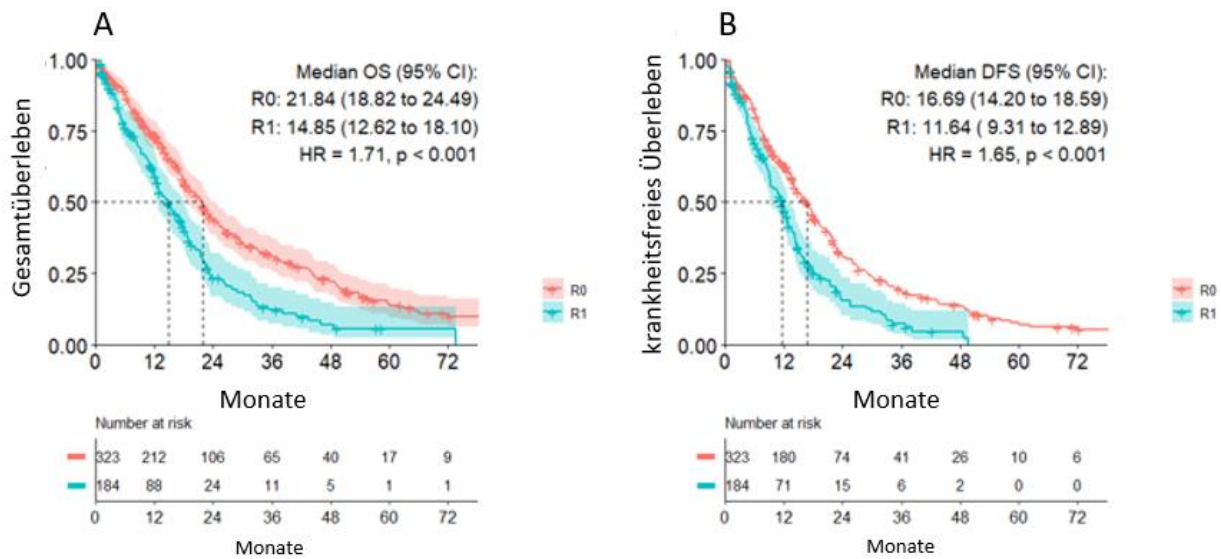
**Tab. 14:** Multivariablen-Cox-Regressions-Analyse zum krankheitsfreien Überleben. [135]

### 7.3 Die Auswirkung der R0-Resektion auf das OS und DFS

Zur kurativen Therapie von PDA-Patienten wird aus onkologischer und chirurgischer Sicht eine R0-Resektion angestrebt, sofern das PDA als resektabel eingeschätzt wird [6]. Trotz der operativen Tumorentfernung tritt in der histopathologischen Aufarbeitung der Präparate durch die Pathologie, bei der Mehrheit der R0-resezierten Patienten eine PNI auf und verschlechtert nachweislich das DFS und OS [71].

62,9% (359/571) der hier betrachteten Studienpopulation wiesen tumorfreie Resektionsränder auf (R0). 77,5% (31/40) der Pn0-Patienten konnten postoperativ einen R0-Status aufweisen, wohingegen es bei den Pn1 Patienten nur 61,8% (328/531) waren. Damit war die angestrebte R0-Resektionsrate in der Pn0-Gruppe höher (Tab. 11).

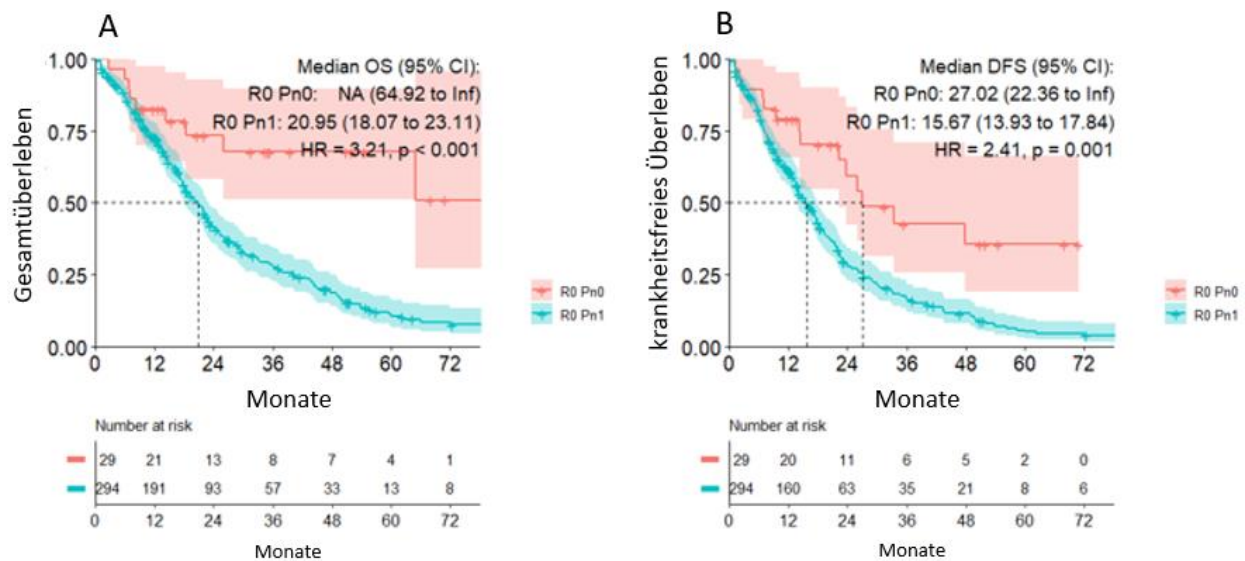
In einer Kaplan-Meier-Analyse haben wir das OS und das DFS der R0-Resezierten mit dem der R1-Resezierten Patienten unabhängig von ihrem perineuralen Status verglichen (Abb. 7a und 7b). Hierbei kam heraus, dass Patienten, die tumorfreie zirkumferente Resektionsränder aufwiesen, ein medianes Gesamtüberleben von 21,8 Monaten aufwiesen. Im Vergleich dazu zeigten unsere R1-resezierten Patienten ein medianes OS von 14,9 Monaten. Ähnlich verhielt es sich mit dem krankheitsfreien Überleben der Betroffenen (R0: 16,7 Monate; R1: 11,6 Monate). Damit liegt sowohl das Gesamtüberleben als auch das krankheitsfreie Überleben der R0-Patienten signifikant ( $p < 0,001$ , Kaplan-Meier-Analyse) über dem der R1-Patienten.



**Abb. 7:** Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben von resezierten PDA-Patienten (R0 vs. R1). **(A)** Gesamtüberleben von resezierten PDA-Patienten. **(B)** Krankheitsfreies Überleben von resezierten PDA-Patienten.

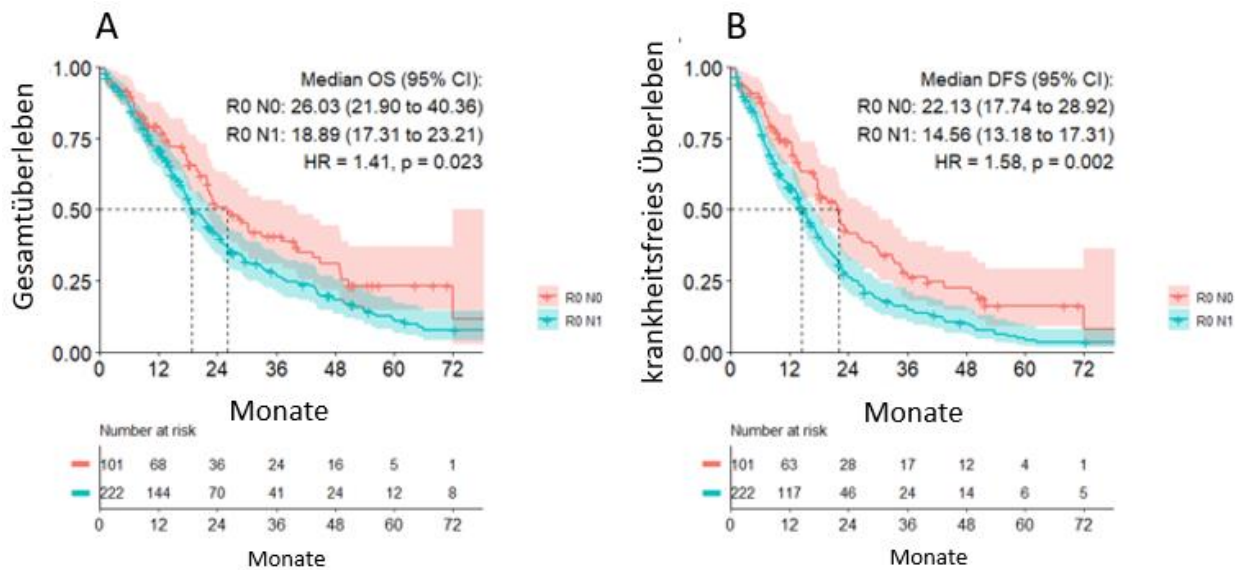
Eine Subgruppenanalyse aller R0-Resezierten, bei der wir die Resezierten zusätzlich nach ihrem perineuralen Status einteilten, ergab, dass die meisten der R0-Resezierten Tumore bereits eine Nerveninfiltration aufwiesen (R0 Pn1: 328/359; 91,4% vs. R0 Pn0: 31/359; 8,6%). Um zu prüfen, inwieweit die PNI das DSF und das OS von R0- resezierten PDA-Patienten beeinträchtigt, wurde eine Kaplan-Meier-Analyse dieser Probanden durchgeführt.

Dabei ergab sich ein statistisch signifikant verbessertes krankheitsfreies Überleben von R0-Pn0-Patienten im Vergleich zu R0-Pn1-Patienten. Das mediane krankheitsfreie Überleben betrug 27 Monate in der R0-Pn0-Gruppe und 15,7 Monate in der R0-Pn1-Gruppe (Abb. 8b). Demnach haben perineural positive Patienten mit tumorfreien Resektionsrändern ein deutlich höheres Risiko (HR: 2,41; p=0,001, Kaplan-Meier-Analyse), als die R0-Pn0-Patienten eine Rezidiv zu erleiden. Ebenfalls konnte ein besseres Gesamtüberleben in der R0-Pn0-Gruppe als in der R0-Pn1-Gruppe gezeigt werden (Abb. 8a). Das mediane Gesamtüberleben der R0-Pn1-Gruppe betrug 21 Monate.



**Abb. 8:** Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben von PDA-Patienten (R0-Pn0 vs. R0-Pn1). **(A)** Gesamtüberleben von resezierten PDA-Patienten. **(B)** Krankheitsfreies Überleben von resezierten PDA-Patienten. [135]

Eine weitere Kaplan-Meier-Analyse der gesamten R0-Patienten (359) in Bezug auf ihren Lymphknotenstatus zeigte, dass auch dieser einen wesentlichen Einfluss auf das DFS der Betroffenen hat. Wir haben in der Pn0-Gruppe 31 Patienten mit einem R0-Status identifizieren können, von denen 22 einen negativen Lymphknotenstatus (N0) hatten (Pn0-R0-N0). In der Pn1 Gruppe wurden 328 Patienten mit einem R0-Status ermittelt, von denen 238 einen positiven Lymphknotenstatus (N1) aufwiesen (Pn1-R0-N1). Anhand der vorgenommenen Analyse konnten wir in Bezug auf das krankheitsfreie Überleben einen statistisch signifikanten Unterschied der R0-N0-Gruppe im Vergleich zur R0-N1-Gruppe feststellen ( $p=0,002$ , Kaplan-Meier-Analyse). Die Patienten mit gesunden Resektionsrändern und negativen Lymphknotenstatus leben durchschnittlich 22,1 Monate krankheitsfrei (Abb. 9b), wohingegen bei R0-Patienten mit positiven Lymphknotenstatus nur 14,6 Monate ohne Rezidiv verzeichneten wurden. Auch das Gesamtüberleben der R0-N0-Gruppe lag signifikant über dem der R0-N1-Gruppe (Abb. 9a).



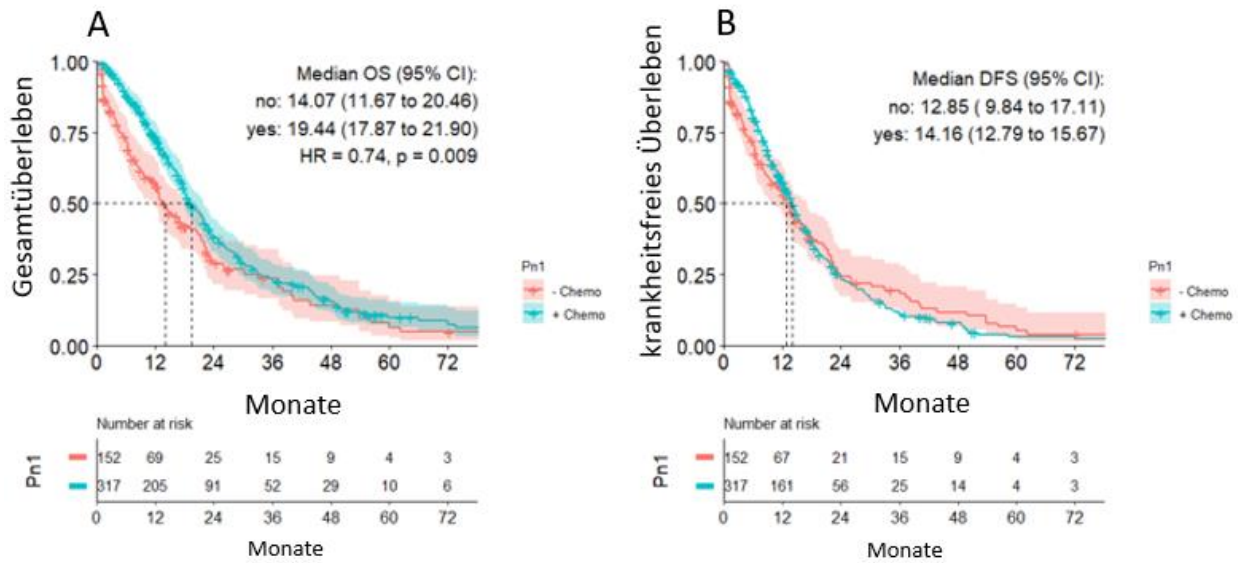
**Abb. 9:** Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben der R0-resezierten PDA-Patienten mit positiven oder negativen Lymphknotenbefall (N0 vs. N1). **(A)** Gesamtüberleben der resezierten PDA-Patienten. **(B)** Krankheitsfreies Überleben der resezierten PDA-Patienten.

Wir konnten mit Hilfe dieser Analysen zeigen, dass sowohl die R0-Resektion als auch eine negative Nervenscheideninvasion zu verbesserten Prognosen aller Subgruppen führte. Gleichfalls stellen diese Ergebnisse einen weiteren Nachweis dar, dass die Nerveninfiltration trotz R0-Resektion einen erheblichen Einfluss auf die Überlebensprognosen und die Erkrankungsrekurrenz der Patienten hat. Auch den Zusammenhang des tumorfreien Resektionsrands mit Lymphknotenbefall und der Rekurrenz der Erkrankung konnten wir beweisen. Diese Ergebnisse verdeutlichen die Wichtigkeit des intraoperativen tumorfreien Resektionsrands und dessen Einfluss auf das krankheitsfreie und Gesamtüberleben der Betroffenen.

## 7.4 Der Einfluss adjuvanter und neoadjuvanter Chemotherapie auf das OS und DFS

Wie in der Einleitung bereits aufgeführt verbessert eine postoperativ angewandte Chemotherapie das Gesamtüberleben von allen PDA-Patienten. 353/571 Patienten (61,8%) der Studienpopulation erhielten eine adjuvante Chemotherapie: 70% (28/40) der Pn0-Patienten und 61,2% (325/531) der Pn1-Patienten. Zu den angewandten Chemotherapeutika zählten mFOLFIRINOX und Gemcitabin oder der Einschluss in klinische Studien (CONKO-005, CONKO-006, ABACT, HEAT). Die ergänzende Tabelle fasst alle chemotherapeutischen Behandlungen der Studienkohorte zusammen (Tab. 15).

Die durchgeführte Kaplan-Meier-Analyse zeigte ein signifikant verbessertes Gesamtüberleben der Pn1-Patienten, die eine postoperative Chemotherapie erhielten. Das mediane Gesamtüberleben betrug 19,4 Monate bei dieser Gruppe, im Vergleich zu 14 Monaten bei Patienten mit perineuraler Invasion, die keine postoperative Chemotherapie erhielten (Abb. 10a). Ebenso war beim krankheitsfreien Überleben (DFS) der Unterschied zwischen durchgeführter und nicht durchgeführter postoperativer Chemotherapie bei Pn1-Patienten nachweisbar (14,2 Monate vs. 12,9 Monate) (Abb. 10b), jedoch statistisch nicht signifikant. Bei Patienten mit Pn0-Tumoren konnte hierbei keine Abweichung in Bezug auf das Gesamtüberleben und das krankheitsfreie Überleben ermittelt werden.



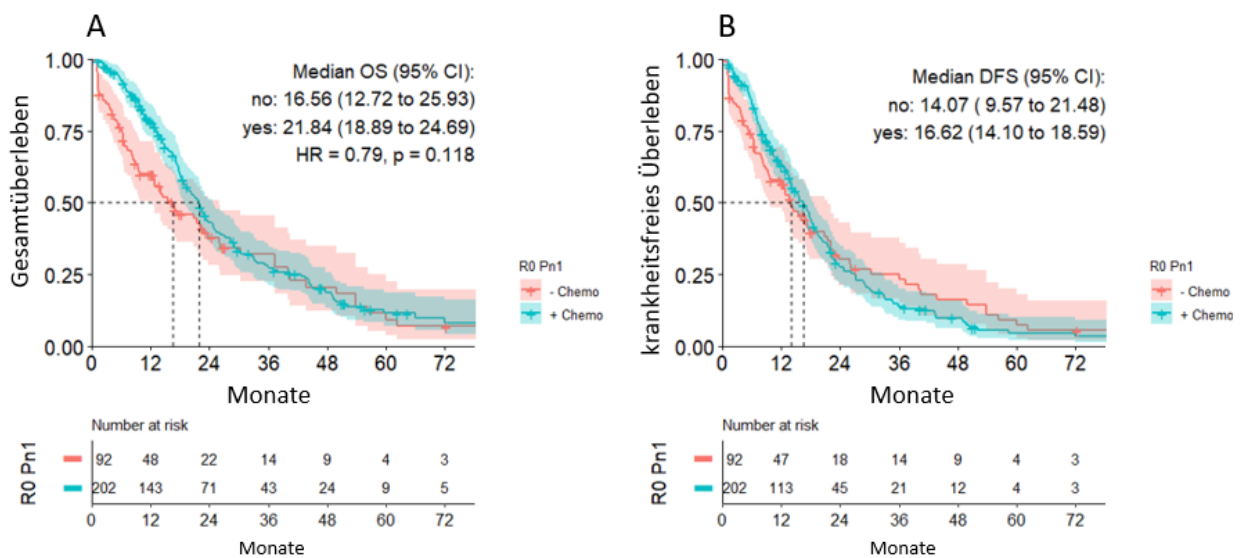
**Abb. 10:** Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben von Pn1-Patienten mit oder ohne postoperative Chemotherapie. **(A)** Gesamtüberleben der Pn1-Patienten. **(B)** Krankheitsfreies Überleben der Pn1-Patienten. [135]

	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>Pn0</b>	<b>%</b>	<b>Pn1</b>	<b>%</b>
<b>Chemotherapie</b>	<b>571</b>		<b>40</b>		<b>531</b>	
<b>Präoperativ</b>						
nein	507	89	32	80	475	89.4
ja	64	11	8	20	56	10.5
platinbasiert	36		5		31	
gemcitabinbasiert	39		3		36	
andere	2		0		2	
<b>Postoperativ</b>						
nein	218	62	12	30	206	38.7
ja	353	38	28	70	325	61.2
platinbasiert	103		12		91	
gemcitabinbasiert	284		21		263	
andere	10		1		9	

**Tab. 15:** Chemotherapeutische Behandlung des Patientenkollektivs.



Eine Subgruppenanalyse von Patienten mit R0-Pn1-Tumoren ergab, dass bei diesen Patienten Abweichungen zwischen der Anwendung und dem Unterlassen einer adjuvanten Chemotherapie bestehen. Die Anwendung einer postoperativen Chemotherapie konnte das Gesamtüberleben steigern (21,8 Monate vs. 16,56 Monate) (Abb. 11a), während nur eine Tendenz aber keine statistischen Unterschiede beim krankheitsfreien Überleben innerhalb dieser Gruppe ermittelt werden konnte. Deren medianes krankheitsfreies Überleben betrug 16,6 Monate mit Anwendung einer postoperativen Chemotherapie und 14,1 Monate ohne (Abb. 11b).



**Abb. 11:** Gesamtüberleben und krankheitsfreies Überleben von R0-Pn1-Patienten mit oder ohne postoperative Chemotherapie. **(A)** Gesamtüberleben von R0-Pn1-Patienten. **(B)** Krankheitsfreies Überleben von R0-Pn1-Patienten. [135]

## 7.5 Patienten mit Langzeitüberleben nach Resektion

Um Aussagen über das Langzeitüberleben der Patienten zu treffen, haben wir die PDA-Patienten betrachtet und miteinander verglichen, die 60 Monate (5 Jahre) und mehr nach Resektion überlebt haben (siehe Tabelle 16). Insgesamt konnten wir 19 Patienten ermitteln, wovon 4 (10%) aus der Pn0-Gruppe und 15 (2,8%) aus der Pn1-Gruppe stammen ( $p=0,04$ , nach exaktem Test nach Fischer). Die Geschlechterverteilung der beiden Gruppen war annähernd gleich. Tabelle 16 gibt weitere Charakteristika dieser 19 Patienten wieder in Bezug auf Tumorlokalisation, Vorerkrankung, Medikation und therapeutischem Vorgehen (OP-Verfahren, Chemotherapie) sowie der Rezurrenz-Lokalisation. Bei insgesamt 3 Studienteilnehmern (Pn0: 1, Pn1: 2) konnte ein Diabetes mellitus Typ II festgestellt werden. Der mediane BMI der Pn1-Gruppe lag mit  $25,6 \text{ kg/m}^2$  höher als bei der Pn0-Gruppe (BMI:  $22,4 \text{ kg/m}^2$ ). Andersherum verhielt es sich mit den Ca 19-9 und CEA-Werten (Ca 19-9: Pn0:  $26,2 \text{ U/ml}$ , Pn1:  $14,1 \text{ U/ml}$ , CEA: Pn0:  $7,3 \text{ µg/l}$ , Pn1:  $2,2 \text{ µg/l}$ ), die bei der Pn1-Gruppe deutlich über der der Pn0-Patienten lag. Mehr als die Hälfte (52,6%: Pn0:2, Pn1: 8) der Karzinome trat im Pankreaskopf auf. Bei jeweils 3 der 19 Patienten war das Malignom im Pankreaskörper (Pn0: 0, Pn1: 3), Pankreasschwanz (Pn0: 0, Pn1: 3) oder dem Processus uncinatus (Pn0: 2, Pn1: 1) zu finden. 73,7 % der Langzeitüberlebenden erhielten, nach der Resektion eine Chemotherapie, trotzdem trat bei insgesamt 8 Patienten eine Rezurrenz des Tumors auf. Am häufigsten kam es zu lokalen Rezidiven (15,8%), gefolgt von den Lungen (10,5%), der Leber (5,3%) und anderen Lokalitäten (5,3%). Bei einem Patienten aus der Pn1-Gruppe konnten sogar multilokulär Rezidive festgestellt werden. In Tabelle 17 ist eine Darstellung der wenigen Langzeitüberlebenden nach histopathologischen Kriterien erfolgt. Auch bei den Personen, die eine 5-Jahres-Überlebensrate aufwiesen, traten bei der Mehrzahl Lymphknotenmetastasen auf. Jedoch erfolgte in 18 von 19 Fällen eine Resektion im Gesunden. Dies unterstreicht die Bedeutung des tumorfreien Resektionsrandes hinsichtlich der Überlebensprognosen von Patienten mit PDA.

Durch die sehr geringe Anzahl der Langzeitüberlebenden, ist es nicht möglich eine nähergehende statistische Auswertung dieser Daten durchzuführen. Trotzdem konnten wir eine auffällig hohe Prävalenz der Langzeitüberlebenden in unserer Pn0-Gruppe feststellen. Inwiefern sich diese auch statistisch auswirkt, bleibt abzuwarten. Zukünftig sollten diese Patienten in einer separaten Datenbank aufgelistet werden, um bei einer größeren Fallzahl eine statistische Nachuntersuchung vornehmen zu können. So könnte, mit ähnlichen Verfahren, eine Erkenntnis darüber erlangt werden, welche Parameter sich signifikant auf das Langzeitüberleben dieser Patienten auswirken.

	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>Pn0</b>	<b>%</b>	<b>Pn1</b>	<b>%</b>
<b>Fälle</b>	19		4		15	
<b>Alter (Jahre)</b>	61,2		63,5		60,6	
<b>Geschlecht</b>	weiblich 9 männlich 10	47,4 52,6	weiblich 2 männlich 2	50 50	weiblich 7 männlich 8	46,6 53,3
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	24,9		22,4		25,6	
<b>Diabetes mellitus</b>						
DM I	0	0	0	0	0	0
DM II	3	15,8	1	25	2	13,3
<b>Betablocker</b>						
β1-selektiv	4	21,1	1	25	3	20
Non-selektiv	1	5,3	0	0	1	6,7
<b>Ca 19-9 (U/ml)</b>	16,2		26,2		14,1	
<b>CEA (µg/l)</b>	3,2		7,3		2,2	
<b>Tumorlokalisation</b>						
Kopf	10	52,6	2	50	8	53,3
Schwanz	3	15,7	0	0	3	20
Körper	3	15,7	0	0	3	20
Proc. Uncinatus	3	15,7	2	50	1	6,7
<b>Chirurgisches Vorgehen</b>						
PPPD	12	63,2	2	50	10	66,7
Whipple	2	10,5	1	25	1	6,7
Total	2	10,5	1	25	1	6,7
Distal	3	15,8	0	0	3	20
<b>Chemotherapie</b>						
Präoperativ	0	0	0	0	0	0
Postoperativ	14	73,7	4	100	10	66,7
<b>Klinisches Ergebnis</b>						
Nachuntersuchung (Monate)	82,5		73,2		85	
<u>Rekurrenz</u>						
ja	8	42,1	2	50	6	40
nein	11	57,9	2	50	9	60
<u>Lokalisation der Rekurrenz</u>						
Lokal	3	15,8	1	25	2	13,3
Leber	1	5,3	0	0	1	6,7
Lunge	2	10,5	1	25	1	6,7
Andere	1	5,3	0	0	1	6,7
Multilokulär	1	5,3	0	0	1	6,7

**Tab. 16:** Patientencharakteristika der Langzeitüberlebenden (über 5 Jahre).

	<b>Total</b>	<b>%</b>	<b>Pn0</b>	<b>%</b>	<b>Pn1</b>	<b>%</b>
<b>Fälle</b>	19	100	4	21,1	15	78,9
<b>Tumorstadium</b>						
pT1 (<2cm)	5	26,3	2	50	3	20
pT2 (2-4cm)	11	57,9	1	25	10	66,7
pT3 (>4cm)	3	15,8	1	25	2	13,3
pT4 (Gefäßinfiltration)	0	0	0	0	0	0
<b>Lymphknotenmetastasen</b>						
N-	5	23,3	2	50	3	20
N+	14	73,7	2	50	12	80
<b>Entfernte Metastasen</b>						
M0	19	100	4	100	15	100
M1	0	0	0	0	0	0
<b>Histologischer Grad</b>						
G1	1	5,3	1	25	0	0
G2	14	73,7	3	75	11	73,3
G3	4	21	0	0	4	26,7
<b>Resektionsrand</b>						
R0	18	94,7	4	100	14	93,3
R1	1	5,3	0	0	1	6,7
<b>Gefäßinvasion</b>						
V0	18	94,7	4	100	14	93,3
V1	1	5,3	0	0	1	6,7
<b>Lymphgefäßinvasion</b>						
L0	13	68,4	3	75	10	66,7
L1	6	31,6	1	25	5	33,3

**Tab. 17:** Histopathologische Begutachtung der Langzeitüberlebenden (über 5 Jahre).

## 8 Diskussion

### 8.1 Die perineurale Invasion - eine ubiquitär vorliegende Erscheinung des PDAs?

In unserer Studie wollten wir im Wesentlichen die Auswirkungen der perineuralen Invasion bei kurativ resezierten Patienten mit PDA untersuchen. PDA weist im Vergleich zu anderen soliden Malignomen die höchsten Raten von PNI auf [130]. Die Inzidenz variiert je nach Studie zwischen 60 und 95% [49, 79, 130, 137]. Die perineurale Infiltration durch Tumorzellen stellt ein häufig auftretendes Merkmal des PDAs dar, tritt aber nicht ausschließlich bei dieser Erkrankung auf.

In unserer Kohorte wiesen 93% aller resezierten PDA-Patienten eine, vom Institut für Pathologie der Charité Universitätsmedizin Berlin (CCM) histopathologisch bestätigte PNI auf. Die erhobenen Daten deuten darauf hin, dass PNI mit dem Fortschreiten des Tumorstadiums korreliert. Die meisten Pn1-Patienten wiesen pT2- und pT3-Tumore auf, während 30% der Pn0-Tumore ein pT1-Stadium aufwiesen. Wir konnten auch höhere Raten an Lymphknotenmetastasen und lymphatischer Invasion bei Pn1-Patienten beobachten. In früheren Untersuchungen konnte bereits festgestellt werden, dass die perineurale Hülle wahrscheinlich als konsekutiver Tumorprogressionsweg in umliegendes Gewebe und Lymphknoten dient [138, 139]. Andere Studien konnten aber auch zeigen, dass PNI unabhängig von Lymphknotenmetastasen auftreten kann [78, 103]. Wir vermuten, ähnlich wie bei *Cheng P. et. al* beschrieben, dass PNI und der Befall von lymphogenen Gewebe zwei voneinander unabhängige Wege der Tumorprogression darstellen, jedoch miteinander in Verbindung stehen können [139]. PDA hat nicht nur einen Wachstumseffekt auf Nerven, sondern löst auch eine Lymphangiogenese aus, die mit einer erhöhten Dichte von Lymphgefäßen korreliert [140-142]. Da sich diese Lymphgefäße hauptsächlich im peripankreatischen Nervenplexus (PNP) befinden, deuten diese Studien daraufhin, dass die neugebildeten Lymphgefäße wahrscheinlich den Hauptweg für die Ausbreitung von Tumorzellen in den PNP sind. PNI ist vermehrt mit pT3-Tumoren und positiven Lymphbefall assoziiert [6], was jedoch auch auf den Resektionszeitpunkt der Tumore zurückzuführen sein kann. Die Tumore der Pn1-Gruppe wurden tendenziell in einem späteren Tumorstadium reseziert als die der Pn0-Gruppe, was die vermehrte räumliche Ausdehnung des Tumors erklärt. Der Anstieg der

Tumormasse lässt die Lymphangiogenese und das perineurale Wachstum fortschreiten. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit eines positiven Lymphknoten- und Nervenbefundes, sowie die Tumorprogression über die Lymphbahnen erhöht. Anhand unserer Studienkohorte konnten wir zeigen, dass PDA-Patienten mit Pn1 im Vergleich zu Patienten mit Pn0-PDA ein schlechteres Gesamtüberleben und ein geringeres krankheitsfreies Überleben aufweisen. Vergleichbare Ergebnisse konnten durch eine große multizentrische Studie von *Crippa et al.* gezeigt werden [77]. Deren Kohorte berücksichtigte 778 Patienten mit vergleichbaren demographischen, klinisch-pathologischen, perioperativen und postoperativen Daten. Es wurde eine PNI-Rate von 87% dokumentiert, im Vergleich zu 93% in unserer Kohorte. Ebenfalls kam es im Rahmen der 2020 veröffentlichten Studie zu einer steigenden PNI-Rate, bei einhergehend zunehmender Tumorgröße, Lymphknotenmetastasen und nicht tumorfreien Resektionsrändern. Ein wesentlicher Unterschied kann in der Rezidivrate verzeichnet werden. *Crippa et al.* beschreiben eine Gesamtrezidivrate von 42,6%. Davon wiesen 30,4% ein lokales, 12,2% sowohl ein lokales als auch systemisches und 57,6% ausschließlich ein systemisches Rezidiv auf. Auch eine Studie des John Hopkins University Hospitals kommt auf eine Gesamtrezidivrate von 51,2% nach 12 Monaten [78]. Eine Rekurrenz konnte in unserer Studie insgesamt bei 29,2% festgestellt werden. Unsere Studie weist jedoch auch Einschränkungen auf. Es handelt sich um eine retrospektive Beobachtungsstudie mit noch nicht vervollständigten Follow-up (3-Jahre Beobachtungszeitraum nach Studienende) und damit einhergehenden Beobachtungsfehlern („Observation bias“). Zu den typischen Fehlerquellen von retrospektiven Studien zählen vornehmlich: das Fehlen von essenziellen Daten, kein vorhandener Kausalitätsnachweis und das Stützen der Ergebnisse auf bereits vorhandene Daten, die von mehreren Personen mit unterschiedlicher Wahrnehmung erhoben wurden [143]. Auch wenn wir als zertifiziertes Pankreaszentrum im Rahmen von Studien auf Registerdaten zugreifen können, entgehen uns Patienten der weiteren Beobachtung („Lost-to-follow-up“), aufgrund der in Deutschland eher dezentral organisierten onkologischen Nachbehandlung. Zudem unterliegen unsere Daten aufgrund der unterschiedlich verfügbaren Behandlungsprotokolle für PDA-Patienten der letzten 10 Jahre weiteren Beobachtungsfehlern. Dennoch gilt die Chirurgische Klinik der Charité als ein erfahrenes und hochvolumiges Pankreaszentrum, welches es uns ermöglichte, demografische Daten der Patienten im Einklang mit Berichten aus anderen

Zentren zu dokumentieren. Es handelt sich bei unserer Analyse um eine große Einzel-Zentrums („Single-Center“) -Studie, wodurch von einer gleichmäßigen Verteilung wichtiger Studienparameter in den Patientenkohorten und der pathologischen Befundung ausgegangen werden kann.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass PNI eine häufige aber nicht ubiquitär vorkommende Erscheinung des PDA ist und weiterhin in Studien genau untersucht werden sollte. Mit unserer Studie konnten wir zeigen, dass PDA-Patienten mit Pn1 im Vergleich zu PDA-Patienten mit Pn0 ein verschlechtertes krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben aufweisen. Adenokarzinomzellen modulieren nicht nur das Nervensystem, sondern haben vermutlich auch einen Einfluss auf das Wachstum von Lymphbahnen, wodurch eine hohe Rate von Lymphknoteninvasion und Lymphangiosis carcinomatosa verzeichnet wird [142].



## 8.2 Einfluss der perineuralen Invasion auf die Prognose

Durch die statistische Auswertung unserer Ergebnisse, konnten wir herausfinden, dass PNI ein unabhängiger Prädiktor sowohl für das Gesamtüberleben als auch für das krankheitsfreie Überleben darstellt. Daraus lässt sich ableiten, dass Patienten ohne PNI eine bessere Überlebensprognose haben als Patienten mit nachweisbarer Infiltration der Nervenscheiden. In unserer Studienpopulation konnten wir ein medianes Gesamtüberleben der Pn0 -PDA -Patienten mit 64,9 Monaten ermitteln. Dies liegt 3,5-mal so hoch wie das der Pn1 -PDA -Patienten (18,1 Monate). Ähnlich verhielt es sich mit dem medianen krankheitsfreien Überleben (Pn0: 26 Monate, Pn1: 13,8 Monate). In einer vergleichbaren Studie kamen die betroffenen Pn0-Patienten auf ein Gesamtüberleben von 50 Monaten gegenüber 27 Monaten bei den Pn1-Patienten [77]. Schwankungen in den Überlebensprognosen können zum Teil durch das unterschiedliche Studiendesign erklärt werden. In der beschriebenen Studie wurden lediglich Patienten eingeschlossen, die ein Karzinom im Pankreaskopf aufwiesen, während bei unserer Studie alle Patienten mit PDA eingeschlossen wurden.

Mittels unserer durchgeführten Subgruppenanalyse der R0-Gruppe, konnten wir belegen, dass der positive perineurale Status der untersuchten Patienten, unabhängig vom gesunden Resektionsrand, eine deutlich schlechtere Prognose hervorruft. R0 -Pn0 -Patienten lebten anhand dieser Untersuchung 27 Monate krankheitsfrei, wohingegen Patienten mit einem R1-Pn1 Status lediglich auf 15,7 Monate kommen (HR= 2,41,  $p=0,001$ ). Anhand dieser Ergebnisse können Rückschlüsse auf die Relevanz der PNI bei der Rekurrenz des Tumors gezogen werden, unabhängig vom Resektionsstatus. Die PNI trägt trotz der tumorfreien Resektionsränder einen entscheidenden Teil zu den Überlebensprognosen der betroffenen Patienten bei. Weiterhin kann nicht ausgeschlossen werden, dass zusätzliche Faktoren die Progression des Tumors beeinflussen und somit auch die PNI fördern.

Trotz der einheitlich eingeführten TNM-Klassifikation kann es zu regionalen Unterschieden in der pathologischen Beurteilung des perineuralen Status kommen. Dies wäre eine Erklärung für die stark schwankenden Angaben der PNI-Raten (60-95%) innerhalb der Studien [6, 73]. Mit 93% liegen die PNI-Raten unserer Studie deutlich im oberen Bereich. Aus diesem Grund sollte man diskutieren, den PNI-Status histopathologisch näher abzuklären und nicht ausschließlich in „vorhanden“ und „nicht

vorhanden“ zu unterteilen. Von den 660 untersuchten Patienten in unserer Studienpopulation wurde nur in 571 Fällen eine vollständige histopathologische Tumorbegutachtung hinsichtlich des Perineuralstatus dokumentiert. In den anderen Fällen ist davon auszugehen, dass dieser nicht erfasst bzw. nicht explizit aufgeschlüsselt wurde. Ein weiteres großes Hindernis bei der Datenerfassung stellte die nicht vorhandene explizite Aufschlüsselung des PNI-Status im Pathologiebericht mit der TNM-Klassifizierung dar. Vielmehr wurde die Beurteilung der Nerven in Textform in die Berichte mit aufgenommen. Diese Arbeit verdeutlicht die Bedeutung und Tragweite der Tumorausbreitung über Nerven. Eine Einteilung von *Schorn et al.* sieht daher vor, die Ausdehnung der betroffenen Nerven histologisch in

- Intrapankreatisch, intratumoral
- Intrapankreatisch, extratumoral
- Extrapankreatisch, retroperitoneal

zu unterteilen [79]. So wäre es möglich eine bereits vorhandene Mikroinvasion der Nerven näher zu beschreiben und die richtigen Therapieansätze für den jeweiligen Patienten zu finden. Eine Aufschlüsselung könnte ähnlich wie im „Grading“ nach dem Grad der PNI erfolgen. Da die zellulären und molekularen Faktoren, die die PNI beeinflussen kontinuierlich vorliegen, ist davon auszugehen, dass jedes PDA ab einem gewissen Grad zu einer PNI führt. Das Ausmaß der Nervenscheideninfiltration und anderer Strukturen ist dabei sicherlich von den biologischen Unterschieden der einzelnen Tumore abhängig [78]. Umso dringender ist eine einheitliche Erfassung des PNI-Status, nicht nur für die Patientenprognosen, Entwicklung von Therapiekonzepten, sondern auch für die vergleichende Datenerhebung und Analyse der vorhandenen Studienlage. Ob sich eine neue Einteilung, wie der von *Schorn et al.* vorgeschlagen, als klinisch vorteilhaft erweist, muss in weitergehenden Studien geklärt werden.

Eine durchgeführte Metaanalyse von 36 Studien ergab, dass PNI ein unabhängiger negativer Prognosefaktor für das Überleben von PDA-Patienten darstellt [79]. Unsere Analysen konnten diese Beobachtung bestätigen. Zusätzlich konnten wir als unabhängige Prädiktoren für das krankheitsfreie Überleben einen histologisch nicht im Gesunden resezierten Tumor (R1), sowie von einen geringen Differenzierungsgrad (Grading) ermitteln. Hinzu kommt der statistisch positive Effekt der adjuvanten Chemotherapie auf das Gesamtüberleben der betroffenen Patienten.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass PNI einen negativen Einfluss auf die Überlebensprognosen der PDA-Patienten hat, weshalb eine einheitliche oder gar vertiefte Klassifikation notwendig sein könnte. Dieser Einfluss ist unabhängig vom Resektionsrand kontinuierlich präsent und sollte in der Erarbeitung eines individuellen Therapiekonzeptes Berücksichtigung finden.

### 8.3 Der perineurale Status im Kontext der histopathologischen Gesamtbeurteilung drauf

Der PNI-Status sollte grundsätzlich in jedem Pathologiebericht aufgenommen und zusätzlich zur TNM-Klassifikation aufgeschlüsselt werden. Wir konnten herausfinden, dass der gesamte TNM-Status der Patienten durch das Vorhandensein einer perineuralen Invasion signifikant beeinflusst wurde.

Es war uns möglich anhand der Studie darzulegen, dass PNI im direkten Zusammenhang mit der Tumorprogression und der anatomischen Tumorausdehnung steht. Insgesamt waren die Tumordurchmesser und die Infiltration anatomischer Nachbarstrukturen in der Pn0-Gruppe (pT1: 30%; pT2: 50%; pT3: 20%; pT4: 0%) geringer ausgeprägt im Vergleich zu der Pn1-Gruppe (pT1: 10,5%; pT2: 57,1%; pT3: 27,9%; pT4: 4,5%). Eine größere Tumormasse bedeutet nicht nur ein fortgeschrittenes Tumorstadium, sondern auch eine größere Wahrscheinlichkeit einer Perineuralscheideninfiltration durch Tumorzellen. Nicht nur ein höherer T-Status scheint mit einer Nerveninfiltration einherzugehen, sondern auch ein positiver Lymphknoten- und Metastasenstatus. Die Mehrheit der Pn1-Patienten hatte pT2 und pT3-Tumore, die insgesamt mit einer signifikant höheren Rate an Lymphknotenmetastasen und Lymphangiosis carcinomatosa als die Pn0-Tumore, einhergingen. Die Perineuralscheide der peripheren Nerven dient der Tumorprogression und der Ausbreitung auf das umliegende Gewebe [73]. Durch den Tumor wird eine Lymphangiogenese induziert, wodurch Lymphbahnen und Lymphknoten direkt durch molekulare und zelluläre Faktoren moduliert werden [142]. Patienten mit einer hohen Dichte von Lymphgefäßen um den Primärtumor, wiesen signifikant höhere Lymphknotenmetastasen und niedrigere postoperative Überlebensraten auf. Die Dichte der Lymphgefäße stieg mit zunehmender Größe des Tumors. Diese Ergebnisse von *Kurahara et al.* beziehen sich auf eine Untersuchung ausschließlich von Karzinomen des Pankreaskopfes, sollten aber in unseren Augen auch auf andere Lokalisationen des Pankreas anwendbar sein. Diese Ergebnisse können durch unsere Studie gestützt werden. Eine weitere Theorie sieht vor, dass Lymphknotenmetastasen durch einen mechanischen Weg entlang der Perineuralscheiden zustande kommen [138]. Damit wäre die PNI maßgeblich am Auftreten von Tumorzellen auch in Lymphknoten und Lymphbahnen beteiligt. Durch die erhöhte Tumormasse kommt es zu signifikant höheren

Lymphknoten- und Fernmetastasen, sobald eine PNI vorliegt. Veröffentlichte Metaanalysen konnten diese Ergebnisse bekräftigen [79].

Aber nicht nur PNI hat eine entscheidende Auswirkung auf die Prognosen der Patienten. Eine Studie von *Groot et al.* konnte weitere unabhängige klinisch-pathologische Faktoren, die mit einer erhöhten Rezidivrate einher gingen, identifizieren [78]. Dazu zählen: ein schlechter Differenzierungsgrad ( $p < 0,001$ ; HR: 1,41), die perivaskuläre Invasion ( $p = 0,004$ ; HR: 1,32), ein R1-Resektionsrand ( $p = 0,001$ ; HR: 1,37) und eine zunehmende Tumorgröße ( $p < 0,001$ ; HR: 1,93). Dabei stellt die perivaskuläre Invasion einen Prädiktor für Lungenrezidive, der R1-Status für Lokalrezidive, der G3-Status und zunehmende Tumorgröße für Leberrezidive dar. Ein Ergebnis dieser Analyse war auch, dass PNI nicht mit einer Tumorreduktion oder einem bestimmten Rezidivmuster korreliert. Anderen Veröffentlichungen, kann jedoch entnommen werden, dass PNI und die Rezidivrate des Tumors im direkten Zusammenhang miteinander stehen [76, 77]. Wir konnten anhand unseres Cox-Proportional-Hazard-Regressionsmodell sowohl PNI als auch einen R1-Status als unabhängigen Prädiktor für das OS und DFS identifizieren. Zusätzlich konnte ein schlechter Differenzierungsgrad als negativer Faktor für das krankheitsfreie Überleben ermittelt werden. Damit können durch unsere Studie die vorhandenen Ergebnisse bestätigt und um den Faktor der PNI ergänzt werden [78]. Gleichfalls konnten *Crippa et al.* bei 70,6% seiner Patienten eine PNI finden, trotz eines R0-N0-Status. Sie ermittelten die geringsten PNI-Raten bei Patienten mit einem R0-N0-Tumor, der kleiner als 10mm groß war. Jedoch war bei einem von 3 Patienten die Nervenscheiden bereits durch Tumorzellen infiltriert. Dies bestätigt auch die Annahme, dass PNI ein Ereignis darstellt, welches in frühen Tumorstadien präsent ist.

Die schlechten Überlebensprognosen von PDA-Patienten sind nicht nur auf die Infiltration von Nervenscheiden zurückzuführen. Sowohl die Beeinflussung des Lymphsystems durch die Tumorzellen, die perivaskuläre Infiltration, ein schlechter Differenzierungsgrad, ein nicht tumorfreier Resektionsrand und eine zunehmende Tumormasse tragen entscheidend dazu bei. Dennoch stellt die PNI einen entscheidenden, unabhängigen prognostischen Faktor für alle PDA-Patienten dar.

Für die Datenerhebung waren wir auf das Vorhandensein vollständiger Pathologieberichte angewiesen. Aufgrund uneinheitlicher Dokumentation unterschiedlicher Pathologen sind Messfehler bei der Tumorgröße, sowie minimale Abweichungen in der TNM-Klassifikation zu erwarten. Zudem waren einige

Pathologieberichte nicht vollständig, wodurch nur 571 Patienten berücksichtigt werden konnten. Dennoch ist es wahrscheinlich, dass das gesamte Patientenkollektiv einen repräsentativen Querschnitt darstellt und als Vergleichskohorte mit anderen Studien verwendet werden kann.

## 8.4 Die Bedeutung der neo-/ adjuvanten Chemotherapien in Abhängigkeit der perineuralen Invasion

Anhand unserer Studie konnten wir zeigen, dass die PNI einen signifikant negativen Einfluss auf das Überleben von Patienten mit PDA hatte. Verschiedene Autoren konnten eine signifikant niedrige PNI-Rate bei Patienten, die sich einer neoadjuvanten Chemotherapie/Bestrahlung (50-70% PNI) im Vergleich zu Patienten die sich einer sofortigen Resektion (80-90% PNI) unterzogen verzeichnen [144-148]. Die Anwendung einer präoperativen Chemotherapie findet vor allem Ansehen bei lokal fortgeschrittenen oder grenzwertig-resektablen PDAs. Jeweils 30-35% der diagnostizierten PDAs gehören in die jeweilige Kategorie und eine neoadjuvante Behandlungsstrategie wird dabei bei 25-40% der Patienten angestrebt [6]. Die Durchführung bei bereits als resektabel eingeschätzten PDAs ist experimentell und findet in der Klinik noch keine Bedeutung [149].

In unserer Studie untersuchten wir, inwieweit sich die präoperative Behandlung mit Chemotherapeutika in unserer Kohorte auf die PNI ausgewirkt haben könnte. 11,6 % aller Patienten unserer Studie bekamen eine präoperative Chemotherapie. Von den insgesamt 64 Patienten, hatten 8 einen Pn0- und 56 einen Pn1-Status. Damit nimmt die präoperative Chemotherapie einen deutlich kleineren Stellenwert in unserer Analyse ein als in vergleichbaren Studien [149, 150]. Wir konnten keine signifikanten Unterschiede in der Prävalenz von PNI zwischen der präoperativen Behandlung und der primären Operation feststellen. Ähnliche Ergebnisse wurden in einer kürzlich durchgeführten Studie unseres Zentrums veröffentlicht. Dort konnte die neoadjuvante Chemotherapie ausschließlich der Invasion in lymphatische Gewebe protektiv entgegenwirken [151]. Eine mögliche Erklärung, abgesehen von einer retrospektiven Analyse unserer Daten und der geringeren Anwendung der neoadjuvanten Chemotherapie, hängt mit dem jüngsten Beobachtungszeitraum zusammen. In früheren Therapieansätzen, wurde bevorzugt eine Gemcitabin/Oxaliplatin-Chemotherapie angewandt, wohingegen moderne Kombinationschemotherapien mit mFOLFIRINOX und Gemcitabin zusammen mit Nab-paclitaxel ein besseres Ansprechen gezeigt haben [12, 152]. So weisen 61% nach mFOLFIRINOX, 46% nach Gemcitabin/Nab-paclitaxel und 52% nach anderen Therapieansätzen eine Resektabilität des Tumors auf. Jedoch nur mFOLFIRINOX konnte mit einer günstigeren Prognose assoziiert werden [31, 153].

Eine 2021 veröffentlichte Studie auf diesem Gebiet von *Trusty et al.* zeigte deutlich, dass die neoadjuvante Therapie nicht nur Einfluss auf die PNI hat, sondern auch auf andere Parameter, die für die Prognosen der Patienten relevant sind [154]. So normalisierte sich der CA 19-9-Wert und bei 94% der Patienten konnte anschließend eine R0-Resektion vorgenommen werden. Doch am relevantesten war das chirurgische „downstaging“ der Patienten unter neoadjuvanter Chemotherapie. So konnten 16% der fortgeschrittenen Tumore in ein grenzwertig-resektables Tumorgeschehen überführt werden und 35% der sogenannten „borderline“ Tumore, in resektable. Ebenfalls konnte ein positiver Effekt auf das T-Stadium, die Lymphknoten und das Gesamtüberleben im Vergleich zur alleinigen Resektion (HR= 0,73) oder Resektion mit anschließender adjuvanter Chemotherapie (HR= 0,83) verzeichnet werden [149].

Es gibt mehrere Argumente, die für eine neoadjuvante Behandlung sprechen. Zunächst könnte das chirurgische „downstaging“ zu erhöhten Raten von resektablen Tumoren und R0-Resektionsrändern führen, und damit die Prognosen der Patienten steigern. Auch die reduzierten PNI- und Rezidivraten der Patienten unter präoperativer Chemotherapie konnten verbesserte Prognosen erzielen [148]. Einige Ergebnisse deuten sogar darauf hin, dass eine präoperative höher dosierte Therapie effizienter sein könnte als eine postoperative [155]. Nachteilig jedoch ist, dass einer Chemotherapie immer eine definitive histologische Bestätigung des Primärtumors vorausgehen muss. In einem Viertel der Fälle, lässt sich jedoch nicht genug Probenmaterial für eine gesicherte Diagnose gewinnen, sodass primär die operative Tumorentfernung angestrebt wird ohne Anwendung einer präoperativen Chemotherapie [156]. Ebenso kann eine präoperative Chemotherapie die Morbidität und sogar Mortalität der Patienten negativ beeinflussen oder sogar in ca. 20% der Fälle zu einer Tumorprogression führen, die eine Resektion unmöglich machen [150]. So stellt die Anwendung eines neoadjuvanten Behandlungskonzeptes eine Risiko-Nutzen-Abwägung dar und wird von Zentrum zu Zentrum unterschiedlich häufig angewandt, wobei unser Zentrum insgesamt im unteren Bereich angesiedelt werden kann. Künftig könnte in Erwägung gezogen werden, unser Therapiekonzept zu erweitern und anzupassen.

Adjuvante Behandlungsprotokolle wurden in den letzten 25 Jahren ausführlich untersucht und weiterentwickelt. Durch die Gastrointestinale Tumorstadiengruppe (GITSG) wurde erstmalig der Einsatz einer postoperativen Chemotherapie bei resezierten PDA-Patienten empfohlen und findet seitdem klinische Anwendung [51]. Die im Dezember 2021



veröffentlichte S3-Leitlinie zum exokrinen Pankreaskarzinom empfiehlt eine adjuvante Chemotherapie bei allen Resezierten, unabhängig von ihrem Resektionsstatus [7]. Ausschlaggebend dafür sind die deutlich reduzierten Langzeitüberlebensprognosen für Patienten, die ausschließlich eine Resektion erhalten haben [157].

61,8% (Pn0: 70%, Pn1: 61,2%) unserer Studienpopulation erhielten eine adjuvante Chemotherapie, diese war insgesamt bei 64 Patienten auf Platin basiert, 280 Patienten erhielten eine Gemcitabin-basierte und 9 Patienten eine andere Art der postoperativen Chemotherapie. In unserer Studienkohorte verbesserte eine adjuvante Chemotherapie das klinische Ergebnis von Pn1-Patienten und wirkte sich signifikant auf ihr OS und DFS aus. Deren medianes Gesamtüberleben lag bei 19,4 Monaten und war damit signifikant höher, als das der Patienten, die postoperativ keine Chemotherapie erhielten (14,1 Monate). Unsere Subgruppenanalysen konnten ebenfalls bestätigen, dass die Auswirkungen auf die Patienten mit negativen Resektionsrändern (R0) und einer vorhanden perineuralen Invasion von der postoperativen Chemotherapie profitieren. In der Gruppe der R0-Pn0-Patienten konnte jedoch kein signifikanter Vorteil in der Anwendung der adjuvanten Chemotherapie verzeichnet werden. Erklärung dafür ist, dass die Prävalenz der Langzeitüberlebenden bei den Pn0-Patienten signifikant höher war als das der Pn1-Patienten (10% vs. 2,8%). Zurzeit gibt es noch keine eindeutigen Studien darüber, inwiefern Patienten ohne Nervenbeteiligung von einer adjuvanten Chemotherapie profitieren könnten, während durch die Medikamentengabe auch andere histopathologische Parameter positiv beeinflusst werden.

Darüber hinaus konnten wir anhand der Regressions-Analyse eine adjuvante Chemotherapie als einen negativen Prädiktor zusätzlich zum R1- und Pn1-Status für das Gesamtüberleben identifizieren. Dies könnte auf die Morbidität der Patienten nach der Operation zurückzuführen sein. Die deutsche S3-Leitlinie empfiehlt auf Boden von Daten, eine adjuvante Chemotherapie bei Patienten, deren Allgemeinzustand dem ECOG-Performance Status von 0-2 entspricht bzw. einem Karnofsky-Index von 50-100%, weil das Überleben von Patienten mit dem ECOG korreliert [7, 158]. Jedoch gibt es keine Daten, die belegen, dass Patienten, die diesen Anforderungen nicht entsprechen auch von einer adjuvanten Therapie profitieren würden.

Dennoch konnte unsere Studie die bereits vorhandenen Dokumentationen ergänzen, indem PNI als ein negativer Prädiktor für das OS und DFS identifiziert wurde. Zusätzlich zeigten wir, dass ein 5-Jahres-Überleben eher bei Patienten ohne

Nervenscheideninvasion erreicht werden kann [77, 79]. Die Behandlungsmöglichkeiten von resektablen Tumoren verbessern sich stetig. Durch die Verfügbarkeit multimodaler neoadjuvanter und adjuvanter Therapien, können bereits jetzt verbesserte Überlebensprognosen der Betroffenen verzeichnet werden [159]. Die nervale Invasion ist ein komplexer Prozess aus einem Zusammenspiel mit zellulären und molekularen Faktoren, die durch verschiedene Wege beeinflusst werden können. Eine spezifische Behandlungsstrategie, die die Mechanismen der perineuralen Invasion direkt angreift, wurden bisher in den Chemotherapieprotokollen und Therapiekonzepten nicht berücksichtigt. Dies könnte jedoch einen zusätzlich effektiven Therapieansatz darstellen, um die Aussichten für PDA-Patienten weiter positiv zu beeinflussen. Zukünftig sind weitere Studien notwendig, um zu überprüfen, ob und mit welchen neoadjuvanter Therapiekonzepten ein längeres Überleben und verbesserte Prognosen der betroffenen Patienten erzielt werden könnten. Die Beeinflussung der PNI stellt jedoch einen sinnhaften Angriffspunkt für zukünftige Therapien dar.

## 8.5 Die große Hürde der kurativen Resektion und ihr Einfluss auf das Langzeitüberleben

Da die Resektion die einzige Möglichkeit der kurativen Therapie darstellt, ist die intraoperative Absicherung des R0-Status unerlässlich. In unserer Studie konnten wir einen Resektionsrand, der nicht im Gesunden erfolgte (R1) als statistischen Prädiktor für das Gesamtüberleben und das krankheitsfreie Überleben identifizieren. Daraus ließ sich zudem ableiten, dass der Resektionsrand einen entscheidenden Faktor im Langzeitüberleben der PDA-Patienten darstellt.

Eine R0-Subgruppenanalyse unserer Studienkohorte ergab, dass das DFS der R0-Pn0-Gruppe mit 27 Monaten signifikant dem der R0-Pn1-Gruppe (15,7 Monate) überlegen war. Auch das Gesamtüberleben der R0-Pn0-Gruppe war höher als das der R0-Pn1-Gruppe (21 Monate). 19 Patienten der insgesamt 571 Patienten (3,3%) konnten ein Überleben von mehr als 5 Jahren verzeichnen (siehe Tabellen 13 und 14), ein insgesamt unzureichendes Ergebnis für einen kurativen Ansatz. Jedoch liegt nach aktuellen Informationen generell das Langzeitüberleben bei maximal 9% [53]. Zu dieser Kohorte zählten Personen aus beiden Gruppen, wobei 4 davon Pn0 und 15 davon einen Pn1 Status aufwiesen. Bemerkenswert war jedoch, dass nur ein einziger Patient (Pn1), der mehr als 60 Monate lebte einen R1-Status aufwies. Inwiefern der R0-Status gegenüber dem Pn0-Status hinsichtlich der Langzeitüberlebensprognosen überlegen ist, sollte zukünftig in weiterführenden Studien untersucht werden. Durch die geringe Anzahl der Langzeitüberlebenden war es nicht möglich statistisch relevante Aussagen zu treffen oder im Detail herauszufinden, was diese Patienten von den anderen unterscheidet. Wir planen diese Daten prospektiv zu sammeln und zu gegebenem Zeitpunkt in einer erweiterten Studienpopulation statistisch auszuwerten. Zusätzlich weist unsere retrospektive Studie hinsichtlich des Untersuchungszeitraumes Einschränkungen auf. Wir können das Langzeitüberleben bei Patienten, die zuletzt reseziert wurden (2016-2019) nur unzureichend auf ein Überleben über 60 Monate untersuchen, da die letzte Überlebensdatenerfassung im März 2021 stattfand. Eine Ergänzung dieser Ergebnisse 60 Monate nach der letzten Resektion ist vorgesehen. Dennoch liefern die vorliegenden Daten eine Tendenz, die auch auf alle Resezierten der Studienkohorte anwendbar ist. Die Größe des Datensatzes ist in Anbetracht der Seltenheit einer negativen Perineuralscheideninfiltration für aussagekräftige statistische Analysen

(Regressionsanalysen) limitiert. Ein multi-zentrisches Studiendesign oder ein längerer Beobachtungszeitraum könnten die Ergebnisse wesentlich stärken, waren aber nach Initiierung der Studie nicht mehr realisierbar.

In der untersuchten Gruppe der Langzeitüberlebenden, waren die meisten Tumore im pT1- und pT2-Stadium reseziert worden. Ähnlich wie bei den anderen Patienten verhielt es sich hier mit den Lymphknoten-Metastasen, die bei 78,9% der Langzeitüberlebenden gefunden wurden. Jedoch ist der prozentuale Anteil der Lymphangiosis carcinomatosa deutlich geringer mit nur 31,6%. Diese Daten weisen auf eine geringere Bedeutung der Lymphknotenbeteiligung bei der Tumorausbreitung und den Überlebensprognosen als die Tumorausbreitung über die Lymphbahnen hin. Die Tumorprogression mittels Gefäßinvasion konnte nur bei einem einzigen Patienten der Pn1-Gruppe verzeichnet werden, was sich generell mit den frühen Stadien und dem mäßigen Differenzierungsgraden der Tumore erklären lässt.

Alles in allem lebten 10% der Pn0-Gruppe und 2,8% der Pn1-Gruppe über 60 Monate. Die genauen Faktoren, die dafür verantwortlich sind, sind zwar unbekannt, deuten aber auf einen Zusammenhang mit dem PNI-Status hin. In einer Analyse von PDAC-Langzeitüberlebenden konnten keine genetischen Faktoren im Vergleich zu den Patienten mit kürzerem Überleben identifiziert werden [160, 161]. Lediglich in der Zusammensetzung des Tumormikrobioms konnten Unterschiede festgestellt werden. So wiesen Langzeitüberlebende eine Anreicherung von Proteobakterien und Actinobakterien auf, während bei den Kurzzeitüberlebenden keine vorherrschende Bakterienart gefunden wurden [162].

Insgesamt werfen diese Ergebnisse die Frage auf, inwiefern von einer kurativen R0-Resektion gesprochen werden kann, wenn es doch bereits eine nachweisliche Tumordinfiltration der Nervenscheiden über den Resektionsrand hinausgegeben hat. 328 Pathologieberichte der Patienten in der Pn1-Kohorte wiesen einen R0-Status auf, obwohl eine Nerveninfiltration ebenfalls verzeichnet wurde. Da unsere Studien Einschränkungen in Bezug auf die Erfassung der Tumorbiologie aufweisen, bleibt abzuwarten, ob PDA-Patienten mit einem Pn1-Status tatsächlich kurativ behandelt werden können.

## 8.6 Aktuelle Ansätze und Entwicklungen zur gezielten Diagnostik und Therapie der perineuralen Dissemination

Eine frühzeitige Diagnose im Sinne eines „Screenings“ von Risikopatienten kann sich positiv auf die Prognose auswirken. Je kleiner und weniger infiltrativ der Tumor ist, desto eher ist er als resektabel einzuschätzen. Nur eine Minderheit (15-20%) der Tumore lässt sich resektieren [163], wodurch eine frühe Diagnose mit einem verbesserten Überlebensraten einhergeht [164]. Eine zunehmende Tumorprogression hat einen negativen Einfluss auf die systemische Belastung des Patienten. Eine zunehmende Tumormasse wirkt sich auf die Morbidität des Patienten aus, einhergehend mit einem Anstieg des ECOG-Performancestatus, was die Realisierbarkeit zur Durchführung einer kurativen Resektion, sowie die Anwendung einer adjuvanten Chemotherapie reduziert [7, 18]. Demnach ist das Ziel der Früherkennung zwar erstrebenswert, wird jedoch von der *United States Prevention and Screening Task Force (USPSTF)* abgelehnt. Sie schätzt das Screening der Allgemeinbevölkerung mit der Note „D“ ein [15]. Dies bedeutet, dass das allgemeine Screening kaum Nutzen bringt und sogar nachteilig sein kann.

Zirkulierende Biomarker wie der CA 19-9-Wert und der CEA-Wert steigen proportional zur Tumorbelastung des Patienten an, verfügen jedoch in der weitreichenden Diagnostik nur über eine geringe Sensitivität und Spezifität [165]. Biomarkertests führen trotz ihrer hohen Spezifität im weiteren bildgebenden Verlauf regelmäßig zu Fehldiagnosen. Bis heute stehen keine anerkannten Biomarker für das Screening der asymptomatischen prospektiven Population zur Verfügung. Alle in diesen Studien verwendeten Biomarker (Proteine, Autoantikörper, zirkulierende DNA, microRNAs, Exosomen etc.) wurden ausschließlich an symptomatischen Patienten untersucht. [165-167].

In weiteren Studien wird an einer Erweiterung der Positronen-Emissions-Tomographie gearbeitet. Bisher war das F18-Fluor-desoxyglycose-PET anfällig für falsch-positive (z.B. Pankreatitis) und falsch-negative (nicht-FDG-avide Tumore) Ergebnisse [168]. An 18F gekoppelte Kontrastmittel werden untersucht und befinden sich noch in frühen Stadien der Entwicklung [169]. Auf Grund der hohen Sensitivität der PET-CTs und der hohen Spezifität der endoskopischen Ultraschalluntersuchung (EUS) gilt diese Kombination als zuverlässig in der Diagnostik des PDAs [163].

Weitere Strategien der PDA-Diagnostik bestehen darin, molekulare Faktoren des Malignoms nachzuweisen. Beispiele dafür sind Proteine und Signalmoleküle (Bsp:

Mesothelin), die von den Tumorzellen überexprimiert werden. Aber auch Signalwege (Bsp: Hedgehog-Signalweg) und Wachstumsfaktoren (vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor), die nachweislich mit der Erkrankung in Verbindung stehen, zu erkennen [170].

Um Diagnosen zu sichern, könnten eine EUS-gesteuerte Feinnadelaspiration oder eine Kernnadelbiopsie durchgeführt werden. Dies wird jedoch aufgrund der Invasivität bei retroperitonealer Lage des Organs der anfallenden Kosten häufig vermieden [171, 172]. Nicht-invasive Flüssigkeitsbiopsien bieten neue Möglichkeiten für die Untersuchung der molekularen Aufschlüsselung des PDAs. Dabei werden tumorassoziierte Komponenten wie: zirkulierende Tumor-DNA (ctDNA), extrazelluläre Vesikel (EVs) und zirkulierende Tumorzellen (CTCs) erfasst [173, 174]. Diese Komponenten liefern genomische und molekulare Informationen über das zugrundeliegende PDA und können bei der klinischen Therapieentscheidung und der Diagnostik eine entscheidende Rolle spielen [175]. Durch die technische Weiterentwicklung auf dem Gebiet der Sequenzierung, können zusätzlich zur einfachen Polymerasen-Kettenreaktion (PCR), kolorimetrische DNA-Quantifizierung und Spektralphotometrie auch ultrasensitive Nachweismethoden wie die digitale Tröpfchen-PCR (ddPCR) oder das Next Generation Sequencing (NGS) angewandt werden [176-178]. Doch trotz dieser Fortschritte bleibt die Isolierung und Analyse der Tumor assoziierten Komponenten aufgrund ihrer fragmentierten Beschaffenheit, ihrer relativ geringen Häufigkeit (besonders in Frühstadien der Erkrankung oder nach Behandlung) und der schwierigen Verarbeitung und Lagerung eine Herausforderung [176, 179].

Es wäre denkbar ähnliche Methoden in Verbindung der molekularen und zellulären Mechanismen der PNI auszunutzen, um das Vorhandensein von Tumorzellen in die Nervenscheiden frühzeitig festzustellen. Bisher finden solche Ansätze jedoch keine Relevanz in der Entwicklung neuerer Verfahren, da die PNI lediglich als ein Symptom der eigentlichen Erkrankung gewertet wird und diagnostische Verfahren hierbei an ihre Grenzen stoßen. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass eine Früherkennung sinnvoll erscheint, wenn die dafür vorgesehen Methoden validiert und spezifische Risikogruppen charakterisiert werden. Durch die zunehmende Bedeutung und steigenden Inzidenzen des PDAs ist davon auszugehen, dass in naher Zukunft das Screening asymptomatischer Patienten klinische Anwendung findet. Ob und inwiefern bei diesem Screening die PNI eine entscheidende Rolle spielen wird, ist noch ungewiss.

## 9 Literaturverzeichnis

- [1] R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, and A. Jemal, "Cancer Statistics, 2021," *CA Cancer J Clin*, vol. 71, no. 1, pp. 7-33, Jan 2021.
- [2] D. S. Klimstra, "Nonductal neoplasms of the pancreas," *Mod Pathol*, vol. 20 Suppl 1, pp. S94-112, Feb 2007.
- [3] H. Sung et al., "Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries," *CA Cancer J Clin*, vol. 71, no. 3, pp. 209-249, May 2021.
- [4] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, and A. Jemal, "Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries," *CA Cancer J Clin*, vol. 68, no. 6, pp. 394-424, Nov 2018.
- [5] M. Rebecca L. Siegel, M. Kimberly D. Miller, B. Hannah E. Fuchs, and D. Ahmedin Jemal, PhD, "Cancer Statistics, 2021," *Cancer Journal for Clinicians*, vol. 71, no. 1, pp. 7-33, 2021.
- [6] W. Park, A. Chawla, and E. M. O'Reilly, "Pancreatic Cancer: A Review," *JAMA*, vol. 326, no. 9, pp. 851-862, Sep 7 2021.
- [7] S. R. P. Benz, S. Böck, T. Brunner, and e. al. S3-Leitlinie zum exokrinen Pankreaskarzinom [Online]. Available: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/032-0100L.html>
- [8] H. Sung, R. L. Siegel, and P. S. Rosenberg, "Emerging cancer trends among young adults in the USA: analysis of a population-based cancer registry," *Lancet: Public Health*, vol. 4, no. 3, pp. 137-147, 2019.
- [9] S. T. Chari et al., "Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer," *Gastroenterology*, vol. 134, no. 1, pp. 95-101, Jan 2008.
- [10] N. Howes et al., "Clinical and genetic characteristics of hereditary pancreatitis in Europe," *Clin Gastroenterol Hepatol*, vol. 2, no. 3, pp. 252-61, Mar 2004.
- [11] R. Freelove and A. D. Walling, "Pancreatic cancer: diagnosis and management," *Am Fam Physician*, vol. 73, no. 3, pp. 485-92, Feb 1 2006.
- [12] T. Conroy et al., "FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer," *N Engl J Med*, vol. 364, no. 19, pp. 1817-25, May 12 2011.
- [13] F. M. Walter et al., "Symptoms and patient factors associated with diagnostic intervals for pancreatic cancer (SYMPTOM pancreatic study): a prospective cohort study," *Lancet: Gastroenterology & Hepatology*, vol. 1, no. 4, pp. 298-306, 2016.
- [14] H. R. Aslanian, J. H. Lee, and M. I. Canto, "Clinical Practice Update on Pancreas Cancer Screening in High-Risk Individuals: Expert Review," *American Gastroenterological Association*, vol. 159, no. 1, pp. 358-362, 2020.
- [15] U. S. P. S. T. Force et al., "Screening for Pancreatic Cancer: US Preventive Services Task Force Reaffirmation Recommendation Statement," *JAMA*, vol. 322, no. 5, pp. 438-444, Aug 6 2019.
- [16] X.-Y. Wang, F. Yang, C. Jin, and D.-L. Fu, "World J Gastroenterol 2014 November 14; 20(42): 15580-15589 ISSN 1007-9327 (print) ISSN 2219-2840 (online) © 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved. Utility of PET/CT in diagnosis, staging, assessment of resectability and metabolic response of pancreatic cancer," *World Journal of Gastroenterology*, vol. 20, no. 42, pp. 15580-15589, 2014.

- [17] C.-W. D. Tzeng, A. Balachandran, M. Ahma, and e. al, "Serum carbohydrate antigen 19-9 represents a marker of response to neoadjuvant therapy in patients with borderline resectable pancreatic cancer," *International Hepato-Pancreato-Biliary Association*, vol. 16, no. 5, pp. 430-438, 2014.
- [18] S. Isaji et al., "International consensus on definition and criteria of borderline resectable pancreatic ductal adenocarcinoma 2017," *Pancreatology*, vol. 18, no. 1, pp. 2-11, Jan 2018.
- [19] C. A. Seiler et al., "Randomized clinical trial of pylorus-preserving duodenopancreatectomy versus classical Whipple resection-long term results," *Br J Surg*, vol. 92, no. 5, pp. 547-56, May 2005.
- [20] B. I. Rosok et al., "Minimally invasive distal pancreatectomy," *HPB (Oxford)*, vol. 19, no. 3, pp. 205-214, Mar 2017.
- [21] T. de Rooij et al., "Minimally Invasive Versus Open Pancreatoduodenectomy: Systematic Review and Meta-analysis of Comparative Cohort and Registry Studies," *Ann Surg*, vol. 264, no. 2, pp. 257-67, Aug 2016.
- [22] M. D. Bauman et al., "Laparoscopic distal pancreatectomy for pancreatic cancer is safe and effective," *Surg Endosc*, vol. 32, no. 1, pp. 53-61, Jan 2018.
- [23] M. Schwarz, R. Isenmann, J. Thomsen, W. Gaus, and H. G. Beger, "Efficacy of oral ofloxacin for single-dose perioperative prophylaxis in general surgery--a controlled randomized clinical study," *Langenbecks Arch Surg*, vol. 386, no. 6, pp. 397-401, Nov 2001.
- [24] H. Oettle et al., "Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial," *JAMA*, vol. 297, no. 3, pp. 267-77, Jan 17 2007.
- [25] H. Ueno et al., "A randomised phase III trial comparing gemcitabine with surgery-only in patients with resected pancreatic cancer: Japanese Study Group of Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer," *Br J Cancer*, vol. 101, no. 6, pp. 908-15, Sep 15 2009.
- [26] J. P. Neoptolemos et al., "Comparison of adjuvant gemcitabine and capecitabine with gemcitabine monotherapy in patients with resected pancreatic cancer (ESPAC-4): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial," *Lancet*, vol. 389, no. 10073, pp. 1011-1024, Mar 11 2017.
- [27] M. Sinn et al., "CONKO-006: A randomised double-blinded phase IIb-study of additive therapy with gemcitabine + sorafenib/placebo in patients with R1 resection of pancreatic cancer - Final results," *Eur J Cancer*, vol. 138, pp. 172-181, Oct 2020.
- [28] T. Conroy et al., "FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer," *N Engl J Med*, vol. 379, no. 25, pp. 2395-2406, Dec 20 2018.
- [29] E. Versteijne et al., "Meta-analysis comparing upfront surgery with neoadjuvant treatment in patients with resectable or borderline resectable pancreatic cancer," *Br J Surg*, vol. 105, no. 8, pp. 946-958, Jul 2018.
- [30] A. A. Khorana, P. B. Mangu, and M. H. G. Katz, "Potentially Curable Pancreatic Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update Summary," *J Oncol Pract*, vol. 13, no. 6, pp. 388-391, Jun 2017.
- [31] T. Hackert et al., "Locally Advanced Pancreatic Cancer: Neoadjuvant Therapy With Folfirinox Results in Resectability in 60% of the Patients," *Ann Surg*, vol. 264, no. 3, pp. 457-63, Sep 2016.
- [32] T. Michelakos et al., "Predictors of Resectability and Survival in Patients With Borderline and Locally Advanced Pancreatic Cancer who Underwent Neoadjuvant Treatment With FOLFIRINOX," *Ann Surg*, vol. 269, no. 4, pp. 733-740, Apr 2019.



- [33] A. Sultana, C. T. Smith, D. Cunningham, N. Starling, J. P. Neoptolemos, and P. Ghaneh, "Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer," *J Clin Oncol*, vol. 25, no. 18, pp. 2607-15, Jun 20 2007.
- [34] B. Glimelius et al., "Chemotherapy improves survival and quality of life in advanced pancreatic and biliary cancer," *Ann Oncol*, vol. 7, no. 6, pp. 593-600, Aug 1996.
- [35] G. Y. Wong et al., "Effect of neurolytic celiac plexus block on pain relief, quality of life, and survival in patients with unresectable pancreatic cancer: a randomized controlled trial," *JAMA*, vol. 291, no. 9, pp. 1092-9, Mar 3 2004.
- [36] P. J. Loehrer, Sr. et al., "Gemcitabine alone versus gemcitabine plus radiotherapy in patients with locally advanced pancreatic cancer: an Eastern Cooperative Oncology Group trial," *J Clin Oncol*, vol. 29, no. 31, pp. 4105-12, Nov 1 2011.
- [37] B. Chauffert et al., "Phase III trial comparing intensive induction chemoradiotherapy (60 Gy, infusional 5-FU and intermittent cisplatin) followed by maintenance gemcitabine with gemcitabine alone for locally advanced unresectable pancreatic cancer. Definitive results of the 2000-01 FFCD/SFRO study," *Ann Oncol*, vol. 19, no. 9, pp. 1592-9, Sep 2008.
- [38] J. M. Herman et al., "Phase 2 multi-institutional trial evaluating gemcitabine and stereotactic body radiotherapy for patients with locally advanced unresectable pancreatic adenocarcinoma," *Cancer*, vol. 121, no. 7, pp. 1128-37, Apr 1 2015.
- [39] J. R. Brahmer et al., "Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer," *N Engl J Med*, vol. 366, no. 26, pp. 2455-65, Jun 28 2012.
- [40] W. Schneiderhan et al., "Pancreatic stellate cells are an important source of MMP-2 in human pancreatic cancer and accelerate tumor progression in a murine xenograft model and CAM assay," *J Cell Sci*, vol. 120, no. Pt 3, pp. 512-9, Feb 1 2007.
- [41] S. R. Bramhall, J. Schulz, J. Nemunaitis, P. D. Brown, M. Baillet, and J. A. Buckels, "A double-blind placebo-controlled, randomised study comparing gemcitabine and marimastat with gemcitabine and placebo as first line therapy in patients with advanced pancreatic cancer," *Br J Cancer*, vol. 87, no. 2, pp. 161-7, Jul 15 2002.
- [42] M. J. Moore et al., "Comparison of gemcitabine versus the matrix metalloproteinase inhibitor BAY 12-9566 in patients with advanced or metastatic adenocarcinoma of the pancreas: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group," *J Clin Oncol*, vol. 21, no. 17, pp. 3296-302, Sep 1 2003.
- [43] J. J. Lee et al., "Stromal response to Hedgehog signaling restrains pancreatic cancer progression," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 111, no. 30, pp. E3091-100, Jul 29 2014.
- [44] B. Bockorny et al., "BL-8040, a CXCR4 antagonist, in combination with pembrolizumab and chemotherapy for pancreatic cancer: the COMBAT trial," *Nat Med*, vol. 26, no. 6, pp. 878-885, Jun 2020.
- [45] W. J. Ho, E. M. Jaffee, and L. Zheng, "The tumour microenvironment in pancreatic cancer - clinical challenges and opportunities," *Nat Rev Clin Oncol*, vol. 17, no. 9, pp. 527-540, Sep 2020.
- [46] Z. Zhao and W. Liu, "Pancreatic Cancer: A Review of Risk Factors, Diagnosis, and Treatment," *Technol Cancer Res Treat*, vol. 19, p. 1533033820962117, Jan-Dec 2020.
- [47] J. L. Saloman, K. M. Albers, A. D. Rhim, and B. M. Davis, "Can Stopping Nerves, Stop Cancer?," *Trends Neurosci*, vol. 39, no. 12, pp. 880-889, Dec 2016.
- [48] M. Amit, S. Na'ara, and Z. Gil, "Mechanisms of cancer dissemination along nerves," *Nat Rev Cancer*, vol. 16, no. 6, pp. 399-408, Jun 2016.

- [49] G. Gasparini et al., "Nerves and Pancreatic Cancer: New Insights into a Dangerous Relationship," *Cancers (Basel)*, vol. 11, no. 7, Jun 26 2019.
- [50] J. L. Saloman et al., "Ablation of sensory neurons in a genetic model of pancreatic ductal adenocarcinoma slows initiation and progression of cancer," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 113, no. 11, pp. 3078-83, Mar 15 2016.
- [51] M. H. Kalsner, J. Barkin, and J. M. MacIntyre, "Pancreatic cancer. Assessment of prognosis by clinical presentation," *Cancer*, vol. 56, no. 2, pp. 397-402, Jul 15 1985.
- [52] M. S. De La Cruz, A. P. Young, and M. T. Ruffin, "Diagnosis and management of pancreatic cancer," *Am Fam Physician*, vol. 89, no. 8, pp. 626-32, Apr 15 2014.
- [53] R. L. Siegel, K. D. Miller, and A. Jemal, "Cancer statistics, 2018," *CA Cancer J Clin*, vol. 68, no. 1, pp. 7-30, Jan 2018.
- [54] M. Ducreux et al., "Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up," *Ann Oncol*, vol. 26 Suppl 5, pp. v56-68, Sep 2015.
- [55] S. Yachida et al., "Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer," *Nature*, vol. 467, no. 7319, pp. 1114-7, Oct 28 2010.
- [56] H. Sakamoto et al., "The Evolutionary Origins of Recurrent Pancreatic Cancer," *Cancer Discov*, vol. 10, no. 6, pp. 792-805, Jun 2020.
- [57] J. G. Reiter et al., "An analysis of genetic heterogeneity in untreated cancers," *Nat Rev Cancer*, vol. 19, no. 11, pp. 639-650, Nov 2019.
- [58] J. G. Reiter et al., "Minimal functional driver gene heterogeneity among untreated metastases," *Science*, vol. 361, no. 6406, pp. 1033-1037, Sep 7 2018.
- [59] B. Ren et al., "Tumor microenvironment participates in metastasis of pancreatic cancer," *Mol Cancer*, vol. 17, no. 1, p. 108, Jul 30 2018.
- [60] E. Ryschich et al., "Control of T-cell-mediated immune response by HLA class I in human pancreatic carcinoma," *Clin Cancer Res*, vol. 11, no. 2 Pt 1, pp. 498-504, Jan 15 2005.
- [61] C. He et al., "Expression and prognostic value of c-Myc and Fas (CD95/APO1) in patients with pancreatic cancer," *Int J Clin Exp Pathol*, vol. 7, no. 2, pp. 742-50, 2014.
- [62] E. S. M. Schünke, U. Schumacher, *Prometheus Lernatlas der Anatomie Innere Organe*. Georg Thieme Verlag, 2018, pp. 266-285.
- [63] virtuelle Mikroskopie [website]. Available: [http://histohal.uni-halle.de/histopatho/praepview.php?id=279&loc=fra&system=histo&selected\\_index=277&order\\_id=259%C2%A7692%C2%A7263%C2%A7666%C2%A7273%C2%A7277%C2%A7281](http://histohal.uni-halle.de/histopatho/praepview.php?id=279&loc=fra&system=histo&selected_index=277&order_id=259%C2%A7692%C2%A7263%C2%A7666%C2%A7273%C2%A7277%C2%A7281)
- [64] E. Hessmann et al., "Microenvironmental Determinants of Pancreatic Cancer," *Physiol Rev*, vol. 100, no. 4, pp. 1707-1751, Oct 1 2020.
- [65] D. G. Katharina Glatz-Krieger. (2019). Pathorama. Available: <https://pathorama.ch/pathopic>
- [66] L. Bertero et al., "Eighth Edition of the UICC Classification of Malignant Tumours: an overview of the changes in the pathological TNM classification criteria-What has changed and why?," *Virchows Arch*, vol. 472, no. 4, pp. 519-531, Apr 2018.
- [67] M. H. Katz, R. Hwang, J. B. Fleming, and D. B. Evans, "Tumor-node-metastasis staging of pancreatic adenocarcinoma," *CA Cancer J Clin*, vol. 58, no. 2, pp. 111-25, Mar-Apr 2008.

- [68] P. D. Greene FL, Fleming ID, et al. . (2002, 02.03.2020). AJCC Cancer Staging Manual. 6th [Manual]. Available: <https://cancerstaging.org/references-tools/deskreferences/Documents/AJCC6thEdCancerStagingManualPart1.pdf#page=157&zoom=auto,-169,616>
- [69] C. Wittekind, Tannapfel A. (2006). Prinzipien der Pathologie in der Onkologie (09.09.2015 ed.). Available: <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/basis-informationen-krebs-allgemeine-informationen/klassifikation-von-tumoren-tnm.html>
- [70] C. M. Schmidt et al., "Total pancreatectomy (R0 resection) improves survival over subtotal pancreatectomy in isolated neck margin positive pancreatic adenocarcinoma," *Surgery*, vol. 142, no. 4, pp. 572-8; discussion 578-80, Oct 2007.
- [71] D. K. Chang et al., "Margin clearance and outcome in resected pancreatic cancer," *J Clin Oncol*, vol. 27, no. 17, pp. 2855-62, Jun 10 2009.
- [72] C. S. Verbeke, "Resection margins and R1 rates in pancreatic cancer--are we there yet?," *Histopathology*, vol. 52, no. 7, pp. 787-96, Jun 2008.
- [73] A. A. Bapat, G. Hostetter, D. D. Von Hoff, and H. Han, "Perineural invasion and associated pain in pancreatic cancer," *Nat Rev Cancer*, vol. 11, no. 10, pp. 695-707, Sep 23 2011.
- [74] S. Partelli et al., "The size of well differentiated pancreatic neuroendocrine tumors correlates with Ki67 proliferative index and is not associated with age," *Dig Liver Dis*, vol. 51, no. 5, pp. 735-740, May 2019.
- [75] I. E. Demir, G. O. Ceyhan, F. Liebl, J. G. D'Haese, M. Maak, and H. Friess, "Neural invasion in pancreatic cancer: the past, present and future," *Cancers (Basel)*, vol. 2, no. 3, pp. 1513-27, Jul 14 2010.
- [76] H. H. Chou et al., "Clinicopathologic study of node-negative advanced gastric cancer and analysis of factors predicting its recurrence and prognosis," *Am J Surg*, vol. 205, no. 6, pp. 623-30, Jun 2013.
- [77] S. Crippa et al., "Implications of Perineural Invasion on Disease Recurrence and Survival After Pancreatectomy for Pancreatic Head Ductal Adenocarcinoma," *Ann Surg*, Oct 19 2020.
- [78] V. P. Groot et al., "Patterns, Timing, and Predictors of Recurrence Following Pancreatectomy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma," *Ann Surg*, vol. 267, no. 5, pp. 936-945, May 2018.
- [79] S. Schorn et al., "The influence of neural invasion on survival and tumor recurrence in pancreatic ductal adenocarcinoma - A systematic review and meta-analysis," *Surg Oncol*, vol. 26, no. 1, pp. 105-115, Mar 2017.
- [80] R. A. Carr et al., "Prospective Evaluation of Associations between Cancer-Related Pain and Perineural Invasion in Patients with Resectable Pancreatic Adenocarcinoma," *J Gastrointest Surg*, vol. 21, no. 10, pp. 1658-1665, Oct 2017.
- [81] C. Liebig, G. Ayala, J. A. Wilks, D. H. Berger, and D. Albo, "Perineural invasion in cancer: a review of the literature," *Cancer*, vol. 115, no. 15, pp. 3379-91, Aug 1 2009.
- [82] G. O. Ceyhan et al., "Nerve growth factor and artemin are paracrine mediators of pancreatic neuropathy in pancreatic adenocarcinoma," *Ann Surg*, vol. 251, no. 5, pp. 923-31, May 2010.
- [83] J. Ma, Y. Jiang, Y. Jiang, Y. Sun, and X. Zhao, "Expression of nerve growth factor and tyrosine kinase receptor A and correlation with perineural invasion in pancreatic cancer," *J Gastroenterol Hepatol*, vol. 23, no. 12, pp. 1852-9, Dec 2008.

- [84] Q. Zeng et al., "The relationship between overexpression of glial cell-derived neurotrophic factor and its RET receptor with progression and prognosis of human pancreatic cancer," *J Int Med Res*, vol. 36, no. 4, pp. 656-64, Jul-Aug 2008.
- [85] Z. Zhu et al., "Nerve growth factor expression correlates with perineural invasion and pain in human pancreatic cancer," *J Clin Oncol*, vol. 17, no. 8, pp. 2419-28, Aug 1999.
- [86] R. Pannala, A. Basu, G. M. Petersen, and S. T. Chari, "New-onset diabetes: a potential clue to the early diagnosis of pancreatic cancer," *Lancet Oncol*, vol. 10, no. 1, pp. 88-95, Jan 2009.
- [87] H. Liu, Q. Ma, and J. Li, "High glucose promotes cell proliferation and enhances GDNF and RET expression in pancreatic cancer cells," *Mol Cell Biochem*, vol. 347, no. 1-2, pp. 95-101, Jan 2011.
- [88] W. Li et al., "Hyperglycemia enhances the invasive and migratory activity of pancreatic cancer cells via hydrogen peroxide," *Oncol Rep*, vol. 25, no. 5, pp. 1279-87, May 2011.
- [89] J. F. Drapiewski, *Carcinoma of the Pancreas: A Study of Neoplastic Invasion of Nerves and its Possible Clinical Significance*. American Journal of Clinical Pathology, 1944.
- [90] R. E. Stopczynski et al., "Neuroplastic changes occur early in the development of pancreatic ductal adenocarcinoma," *Cancer Res*, vol. 74, no. 6, pp. 1718-27, Mar 15 2014.
- [91] I. Abiatari et al., "Consensus transcriptome signature of perineural invasion in pancreatic carcinoma," *Mol Cancer Ther*, vol. 8, no. 6, pp. 1494-504, Jun 2009.
- [92] O. Cavel et al., "Endoneurial macrophages induce perineural invasion of pancreatic cancer cells by secretion of GDNF and activation of RET tyrosine kinase receptor," *Cancer Res*, vol. 72, no. 22, pp. 5733-43, Nov 15 2012.
- [93] T. De Oliveira et al., "Syndecan-2 promotes perineural invasion and cooperates with K-ras to induce an invasive pancreatic cancer cell phenotype," *Mol Cancer*, vol. 11, p. 19, Apr 3 2012.
- [94] R. Kalluri, "The biology and function of fibroblasts in cancer," *Nat Rev Cancer*, vol. 16, no. 9, pp. 582-98, Aug 23 2016.
- [95] C. Qu, Q. Wang, Z. Meng, and P. Wang, "Cancer-Associated Fibroblasts in Pancreatic Cancer: Should They Be Deleted or Reeducated?," *Integr Cancer Ther*, vol. 17, no. 4, pp. 1016-1019, Dec 2018.
- [96] V. Secq et al., "Stromal SLIT2 impacts on pancreatic cancer-associated neural remodeling," *Cell Death Dis*, vol. 6, p. e1592, Jan 15 2015.
- [97] J. A. Moir, J. Mann, and S. A. White, "The role of pancreatic stellate cells in pancreatic cancer," *Surg Oncol*, vol. 24, no. 3, pp. 232-8, Sep 2015.
- [98] J. Albregues et al., "LIF mediates proinvasive activation of stromal fibroblasts in cancer," *Cell Rep*, vol. 7, no. 5, pp. 1664-1678, Jun 12 2014.
- [99] C. Bressy et al., "LIF Drives Neural Remodeling in Pancreatic Cancer and Offers a New Candidate Biomarker," *Cancer Res*, vol. 78, no. 4, pp. 909-921, Feb 15 2018.
- [100] N. A. Nicola and J. J. Babon, "Leukemia inhibitory factor (LIF)," *Cytokine Growth Factor Rev*, vol. 26, no. 5, pp. 533-44, Oct 2015.
- [101] R. L. Bakst et al., "Inflammatory Monocytes Promote Perineural Invasion via CCL2-Mediated Recruitment and Cathepsin B Expression," *Cancer Res*, vol. 77, no. 22, pp. 6400-6414, Nov 15 2017.
- [102] I. E. Demir et al., "Investigation of Schwann cells at neoplastic cell sites before the onset of cancer invasion," *J Natl Cancer Inst*, vol. 106, no. 8, Aug 2014.

- [103] V. P. Groot et al., "Defining and Predicting Early Recurrence in 957 Patients With Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma," *Ann Surg*, vol. 269, no. 6, pp. 1154-1162, Jun 2019.
- [104] M. Barbacid, "Structural and functional properties of the TRK family of neurotrophin receptors," *Ann N Y Acad Sci*, vol. 766, pp. 442-58, Sep 7 1995.
- [105] H. Sariola, "The neurotrophic factors in non-neuronal tissues," *Cell Mol Life Sci*, vol. 58, no. 8, pp. 1061-6, Jul 2001.
- [106] Z. Zhu et al., "Nerve growth factor and enhancement of proliferation, invasion, and tumorigenicity of pancreatic cancer cells," *Mol Carcinog*, vol. 35, no. 3, pp. 138-47, Nov 2002.
- [107] K. Wang et al., "The neurotrophic factor neurturin contributes toward an aggressive cancer cell phenotype, neuropathic pain and neuronal plasticity in pancreatic cancer," *Carcinogenesis*, vol. 35, no. 1, pp. 103-13, Jan 2014.
- [108] C. Dang, Y. Zhang, Q. Ma, and Y. Shimahara, "Expression of nerve growth factor receptors is correlated with progression and prognosis of human pancreatic cancer," *J Gastroenterol Hepatol*, vol. 21, no. 5, pp. 850-8, May 2006.
- [109] G. M. Scwabas et al., "Overexpression of tropomyosin-related kinase B in metastatic human pancreatic cancer cells," *Clin Cancer Res*, vol. 11, no. 2 Pt 1, pp. 440-9, Jan 15 2005.
- [110] Y. Sakamoto et al., "Expression of Trk tyrosine kinase receptor is a biologic marker for cell proliferation and perineural invasion of human pancreatic ductal adenocarcinoma," *Oncol Rep*, vol. 8, no. 3, pp. 477-84, May-Jun 2001.
- [111] S. J. Miknyoczki et al., "The neurotrophin-trk receptor axes are critical for the growth and progression of human prostatic carcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma xenografts in nude mice," *Clin Cancer Res*, vol. 8, no. 6, pp. 1924-31, Jun 2002.
- [112] D. Liu et al., "MiR-429 suppresses neurotrophin-3 to alleviate perineural invasion of pancreatic cancer," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 505, no. 4, pp. 1077-1083, Nov 10 2018.
- [113] S. He et al., "GFRalpha1 released by nerves enhances cancer cell perineural invasion through GDNF-RET signaling," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 111, no. 19, pp. E2008-17, May 13 2014.
- [114] L. M. Mulligan, "GDNF and the RET Receptor in Cancer: New Insights and Therapeutic Potential," *Front Physiol*, vol. 9, p. 1873, 2018.
- [115] Z. Gil et al., "Paracrine regulation of pancreatic cancer cell invasion by peripheral nerves," *J Natl Cancer Inst*, vol. 102, no. 2, pp. 107-18, Jan 20 2010.
- [116] M. Amit et al., "Upregulation of RET induces perineural invasion of pancreatic adenocarcinoma," *Oncogene*, vol. 36, no. 23, pp. 3232-3239, Jun 8 2017.
- [117] A. E. Cardona et al., "Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor," *Nat Neurosci*, vol. 9, no. 7, pp. 917-24, Jul 2006.
- [118] M. C. Stout, S. Narayan, E. S. Pillet, J. M. Salvino, and P. M. Campbell, "Inhibition of CX3CR1 reduces cell motility and viability in pancreatic adenocarcinoma epithelial cells," *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 495, no. 3, pp. 2264-2269, Jan 15 2018.
- [119] K. Jakubowska et al., "Expressions of Matrix Metalloproteinases 2, 7, and 9 in Carcinogenesis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma," *Dis Markers*, vol. 2016, p. 9895721, 2016.
- [120] Y. Okada, G. Eibl, J. P. Duffy, H. A. Reber, and O. J. Hines, "Glial cell-derived neurotrophic factor upregulates the expression and activation of matrix metalloproteinase-9 in human pancreatic cancer," *Surgery*, vol. 134, no. 2, pp. 293-9, Aug 2003.

- [121] Y. Okada, G. Eibl, S. Guha, J. P. Duffy, H. A. Reber, and O. J. Hines, "Nerve growth factor stimulates MMP-2 expression and activity and increases invasion by human pancreatic cancer cells," *Clin Exp Metastasis*, vol. 21, no. 4, pp. 285-92, 2004.
- [122] K. Guo et al., "Interaction of the sympathetic nerve with pancreatic cancer cells promotes perineural invasion through the activation of STAT3 signaling," *Mol Cancer Ther*, vol. 12, no. 3, pp. 264-73, Mar 2013.
- [123] D. L. Weddle, P. Tithoff, M. Williams, and H. M. Schuller, "Beta-adrenergic growth regulation of human cancer cell lines derived from pancreatic ductal carcinomas," *Carcinogenesis*, vol. 22, no. 3, pp. 473-9, Mar 2001.
- [124] C. Kim-Fuchs et al., "Chronic stress accelerates pancreatic cancer growth and invasion: a critical role for beta-adrenergic signaling in the pancreatic microenvironment," *Brain Behav Immun*, vol. 40, pp. 40-7, Aug 2014.
- [125] R. Udumyan et al., "Beta-Blocker Drug Use and Survival among Patients with Pancreatic Adenocarcinoma," *Cancer Res*, vol. 77, no. 13, pp. 3700-3707, Jul 1 2017.
- [126] Z. Na et al., "The effects of beta-blocker use on cancer prognosis: a meta-analysis based on 319,006 patients," *Onco Targets Ther*, vol. 11, pp. 4913-4944, 2018.
- [127] B. W. Renz et al., "beta2 Adrenergic-Neurotrophin Feedforward Loop Promotes Pancreatic Cancer," *Cancer Cell*, vol. 33, no. 1, pp. 75-90 e7, Jan 8 2018.
- [128] M. De Couck, R. Marechal, S. Moorthamers, J. L. Van Laethem, and Y. Gidron, "Vagal nerve activity predicts overall survival in metastatic pancreatic cancer, mediated by inflammation," *Cancer Epidemiol*, vol. 40, pp. 47-51, Feb 2016.
- [129] K. Y. Y. Ng et al., "Resected pancreatic adenocarcinoma: An Asian institution's experience," *Cancer Rep (Hoboken)*, vol. 4, no. 5, p. e1393, Oct 2021.
- [130] F. Liebl et al., "The impact of neural invasion severity in gastrointestinal malignancies: a clinicopathological study," *Ann Surg*, vol. 260, no. 5, pp. 900-7; discussion 907-8, Nov 2014.
- [131] I. Hirai et al., "Perineural invasion in pancreatic cancer," *Pancreas*, vol. 24, no. 1, pp. 15-25, Jan 2002.
- [132] W. S. Tummers et al., "Impact of resection margin status on recurrence and survival in pancreatic cancer surgery," *Br J Surg*, vol. 106, no. 8, pp. 1055-1065, Jul 2019.
- [133] S. B. Edge and C. C. Compton, "The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM," *Ann Surg Oncol*, vol. 17, no. 6, pp. 1471-4, Jun 2010.
- [134] D. E. Bockman, M. Buchler, and H. G. Beger, "Interaction of pancreatic ductal carcinoma with nerves leads to nerve damage," *Gastroenterology*, vol. 107, no. 1, pp. 219-30, Jul 1994.
- [135] P. J. Allen et al., "Multi-institutional Validation Study of the American Joint Commission on Cancer (8th Edition) Changes for T and N Staging in Patients With Pancreatic Adenocarcinoma," *Ann Surg*, vol. 265, no. 1, pp. 185-191, Jan 2017.
- [136] M. Felsenstein et al., "Perineural Invasion in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC): A Saboteur of Curative Intended Therapies?," *J Clin Med*, vol. 11, no. 9, Apr 23 2022.
- [137] S. H. Chen, B. Y. Zhang, B. Zhou, C. Z. Zhu, L. Q. Sun, and Y. J. Feng, "Perineural invasion of cancer: a complex crosstalk between cells and molecules in the perineural niche," *Am J Cancer Res*, vol. 9, no. 1, pp. 1-21, 2019.
- [138] M. Kayahara, H. Nakagawara, H. Kitagawa, and T. Ohta, "The nature of neural invasion by pancreatic cancer," *Pancreas*, vol. 35, no. 3, pp. 218-23, Oct 2007.

- [139] P. Cheng et al., "Analysis of tumor-induced lymphangiogenesis and lymphatic vessel invasion of pancreatic carcinoma in the peripheral nerve plexus," *Cancer Sci*, vol. 103, no. 10, pp. 1756-63, Oct 2012.
- [140] B. Liu and K. Y. Lu, "Neural invasion in pancreatic carcinoma," *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, vol. 1, no. 3, pp. 469-76, Aug 2002.
- [141] R. S. Saad, L. Kordunsky, Y. L. Liu, K. L. Denning, H. A. Kandil, and J. F. Silverman, "Lymphatic microvessel density as prognostic marker in colorectal cancer," *Mod Pathol*, vol. 19, no. 10, pp. 1317-23, Oct 2006.
- [142] H. Kurahara et al., "Significance of lymphangiogenesis in primary tumor and draining lymph nodes during lymphatic metastasis of pancreatic head cancer," *J Surg Oncol*, vol. 102, no. 7, pp. 809-15, Dec 1 2010.
- [143] K. Talari and M. Goyal, "Retrospective studies - utility and caveats," *J R Coll Physicians Edinb*, vol. 50, no. 4, pp. 398-402, Dec 2020.
- [144] C. R. Ferrone et al., "Radiological and surgical implications of neoadjuvant treatment with FOLFIRINOX for locally advanced and borderline resectable pancreatic cancer," *Ann Surg*, vol. 261, no. 1, pp. 12-7, Jan 2015.
- [145] C. L. Roland et al., "Neoadjuvant therapy is associated with a reduced lymph node ratio in patients with potentially resectable pancreatic cancer," *Ann Surg Oncol*, vol. 22, no. 4, pp. 1168-75, Apr 2015.
- [146] S. Schorn et al., "The impact of neoadjuvant therapy on the histopathological features of pancreatic ductal adenocarcinoma - A systematic review and meta-analysis," *Cancer Treat Rev*, vol. 55, pp. 96-106, Apr 2017.
- [147] C. A. Barnes et al., "Survival of patients with borderline resectable pancreatic cancer who received neoadjuvant therapy and surgery," *Surgery*, vol. 166, no. 3, pp. 277-285, Sep 2019.
- [148] J. He et al., "Is a Pathological Complete Response Following Neoadjuvant Chemoradiation Associated With Prolonged Survival in Patients With Pancreatic Cancer?," *Ann Surg*, vol. 268, no. 1, pp. 1-8, Jul 2018.
- [149] T. Seufferlein and T. J. Ettrich, "Treatment of pancreatic cancer-neoadjuvant treatment in resectable pancreatic cancer (PDAC)," *Transl Gastroenterol Hepatol*, vol. 4, p. 21, 2019.
- [150] S. Gillen, T. Schuster, C. Meyer Zum Buschenfelde, H. Friess, and J. Kleeff, "Preoperative/neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of response and resection percentages," *PLoS Med*, vol. 7, no. 4, p. e1000267, Apr 20 2010.
- [151] L. Timmermann et al., "Neoadjuvant Chemotherapy Enhances Local Postoperative Histopathological Tumour Stage in Borderline Resectable Pancreatic Cancer - A Matched-Pair Analysis," *Anticancer Res*, vol. 39, no. 10, pp. 5781-5787, Oct 2019.
- [152] D. D. Von Hoff et al., "Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine," *N Engl J Med*, vol. 369, no. 18, pp. 1691-703, Oct 31 2013.
- [153] D. P. S. Sohal et al., "Efficacy of Perioperative Chemotherapy for Resectable Pancreatic Adenocarcinoma: A Phase 2 Randomized Clinical Trial," *JAMA Oncol*, vol. 7, no. 3, pp. 421-427, Mar 1 2021.
- [154] M. J. Truty et al., "Factors Predicting Response, Perioperative Outcomes, and Survival Following Total Neoadjuvant Therapy for Borderline/Locally Advanced Pancreatic Cancer," *Ann Surg*, vol. 273, no. 2, pp. 341-349, Feb 1 2021.

- [155] J. E. Murphy et al., "Dose intensity of neoadjuvant FOLFIRINOX (FFX) in borderline and locally advanced pancreatic cancer (LAPC): A comparison to the adjuvant benchmark," vol. 37, no. 4\_suppl, pp. 392-392, 2019.
- [156] M. J. Hewitt, M. J. McPhail, L. Possamai, A. Dhar, P. Vlavianos, and K. J. Monahan, "EUS-guided FNA for diagnosis of solid pancreatic neoplasms: a meta-analysis," *Gastrointest Endosc*, vol. 75, no. 2, pp. 319-31, Feb 2012.
- [157] M. Wagner, C. Redaelli, M. Lietz, C. A. Seiler, H. Friess, and M. W. Buchler, "Curative resection is the single most important factor determining outcome in patients with pancreatic adenocarcinoma," *Br J Surg*, vol. 91, no. 5, pp. 586-94, May 2004.
- [158] E. Van Cutsem et al., "Phase III trial of bevacizumab in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer," *J Clin Oncol*, vol. 27, no. 13, pp. 2231-7, May 1 2009.
- [159] K. C. Conlon, D. S. Klimstra, and M. F. Brennan, "Long-term survival after curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. Clinicopathologic analysis of 5-year survivors," *Ann Surg*, vol. 223, no. 3, pp. 273-9, Mar 1996.
- [160] M. Dal Molin et al., "Very Long-term Survival Following Resection for Pancreatic Cancer Is Not Explained by Commonly Mutated Genes: Results of Whole-Exome Sequencing Analysis," *Clin Cancer Res*, vol. 21, no. 8, pp. 1944-50, Apr 15 2015.
- [161] A. P. Makohon-Moore et al., "Limited heterogeneity of known driver gene mutations among the metastases of individual patients with pancreatic cancer," *Nat Genet*, vol. 49, no. 3, pp. 358-366, Mar 2017.
- [162] E. Riquelme et al., "Tumor Microbiome Diversity and Composition Influence Pancreatic Cancer Outcomes," *Cell*, vol. 178, no. 4, pp. 795-806 e12, Aug 8 2019.
- [163] J. Kleeff et al., "Pancreatic cancer," *Nat Rev Dis Primers*, vol. 2, p. 16022, Apr 21 2016.
- [164] O. Ishikawa et al., "Minute carcinoma of the pancreas measuring 1 cm or less in diameter-- collective review of Japanese case reports," *Hepatogastroenterology*, vol. 46, no. 25, pp. 8-15, Jan-Feb 1999.
- [165] N. A. Schultz et al., "MicroRNA biomarkers in whole blood for detection of pancreatic cancer," *JAMA*, vol. 311, no. 4, pp. 392-404, Jan 22-29 2014.
- [166] J. D. Cohen et al., "Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test," *Science*, vol. 359, no. 6378, pp. 926-930, Feb 23 2018.
- [167] M. Capello et al., "Sequential Validation of Blood-Based Protein Biomarker Candidates for Early-Stage Pancreatic Cancer," *J Natl Cancer Inst*, vol. 109, no. 4, Apr 1 2017.
- [168] M. Rinzivillo et al., "Clinical Usefulness of (18)F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography in the Diagnostic Algorithm of Advanced Entero-Pancreatic Neuroendocrine Neoplasms," *Oncologist*, vol. 23, no. 2, pp. 186-192, Feb 2018.
- [169] M. M. Alauddin and L. De Palatis, "Current and Future Trends in Early Detection of Pancreatic Cancer: Molecular Targets and PET Probes," *Curr Med Chem*, vol. 22, no. 29, pp. 3370-89, 2015.
- [170] C. G. England, R. Hernandez, S. B. Eddine, and W. Cai, "Molecular Imaging of Pancreatic Cancer with Antibodies," *Mol Pharm*, vol. 13, no. 1, pp. 8-24, Jan 4 2016.
- [171] T. Kamisawa, L. D. Wood, T. Itoi, and K. Takaori, "Pancreatic cancer," *Lancet*, vol. 388, no. 10039, pp. 73-85, Jul 2 2016.
- [172] S. Tang et al., "Usefulness of 18F-FDG PET, combined FDG-PET/CT and EUS in diagnosing primary pancreatic carcinoma: a meta-analysis," *Eur J Radiol*, vol. 78, no. 1, pp. 142-50, Apr 2011.



- [173] F. Castro-Giner and N. Aceto, "Tracking cancer progression: from circulating tumor cells to metastasis," *Genome Med*, vol. 12, no. 1, p. 31, Mar 19 2020.
- [174] J. Yang, R. Xu, C. Wang, J. Qiu, B. Ren, and L. You, "Early screening and diagnosis strategies of pancreatic cancer: a comprehensive review," *Cancer Commun (Lond)*, vol. 41, no. 12, pp. 1257-1274, Dec 2021.
- [175] N. Kamyabi, V. Bernard, and A. Maitra, "Liquid biopsies in pancreatic cancer," *Expert Rev Anticancer Ther*, vol. 19, no. 10, pp. 869-878, Oct 2019.
- [176] L. Gorgannezhad, M. Umer, M. N. Islam, N. T. Nguyen, and M. J. A. Shiddiky, "Circulating tumor DNA and liquid biopsy: opportunities, challenges, and recent advances in detection technologies," *Lab Chip*, vol. 18, no. 8, pp. 1174-1196, Apr 17 2018.
- [177] H. Kinugasa et al., "Detection of K-ras gene mutation by liquid biopsy in patients with pancreatic cancer," *Cancer*, vol. 121, no. 13, pp. 2271-80, Jul 1 2015.
- [178] P. Jiang and Y. M. D. Lo, "The Long and Short of Circulating Cell-Free DNA and the Ins and Outs of Molecular Diagnostics," *Trends Genet*, vol. 32, no. 6, pp. 360-371, Jun 2016.
- [179] Q. Zhou et al., "Detection of Circulating Tumor DNA in Human Blood via DNA-Mediated Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Single-Walled Carbon Nanotubes," *Anal Chem*, vol. 88, no. 9, pp. 4759-65, May 3 2016.

## 10 Eidesstaatliche Versicherung

„Ich, Flora Theresa Lindhammer, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Der Einfluss der perineuralen Infiltration auf die Therapie und klinische Prognose des duktales Pankreasadenokarzinoms/The influence of perineural infiltration on therapy and clinical prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet. Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht. Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte. Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum: 30.06.2024

Unterschrift:

## 11 Anteilserklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Flora Theresa Lindhammer hatte folgenden Anteil an der nachstehenden Publikation:

**Autoren:** Matthäus Felsenstein, Flora Lindhammer, Mathilde Feist, Karl Herbert Hillebrandt, Lea Timmermann, Christian Benzing, Brigitta Globke, Dario Zocholl, Mengwen Hu, Uli Fehrenbach, Bruno Valentin Sinn, Uwe Pelzer, Igor Maximillian Sauer, Johann Pratschke, Thomas Malinka

**Titel:** Perineural Invasion in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC): A Saboteur of Curative Intended Therapies?

**Zeitschrift:** Journal of Clinical Medicine; Volume 11; Issue 9; Doi: 10.3390/jcm11092367

**Erscheinungsdatum:** 23.04.2022

In Zusammenarbeit mit Dr. Matthäus Felsenstein, Dr. Mathilde Feist und Dario Zocholl entwickelte ich die Methodik, um die Tumordaten zu erfassen und anschließend auszuwerten und erstellte mit ihnen den schriftlichen Originalentwurf, der für die Publikation verwendet wurde. Anschließend erfolgte durch mich eine formale Analyse und Kuration der von mir recherchierten Daten. Meine Recherchearbeit und die daraus resultierende erweiterte Pankreasdatenbank lieferten die gesamte Datengrundlage für diese Publikation. Die anschließende statistische Auswertung und Visualisierung der Ergebnisse erfolgte anhand meiner Daten ausschließlich durch Dario Zocholl vom Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) am Charité Campus Mitte. So entstanden alle Grafiken, Tabellen und Ergebnisse, die in der Publikation verwendet wurden.

Berlin, den 30.06.2024

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Berlin, den 30.06.2024

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

## 12 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Berlin, den 30.06.2024

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

## 13 Publikationsliste

Titel der Publikation	Perineural Invasion in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC): A Saboteur of Curative Intended Therapies?
Autoren	Matthäus Felsenstein, <sup>1,2</sup> Flora Lindhammer, <sup>1</sup> Mathilde Feist, <sup>1</sup> Karl Herbert Hillebrandt, <sup>1,2</sup> Lea Timmermann, <sup>1</sup> Christian Benzing, <sup>1</sup> Brigitta Globke, <sup>1,2</sup> Dario Zocholl, <sup>3</sup> Mengwen Hu, <sup>1</sup> Uli Fehrenbach, <sup>4</sup> Bruno Valentin Sinn, <sup>5</sup> Uwe Pelzer, <sup>6</sup> Igor Maximillian Sauer, <sup>1,2</sup> Johann Pratschke, <sup>1</sup> Thomas Malinka <sup>1</sup>
Publikationsjahr	2022
Publikationsort	Journal of Clinical Medicine
Detailangaben	J Clin Med. 2022 May; 11(9): 2367
Publikationsreferenz	Doi: 10.3390/jcm11092367 PMCID: PMC9103867 PMID: 35566494

1 Department of Surgery, Campus Charité Mitte/Campus Virchow-Klinikum, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin

2 Berlin Institute of Health (BIH), Charité-Universitätsmedizin Berlin, Anna-Louisa-Karsch-Str. 2, 10178 Berlin, Germany

3 Institute of Biometry and Clinical Epidemiology, Campus Charité Mitte, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin, Germany

4 Department of Radiology, Campus Charité Mitte/Campus Virchow-Klinikum, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin, Germany

5 Institute of Pathology, Campus Charité Mitte, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin, Germany

6 Medical Department, Division of Hematology, Oncology and Tumor Immunology, Campus Charité Mitte/Campus Virchow-Klinikum, Charité-Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin, Germany

## 14 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen danken, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Besonderer Dank gilt dabei Herrn Prof. Dr. Thomas Malinka, der es mir ermöglicht hat mit seiner ausgezeichneten Förderung meine Promotion fertigzustellen.

Außerdem möchte ich mich noch bei Herrn PD Dr. Matthäus Felsenstein bedanken, ohne dessen Unterstützung und Geduld die Umsetzung meiner Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Danke, dass Sie meine Betreuung übernommen, Ihre Zeit in meine Dissertation investiert und mich an mein Ziel gebracht haben.

Mein Dank gilt ebenfalls Dario Zocholl, der meine statistische Auswertung vorgenommen hat, sich viel Zeit nahm mir die Details zu erklären und die Grafiken nach meinen Vorstellungen bearbeitete.

Auch Frau Dr. Mathilde Feist möchte ich meinen Dank für die Themenfindung, die gute Zusammenarbeit und den Zugang zur Pankreasdatenbank der Charité aussprechen.

Meinen Eltern, Großeltern und meiner Schwester Elisabeth danke ich für ihre Geduld, Ermutigungen und Zusprüche während meines Studiums und dieser Arbeit. Ich kann mich ausgesprochen glücklich schätzen Menschen wie Euch als Vorbilder in meinem Leben zu haben. Ohne Euch stünde ich heute nicht da, wo ich nun bin!

Diese Arbeit widme ich meiner Tante Birgit. Nun konnte ich mein Versprechen halten, welches ich ihr vor 20 Jahren gab. Sie wird immer in meinem Herzen sein!

Ebenfalls widme ich meine Dissertation meinem Opa Detlef, der diese Welt viel zu früh verlassen hat. Er hat mich gelehrt, was es heißt Durchhaltevermögen und Stärke zu beweisen. Kein Tag wird vergehen, an dem ich ihn nicht vermissen werde!

# 15 Bescheinigung des Instituts für Statistik

+



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE)

Direktor: Prof. Dr. Frank Konietzke

Name, Vorname: Lindhammer, Flora Theresa  
Emailadresse: floratheresa.lindhammer@charite.de  
Matrikelnummer: 222006  
Promotionsbetreuer: Dr. Matthäus Felsenstein  
Promotionsinstitution / Klinik: Chirurgische Klinik CCM/CVK

Postanschrift:  
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin  
Besucheranschrift:  
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin  
Tel. +49 (0)30 450 562171  
frank.konietzke@charite.de  
<https://biometrie.charite.de/>



## Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Flora Theresa Lindhammer innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBikE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- Termin 1: 9. Mai 2022

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Überlebenszeitanalysen mit Kaplan-Meier Kurven und Cox Regression
- Hinweis auf explorativen Charakter der Datenanalyse, keine Adjustierung für multiples Testen nötig

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: 10. Mai 2022

Name der Beraterin: Mareen Pigorsch

Unterschrift Beraterin, Institutsstempel  
Klinische Epidemiologie  
Campus Charité Mitte  
Charitéplatz 1 | D-10117 Berlin  
Sitz: Reinhardtstr. 58