

Aus der Klinik für Chirurgie  
der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. Tobias Keck

---

**Neuralscheideninfiltration und Tumor Budding  
als prognostische Faktoren beim  
duktalen Adenokarzinom des Pankreas**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck

- Aus der Sektion Medizin -  
vorgelegt von

**Verena Kathrin Isabel Zielinski**

aus München

Lübeck 2021

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Ulrich Wellner

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Martin Reck

Tag der mündlichen Prüfung: 18.08.2021

zum Druck genehmigt. Lübeck, den 18.08.2021

- Promotionskommission der Sektion Medizin -

**gewidmet meinen Eltern**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Ziele der vorliegenden Studie .....	1
1.2 Das Pankreaskarzinom.....	1
1.2.1 Epidemiologie des Pankreaskarzinoms.....	1
1.2.2 Risikofaktoren .....	2
1.2.3 Symptome beim Pankreaskarzinom.....	2
1.2.4 Klassifikation des Pankreaskarzinoms .....	3
1.2.5 Duktales Adenokarzinom des Pankreas.....	3
1.2.6 Diagnostik .....	4
1.2.7 Staging des Pankreaskarzinoms .....	5
1.2.8 Therapie .....	9
1.2.9 Nachsorge und Prognose.....	11
1.3 Histopathologische Parameter beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas .....	11
1.3.1 Differenzierungsgrad nach Weltgesundheitsorganisation .....	11
1.3.2 Bedeutung des Status des Residualtumors und CRM-Konzept.....	12
1.3.3 Lymphgefäßinvasion .....	15
1.3.4 Blutgefäßinvasion.....	15
1.3.5 Neuralescheideninfiltration .....	15
1.3.6 Tumor Budding.....	21
1.4 Epithelial-mesenchymale Transition .....	23
<b>2 Material und Methodik</b> .....	<b>26</b>
2.1 Studiendesign .....	26
2.2 Ethik.....	26
2.3 Patientenkollektiv .....	26
2.4 Endpunkte.....	26
2.5 Datenerhebung .....	27
2.5.1 Klinische Daten .....	27
2.5.2 Histopathologische Parameter .....	27
2.6 Auswertung und Statistik.....	29
<b>3 Ergebnisse</b> .....	<b>30</b>
3.1 Charakteristika des Patientenkollektivs.....	30
3.2 Histopathologische Parameter .....	30

3.3 Fehlende Daten .....	31
3.4 Univariable Analyse .....	31
3.5 Überlebensanalyse .....	31
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>39</b>
4.1 Tumor Budding .....	39
4.2 Neuralscheideninfiltration.....	56
4.3 Zusammenhang zwischen Tumor Budding und Neuralscheideninfiltration .	62
4.4 Kritische Anmerkungen .....	64
<b>5 Zusammenfassung.....</b>	<b>66</b>
<b>6 Ausblick .....</b>	<b>68</b>
<b>7 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>69</b>
<b>8 Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>76</b>
<b>9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis mit Quellenangaben</b>	<b>78</b>
<b>10 Danksagung .....</b>	<b>80</b>
<b>11 Lebenslauf.....</b>	<b>81</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 Ziele der vorliegenden Studie

Pankreaskarzinome zählen zu den aggressivsten Tumoren des Gastrointestinaltraktes. Die häufigste Tumorentität bei Pankreaskarzinomen ist das duktales Adenokarzinom des Pankreas (PDAC). Dabei zeigt sich bei dem PDAC meist ein frühes invasives Wachstum, sodass zum Zeitpunkt der Diagnose häufig bereits Metastasen vorliegen (61).

Tumor Budding (TB) und Neurausbreitung (NI) sind histopathologische Parameter und weisen eine ausgeprägte Präsenz bei dem PDAC im Vergleich zu anderen Tumoren des Gastrointestinaltraktes auf (40,53). Aufgrund dessen wird vermutet, dass es einen Zusammenhang zwischen TB und NI und dem invasiven Wachstum bei PDAC gibt. Daher besteht eine dringende Notwendigkeit der Quantifizierung und Stratifizierung von TB und NI, um die prognostische Bedeutung dieser Parameter bei dem PDAC zu analysieren.

In der vorliegenden Studie wurden die NI sowie das TB anhand des ausgewählten Patientenkollektivs bestimmt und der Überlebensrate gegenübergestellt. Anschließend wurden die zwei ausgewählten Parameter mit den anderen histopathologischen Faktoren verglichen. Zudem wurde der Zusammenhang zwischen NI und TB untersucht. Es wurden Patienten mit der Diagnose PDAC für diese Studie ausgewählt, da es sich dabei um die häufigste Tumorentität bei Pankreaskarzinomen handelt.

## 1.2 Das Pankreaskarzinom

### 1.2.1 Epidemiologie des Pankreaskarzinoms

Das mittlere Erkrankungsrisiko für ein Pankreaskarzinom liegt für Männer bei 72, für Frauen bei 75 Jahren (34). Das Pankreaskarzinom ist derzeit die vierthäufigste Krebstodesursache bei Männern als auch bei Frauen (29). Es ist bei Männern die 11. häufigste, bei Frauen die 8. häufigste Krebsdiagnose (82).

Etwa 17100 Menschen erkrankten im Jahr 2014 an einem Pankreaskarzinom in Deutschland (34). Die Geschlechterverteilung war nahezu gleich. Die 5-Jahres-Überlebensrate (5-JÜR) lag bei Männern bei 9 %, bei Frauen bei 10 % (34).

### 1.2.2 Risikofaktoren

Gesicherte Risikofaktoren für ein Pankreaskarzinom sind das Rauchen, starkes Übergewicht, Diabetes Mellitus Typ 2 sowie ein hoher Alkoholkonsum (34). Zusätzlich haben Patienten mit chronischer Entzündung der Bauchspeicheldrüse (Pankreatitis) und Verwandte ersten Grades von Patienten mit Pankreaskarzinom ein erhöhtes Risiko ebenfalls an einem Pankreaskarzinom zu erkranken (34). Diskutierte Risikofaktoren sind ein häufiger Verzehr von verarbeiteten Fleischwaren und gegrillten oder geräucherten Speisen (34). Der Einfluss von Umweltfaktoren und Schadstoffen auf die Entwicklung eines Pankreaskarzinoms ist bislang nicht geklärt (34). Außerdem ist das Risiko für ein Pankreaskarzinom bei Vorliegen von bestimmten Erbkrankheiten, wie zum Beispiel der multiplen endokrinen Neoplasie Typ 1, dem von-Hippel-Lindau-Syndrom und dem Lynch-Syndrom, erhöht (71). Ebenso lassen das polyzystische Ovarialsyndrom und das Peutz-Jeghers-Syndrom das Risiko für ein Pankreaskarzinom ansteigen (31,59). Zusätzlich ist das frühzeitige Erkennen von Tumorvorläuferläsionen, wie der intraduktal papillären muzinösen Neoplasien (IPMN) und der muzinösen Zystadenome, für eine Prognoseverbesserung von entscheidender Bedeutung (46). Bei den IPMN muss zwischen Hauptgang-IPMNs von Seitengang-IPMNs differenziert werden, da die Hauptgang-IPMN mit einer deutlich schlechteren Prognose einhergehen (32).

### 1.2.3 Symptome beim Pankreaskarzinom

Es existieren keine typischen Symptome bei einem Pankreaskarzinom (32). Mögliche Initialsymptome können Rückenschmerzen, Gewichtsverlust, Oberbauchschmerzen und verminderte körperliche Leistung sein (83). Insbesondere bei Patienten über dem 50. Lebensjahr mit einem schmerzlosen Ikterus oder einer akuten Pankreatitis sollte ein Pankreaskarzinom ausgeschlossen werden (32).

## 1.2.4 Klassifikation des Pankreaskarzinoms

Bei dem Pankreaskarzinom lassen sich nach der Histologie unterschiedliche Typen differenzieren. Dabei nimmt das PDAC mit bis zu 90 % aller malignen Pankreastumore den häufigsten histologischen Typ ein (27). Zu den seltenen histologischen Typen des Pankreaskarzinoms zählen die neuroendokrinen Neoplasien, solide-pseudopapilläre Neoplasien, das Azinuszellkarzinom und das Pankreatoblastom. Tab. 1 zeigt die verschiedenen histologischen Typen bei dem Pankreaskarzinom (26).

<b>Histologische Typen bei Pankreaskarzinom</b>	<b>Relative Häufigkeit (% von allen malignen Pankreastumoren)</b>
PDAC	90 %
Neuroendokrine Neoplasien	5 %
Solide-pseudopapilläre Neoplasien	1–2 %
Azinuszellkarzinom	1–2 %
Pankreatoblastom	< 1 %

**Tab. 1**

Histologische Typen bei einem Pankreaskarzinom. PDAC – Duktales Adenokarzinom des Pankreas. Tab. adaptiert nach (26).

## 1.2.5 Duktales Adenokarzinom des Pankreas

Das PDAC ist mit bis zu 90 % Vorkommen der häufigste Tumortyp (27). Die häufigste Lokalisation des Tumors ist im Pankreaskopf (60–70 %), seltener im Pankreaskörper (5–15 %) oder im Pankreasschwanz (10–15 %) (63). Bei dem PDAC kann man weitere histologische Differenzierungen unterscheiden, die in Tab. 2 dargestellt sind (61).

<b>Histologische Typen bei PDAC</b>	Adenosquamöses Karzinom
	Kolloides Karzinom
	Hepatoides Karzinom
	Medulläres Karzinom
	Siegelringzelliges Karzinom
	Undifferenziertes Karzinom
	Undifferenziertes Karzinom mit osteoklastenartigen Riesenzellen

**Tab. 2**

Histologische Typen bei PDAC. PDAC – Duktales Adenokarzinom des Pankreas. Tab. adaptiert nach (61).

### 1.2.6 Diagnostik

Für die Diagnostik und Therapie von Pankreaskarzinomen liegen aktuell drei verschiedene Leitlinien vor:

- Deutsche S3-Leitlinie, 2013 (83)
- Europäische Leitlinie der Europäischen Gesellschaft für Medizinische Onkologie (ESMO), 2015 (15)
- Amerikanische Leitlinie der National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 2017 (73).

Mehr als die Hälfte der Pankreaskarzinome wird erst im fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert. Dies lässt sich zum einen auf das Fehlen von Symptomen in frühen Stadien als auch auf ein sehr schnelles Wachstum des Tumors zurückführen. Lediglich bei neun Prozent der Patienten mit Pankreaskarzinom beschränkt sich der Tumor bei Diagnosestellung ausschließlich auf das Pankreas (34).

In der deutschen Leitlinie sind der Röntgen Thorax und die Abdomensonographie als Primärdiagnostik empfohlen. Eine Abdomen Computertomographie (CT), ein Thorax CT und eine abdominelle Magnetresonanztomographie können bei Bedarf zusätzlich vorgenommen werden. Ebenso stehen die Magnetresonanztomographie Cholangiopankreatikographie (MRCP), der endoskopische Ultraschall und die endoskopische retrograde Cholangiopankreatikographie (ERCP) zur Verfügung. Bei Anwendung des endoskopischen Ultraschalls und der ERCP besteht die Möglichkeit einer Biopsie (83). In der europäischen und amerikanischen Leitlinie ist hingegen das CT Teil der primären Diagnostik (32).

Die ERCP dient bevorzugt der Darstellung des Gallen- und Pankreasgangsystems. Durch typische Zeichen wie das „double-duct-sign“ (Abbruch/Stenose des Ductus choledochus und des Ductus pancreaticus) in Sonographie, ERCP oder MRCP, kann bereits in 90 % der Fälle die Diagnose sicher gestellt werden (4). Mithilfe der MRCP können gleichzeitig Morphologie, Gefäßverhältnisse und Gallen- sowie Pankreasgänge beurteilt werden. Allgemeine Tumorzeichen sind die Vergrößerung des Organs oder die Deformität der Kontur, keine Abgrenzung zu Nachbarstrukturen, Densitätsdefekte und strukturelle Inhomogenität (83).

In der Bildgebung kann sich ein Pankreaskarzinom als ein schwach anreicherender, unregelmäßiger, inhomogener Tumor mit unscharfer Randkontur darstellen. Indirekte Zeichen für ein Pankreaskarzinom sind Dilatationen der Pankreas- und Gallenwege ohne Steinnachweis sowie Metastasen in den regionären Lymphknoten oder der Leber sowie Aszites (78).

Eine präoperative histologische Diagnose ist nicht zwingend erforderlich (32). Bei tumorverdächtigen Läsionen des Pankreas, Leberherden oder primärer Inoperabilität ist die Abklärung durch eine Biopsie allerdings der Goldstandard (61).

Spezifische Marker für die histologische Sicherung eines PDAC stehen derzeit nicht zur Verfügung. Lediglich eine Eingrenzung auf das Pankreas, die ableitenden Gallenwege oder den Magen durch immunhistochemische Marker ist möglich (61). Das Carbohydrate-Antigen 19-9 im Serum kann bei 75–85 % der Patienten mit PDAC erhöht sein. Dieser Parameter allein ist jedoch nicht ausreichend für eine Diagnose, da er bei vielen weiteren Tumorentitäten erhöht sein kann. Lediglich in der Nachsorge kommt dem Carbohydrate-Antigen 19-9 eine Bedeutung als Marker für ein Rezidiv oder einen Tumorprogress zu (71).

### 1.2.7 Staging des Pankreaskarzinoms

#### **TNM-Klassifikation**

Bei der TNM-Klassifikation handelt es sich um eine einheitliche standardisierte Einteilung zur Beurteilung der Ausdehnung des Primärtumors, des Vorhandenseins von Lymphknotenmetastasen und der Anwesenheit von Fernmetastasen. Anhand dieser Einteilung ist eine Einordnung in Stadien zur prognostischen Stratifizierung möglich (3).

Die TNM-Klassifikation wird von der Union Contre le Cancer (UICC) herausgegeben (3). Die aktuelle Version ist die 8. Auflage aus dem Jahr 2017 (3). Tab. 3 stellt die aktuelle TNM-Klassifikation der UICC für Pankreaskarzinome dar. Die Stadieneinteilung erfolgt nach dem American Joint Committee on Cancer, diese ist in Tab. 4 dargestellt (3).

<b>T-Klassifikation</b>	TX - Primärtumor nicht beurteilbar	
	T1 - Tumor $\leq 2$ cm in größter Ausdehnung	T1a - Tumor $\leq 0,5$ cm in größter Ausdehnung T1b - Tumor $> 0,5$ cm aber $< 1$ cm in größter Ausdehnung T1c - Tumor $\geq 1$ cm aber $\leq 2$ cm in größter Ausdehnung
	T2 - Tumor $> 2$ cm aber $\leq 4$ cm in größter Ausdehnung	
	T3 - Tumor $> 4$ cm in größter Ausdehnung	
	T4 - Tumor infiltriert Truncus coeliacus, A. mesenterica superior und/oder A. hepatica communis	
<b>N-Klassifikation</b>	NX - Regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar	
	N1 - Metastasen in 1–3 regionären Lymphknoten	
	N2 - Metastasen in 4 oder mehr regionären Lymphknoten	
<b>M-Klassifikation</b>	M0 - Keine Fernmetastasen	
	M1 - Fernmetastasen vorhanden	

**Tab. 3**

Darstellung der aktuellen 8. TNM-Klassifikation der UICC von 2017 für Pankreaskarzinome. A. - Arteria. Tab. adaptiert nach (3).

<b>Stadien PDAC</b>	Stadium 0	Tis	N0	M0
	Stadium IA	T1	N0	M0
	Stadium IB	T2	N0	M0
	Stadium IIA	T3	N0	M0
	Stadium IIB	T1, T2, T3	N1	M0
	Stadium III	T1, T2, T3	N2	M0
		T4	Jedes N	M0
	Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1

**Tab. 4**

Darstellung der Stadieneinteilung bei PDAC anhand der aktuellen 8. TNM-Klassifikation. Tis - Carcinoma in situ. Tab. adaptiert nach (3).

## **Resektabilität**

Bezüglich der Resektabilität ist bei dem Staging eines Pankreaskarzinoms zu differenzieren zwischen:

- primär resektabler Tumor
- grenzwertig (borderline) resektabler Tumor
- lokal fortgeschrittener Tumor und
- fernmetastasierter Tumor.

Diese Unterscheidung bestimmt den weiteren Therapieverlauf (11).

### **Primär resektables Pankreaskarzinom**

Bei einem primär resektablen Pankreaskarzinom liegt ein auf das Pankreas begrenzter Tumor ohne Infiltration der großen umliegenden Gefäße (Truncus coeliacus, Arteria (A.) hepatica, A. und Vena (V.) mesenterica superior, Pfortader) vor. Hierbei ist eine chirurgische Resektion mit anschließender adjuvanter Chemotherapie die Therapie der Wahl (11).

### **Grenzwertig resektables Pankreaskarzinom**

Bei grenzwertig (Borderline-) resektablen Pankreaskarzinomen handelt es sich um Karzinome, die weder den primär resektablen noch den lokal fortgeschrittenen Tumoren zugeordnet werden können. Bisher liegt keine einheitliche Definition für Borderline-resektable Pankreaskarzinome vor, sodass das Staging dieser Karzinome erschwert wird (11).

Hier zu erwähnen sind die zwei häufig angewendeten Definitionen bei Borderline-resektablen Pankreaskarzinomen, die sich beide nach der Tumor Gefäßinfiltration orientieren (5,76). Varadhachary et al. vom MD Anderson Cancer Center aus Houston, Texas, USA, definierten Borderline Tumore, wenn kein Tumorkontakt zum Truncus coeliacus und bei der A. hepatica nur eine kurzstreckige Ummauerung mit Möglichkeit einer Rekonstruktion vorliegt. Zudem muss die A. mesenterica superior weniger als 180 Grad involviert sein und die venösen Gefäße dürfen nur einen kurzstreckigen Verschluss mit Möglichkeit einer Rekonstruktion aufweisen (76).

Die American Hepatobiliary Association, die Society for Surgery of the Alimentary Tract und die Society of Surgical Oncology veröffentlichten 2009 eine strengere Definition für Borderline-resektable Tumore. Hierbei ist ein Heranreichen des Tumors an die venösen Gefäße sowie ein Heranreichen des Tumors an die A. hepatica für die Definition eines Borderline-resektablen Tumors bereits ausreichend (5). Identisch ist die Definition mit Varadhachary et al. bezüglich des fehlenden Tumorkontakts zum Truncus coeliacus sowie eine Ummauerung der A. mesenterica superior von weniger als 180 Grad (5,76).

Ebenso wie die Definition des Borderline-resektablen Pankreaskarzinoms, ist die Therapieempfehlung bislang nicht klar definiert. Eine neoadjuvante Therapie ist bisher umstritten, da randomisiert kontrollierte Studien fehlen. Daher sollten Patienten mit Borderline-resektablen Tumoren in spezialisierten Zentren betreut und jeder Fall einzeln geprüft werden (11).

### **Lokal fortgeschrittenes Pankreaskarzinom**

Bei dem lokal fortgeschrittenen Pankreaskarzinom sind die Kriterien eindeutig definiert. Hierbei liegt keine Indikation für eine primäre Operation vor (74).

Ein lokal fortgeschrittenes Pankreaskarzinom liegt bei den folgenden Kriterien vor:

- Umschließung der Pfortader bzw. V. mesenterica superior ohne Möglichkeit der chirurgischen Wiederherstellung
- > 180 Grad Umschließung der A. mesenterica superior, des Truncus coeliacus oder der A. hepatica, deren Infiltration oder die breitflächige Beteiligung der Aorta (74).

Die Therapieempfehlung für ein lokal fortgeschrittenes Pankreaskarzinom enthält die Gabe einer neoadjuvanten Chemotherapie. Anschließend sollte eine chirurgische Reexploration durchgeführt werden. Unter der neoadjuvanten Therapie erlangen etwa 30 % der Patienten eine sekundäre Resektabilität (11). Diese sollte jedoch ausschließlich in Studien durchgeführt werden (36).

### **Fernmetastasiertes Pankreaskarzinom**

Bei einem fernmetastasierten Pankreaskarzinom ist eine chirurgische Resektion meist nicht mehr zu empfehlen. Hierbei hat die frühzeitige histologische Sicherung der Metastasen oberste Priorität (11).

Bei einem Auftreten einer Cholestase oder Duodenalstenose ist die endoskopische Anwendung von selbstexpandierenden Metallstents eine etablierte Methode (70). Die Wahl des palliativen Chemotherapeutikums ist das FOLFIRINOX Schema (Folinsäure, 5-Fluorouracil, Irinotecan, Oxaliplatin) oder die Kombination von Gemcitabin und nab-Paclitaxel (36,74). Zur Minderung der Schmerzen kann eine Blockade des Ganglion coeliacum oder eine thorakoskopische Splanchniektomie vorgenommen werden (70).

### **1.2.8 Therapie**

Die Therapie sollte nach Möglichkeit in spezialisierten Zentren in einem multidisziplinären Team geplant und durchgeführt werden (32). Eine Operation ist das einzige potenziell kurative Therapieverfahren bei einem Pankreaskarzinom, wobei das Ziel die vollständige Entfernung des Tumors mit größtmöglichem Sicherheitsabstand ist. Lediglich weniger als 20 % der Fälle kommen für eine chirurgische Therapie in Frage. Die 5-JÜR nach kurativer Resektion beträgt 20 % (34,67).

Die Resektabilität wird endgültig im Rahmen der chirurgischen Exploration festgestellt (74). Die genaue Operationsmethode richtet sich nach der Lokalisation des Tumors: befindet sich der Tumor im Pankreaskopf, so kann eine pyloruserhaltende partielle Duodenopankreatektomie oder eine partielle Duodenopankreatektomie (Kausch-Whipple-Operation) durchgeführt werden (22,74).

Bei Tumoren im Pankreaskörper oder Pankreasschwanz erfolgt eine Pankreaslinksresektion oder eine totale Duodenopankreatektomie mit Splenektomie (22,74). Außerdem erfolgt bei der Resektion eine standardisierte Lymphadenektomie anhand der deutschen S3-Leitlinie (83). Dabei werden bei einer partiellen Duodenopankreatektomie die Lymphknoten entlang des Ligamentum hepatoduodenale, der V. portae und des oberen Bereiches der V. mesenterica superior entfernt. Zusätzlich erfolgt eine Entfernung der Lymphknoten rechts des Truncus coeliacus und rechts der A. mesenterica superior (22).

Bei Durchführung der partiellen Duodenopankreatektomie in spezialisierten Zentren liegt die perioperative Sterblichkeit zwischen 3–7 % (22). Eine multizentrische Beobachtungsstudie von 27 Kliniken mit insgesamt 2003 Patienten zeigte eine Hospitalletalität bei einer partiellen Duodenopankreatektomie von 4.1 % (21). Bei einer Pankreaslinksresektion lag die Hospitalletalität bei 1.9 %, bei einer totalen Duodenopankreatektomie bei 3.8 % (21). Verlangt eine postoperative Komplikation einen erneute Operation, steigt die Rate der Letalität auf bis zu 50 % an (22).

Mit 30–50 % ist die Komplikationsrate bei chirurgischen Therapien in der Pankreaschirurgie sehr hoch (57). Zu der häufigsten Komplikation zählt die postoperative Pankreasfistel mit einer Häufigkeit von 3–35 %, deren Auftreten abhängig von der Operationsmethode variiert. Weitere Komplikationen sind intraabdominelle Abszesse, Gallefisteln und postoperative Blutungen (57). Mögliche Langzeitkomplikationen nach einer Resektion des Pankreas können ein Diabetes mellitus oder eine exokrine Pankreasinsuffizienz sein (32).

Nach einer kurativen Resektion verbessert eine Chemotherapie, in dem Fall als adjuvante Therapie bezeichnet, in allen Tumorstadien die Prognose gegenüber einer alleinigen Operation (71). Eine adjuvante Therapie dient dabei zur Senkung des Rezidivrisikos (36).

Im Falle einer R1-Resektion (mikroskopischer Residualtumor im Resektionsrand) wird die Chemotherapie als additiv bezeichnet und ist ebenfalls durchzuführen (36). Hierbei lässt sich eine signifikante Verbesserung des progressionsfreien Überlebens sowie des Gesamtüberlebens im Vergleich zu einer alleinigen Resektion nachweisen (5-JÜR: 20.7 % versus 10.4 %). Als Chemotherapeutika stehen Gemcitabin oder 5-Fluoruracil zur Verfügung (67).

Bei Borderline-resektablen Tumoren kann eine Chemotherapie vor der Operation (neoadjuvante Therapie) bei einem Ansprechen den Tumor verkleinern and dadurch eine Resektabilität erreichen (71). Ferrone et al. konnten in einer Studie von 40 Patienten mit Borderline-resektablen oder lokal fortgeschrittenen Tumoren nach neoadjuvanter Therapie mit dem FOLFIRINOX Regime eine deutliche Verringerung der perineuralen Invasion und Tumor-positiven Lymphknoten zeigen, verglichen mit Patienten nach primärer Operation (18). Dennoch wird eine neoadjuvante Therapie in der deutschen Leitlinie aktuell nur im Rahmen von Studien empfohlen, da für einen signifikanten Nutzen noch weitere Studien nötig sind (32).

Eine Bestrahlung sollte außerhalb von randomisierten, kontrollierten Studien bislang nicht durchgeführt werden, da der Benefit bisher nicht eindeutig nachgewiesen werden konnte (67).

### 1.2.9 Nachsorge und Prognose

Zur Tumornachsorge bei Patienten mit Pankreaskarzinom bestehen bisher keine evidenzbasierten Leitlinien. Es wird allerdings eine klinische Nachsorge alle drei bis sechs Monate empfohlen (32).

Die 5-JÜR aller erkrankten Patienten ist mit etwa 6 % sehr schlecht. Nach operativer Resektion und adjuvanter Chemotherapie liegt die 5-JÜR bei 16–26 % (70). Auch bei kurativ angestrebter Resektion besteht ein hohes Rezidivrisiko, weshalb Pankreaskarzinome zu den aggressivsten Tumoren des Gastrointestinaltraktes zählen (17).

## 1.3 Histopathologische Parameter beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas

### 1.3.1 Differenzierungsgrad nach Weltgesundheitsorganisation

Als Grading bezeichnet man die Beurteilung des Tumorgewebes anhand des Differenzierungsgrades. Die Einteilung erfolgt dabei nach den Kriterien der Weltgesundheitsorganisation von 2010 (28,61).

Es handelt sich um einen wichtigen unabhängigen Prognosefaktor nach einer Resektion des Pankreaskarzinoms, der anhand zytologischer Kriterien und der Mitoserate ermittelt werden kann (61). Je höher und ausgeprägter der Differenzierungsgrad einer Tumorzelle ist, desto benigner ist der Tumor. Eine differenzierte Tumorzelle ist dem Normalgewebe ähnlicher und damit benigner als eine gering differenzierte Tumorzelle (10). Tumore mit einem hohen Grading sind im Vergleich zu Tumoren mit einem niedrigem Grading mit einem signifikant schlechteren Überleben assoziiert (28).

Bei dem Grading erfolgt eine Einteilung in Grad I–III:

- Grad I: glanduläre Differenzierung, intensive Schleimproduktion,  $\leq 5$  Mitosen pro 10 High-Power-Field (HPF), geringe Kernpolymorphie
- Grad II: mittelgradig differenzierte, gangartige Strukturen oder tubuläre Drüsen, irreguläre Schleimproduktion, 6-10 Mitosen pro HPF, mittelgradige Kernpolymorphie
- Grad III: gering differenzierte Drüsen, eventuell mukoepidermoide und pleomorphe Strukturen, abortive Schleimproduktion, mehr als 10 Mitosen pro HPF, hochgradige Kernpolymorphie (61).

### 1.3.2 Bedeutung des Status des Residualtumors und CRM-Konzept

Die Ermittlung des Status des Residualtumors (R-Status) ist ein wesentlicher Teil der histopathologischen Untersuchung des Tumors (64). Ein Konsens hinsichtlich der Definition des R-Status und eine einheitliche Nomenklatur für die Absetzungsränder beim Pankreaskarzinom liegt aktuell noch nicht vor (63,83).

Das Ziel einer chirurgischen Therapie bei einem Pankreaskarzinom ist eine R0-Resektion, bei der sich im Resektionsrand mikroskopisch keine Tumorzellen befinden. Je weiter der Tumor vom Resektionsrand entfernt liegt, desto besser ist die Prognose (67).

In der Literatur werden derzeit verschiedene Sicherheitsabstände für den R0 Status angegeben (63). Die UICC definiert R0, wenn sich Tumorzellen  $< 1$  mm zum Resektionsrand befinden, der Resektionsrand aber frei von Tumorzellen ist (58). Das britische Royal College of Pathologists definiert hingegen R0, wenn die Tumorzellen  $> 1$  mm vom Resektionsrand entfernt sind (42,58).

Liegen mikroskopisch Tumorzellen im Resektionsrand vor, bezeichnet man es als R1-Resektion (67). Auch für R1 gibt es keine einheitliche Definition. Das britische Royal College of Pathologists diagnostiziert R1, wenn sich Tumorzellen  $\leq 1$  mm vom Resektionsrand befinden (64).

Bei der UICC liegt ein R1 Status vor, wenn Tumorzellen direkt am Resektionsrand vorliegen (42). Diese verschiedenen Definitionen des R-Status spiegeln sich in einer großen Schwankungsbreite der R1 Rate bei dem Pankreaskarzinom von 16–75 % in der Literatur wieder (83).

Der R2-Status wird bei Vorliegen eines makroskopischen Nachweises verwendet. Bei RX ist keine eindeutige Aussage über den R-Status möglich (63).

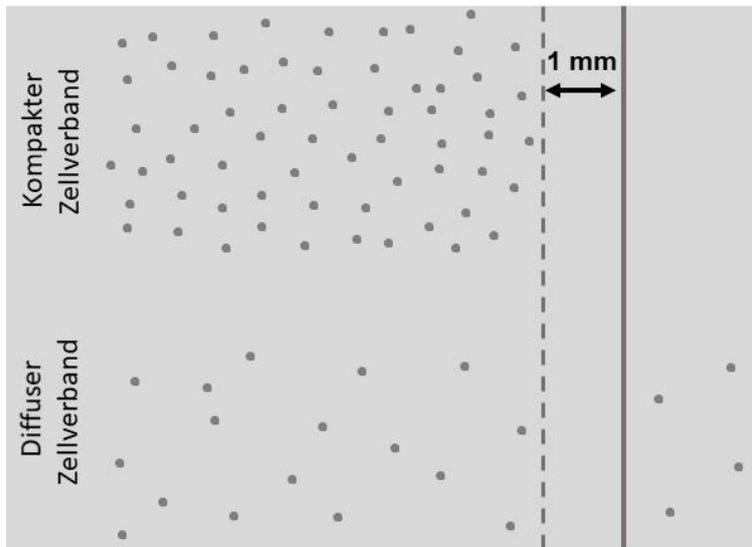
Bei der Untersuchung des Operationspräparates werden insbesondere die zirkumferentiellen Resektionsränder bzw. -flächen (CRM) beurteilt. Dazu zählen die dorsale, mediale (zur Gefäßfurche) und die ventrale Fläche (61). Eine Tumordinfiltration findet häufig an der zirkumferentiellen medialen (46–69 %) und dorsalen (44–64 %) Fläche statt (61,64).

Die Beurteilung des CRM wird zusätzlich zu der Untersuchung des R-Status in der S3-Leitlinie von 2013 beim exokrinen Pankreaskarzinom empfohlen (83).

Es ist zu differenzieren zwischen:

- CRM-positiv/R1: Tumor direkt am Resektionsrand nachweisbar
- CRM-positiv/R0: Abstand der Tumorzellen beträgt  $\leq 1$  mm zum Resektionsrand, erreicht diesen jedoch noch nicht („R0 narrow“)
- CRM-negativ: Abstand der Tumorzellen beträgt  $> 1$  mm zum Resektionsrand („R0 wide“) (83).

Die Beziehung zwischen Tumorausbreitung an der Invasionsfront sowie dem am Präparat bestimmten R-Status, stimmen bei dem Pankreaskarzinom nicht immer überein. Dies lässt sich durch ein wenig zusammenhaltendes Wachstum und einer starken Tumorzelldissoziation erklären, was insbesondere beim Magen- oder Pankreaskarzinom vorliegt (63). Veranschaulicht wird dies in Abb. 1 (77).



**Abb. 1**

Schematische Darstellung der Korrelation zwischen Tumorausbreitung an der Invasionsfront und dem R-Status. Die Grafik zeigt eine mögliche Überlegung der Ausbreitung von Tumorzellen. Die grauen Punkte stellen Tumorzellen dar, zum einen ein kompakter Zellverband (obere Hälfte) und zum anderen ein diffuser Zellverband (untere Hälfte), wie zum Beispiel bei dem Pankreaskarzinom. Die durchgehende Linie stellt den Resektionsrand dar, die gestrichelte Linie den Sicherheitsabstand von 1 mm. Abb. in Anlehnung an (77).

Welcher Abstand der Tumorzellen vom Resektionsrand schließlich von prognostischer Bedeutung ist, ist bislang noch nicht geklärt (58).

In einer Studie von Chang et al. mit 365 Patienten zeigte sich in der multivariaten Analyse ein Sicherheitsabstand von  $> 1.5$  mm zum Resektionsrand als ein unabhängiger signifikanter Faktor für das Überleben (medianes Überleben 18.4 Monate,  $p = 0.0005$ ) (7). Von dieser Kohorte erhielten 295 Patienten eine Kausch-Whipple-Operation, bei der ein Abstand von  $> 1.5$  mm signifikant mit einem besseren Langzeitüberleben assoziiert war (medianes Überleben 18.5 Monate,  $p = 0.0073$ , 5-JÜR 22.2 %) (7).

Strobel et al. analysierten den R-Status bei 561 Patienten mit PDAC, die eine Duodenopankreatektomie erhielten (72). Dabei zeigten sich in der univariablen Analyse signifikante Unterschiede ( $p < 0.0001$ ) zwischen R0 ( $\geq 1$  mm), R1 ( $< 1$  mm) und R1direkt (0 mm) auf das mediane Überleben sowie das 5-JÜR (R0: medianes Überleben 41.6 Monate, 5-JÜR 37.7 %, R1: medianes Überleben 27.5 Monate, 5-JÜR 30.1 %, R1direkt: medianes Überleben 23.4 Monate, 5-JÜR 20.3 %).

In der multivariaten Analyse erwiesen sich R0 verglichen mit R1direkt (Hazard Ratio (HR) = 0.73, 95 % Konfidenzintervall (CI) 0.54–0.98, p = 0.0391) und R1 verglichen mit R1direkt (HR = 0.71, 95 % CI 0.54–0.95, p = 0.0193) als unabhängige prognostische Faktoren für das Gesamtüberleben (72).

Ein Konsens über die Definition des R-Status bei dem Pankreaskarzinom ist in Zukunft dringend nötig (63). Ziel ist es, Befunde zu kategorisieren, um daraus Aussagen über das Rezidivrisiko und die Prognose des einzelnen Patienten treffen zu können (83).

### 1.3.3 Lymphgefäßinvasion

Die Lymphgefäßinvasion (L) gibt an, ob Tumorzellen die Lymphgefäße infiltrieren. Liegt in den Lymphgefäßen keine Invasion von Tumorzellen vor, so wird dies als L0 bezeichnet, befinden sich Tumorzellen in den Lymphgefäßen, wird es als L1 beschrieben (3). Die lymphatische Ausbreitung ist dabei ein wichtiger prognostischer Faktor zur Beurteilung der Invasivität von Tumorzellen bei dem Pankreaskarzinom (68). Die Bestimmung der Lymphgefäßinvasion ist Teil der Pathologie Befundung (83).

### 1.3.4 Blutgefäßinvasion

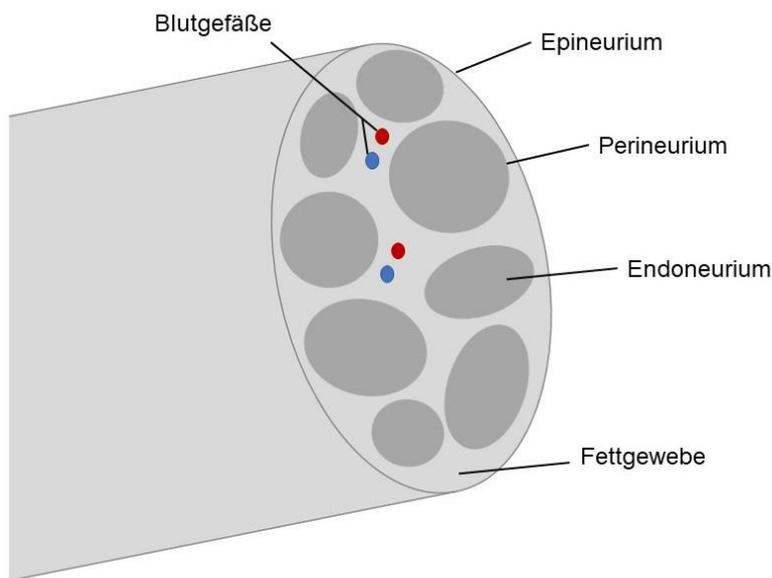
Die Blutgefäßinvasion (V) gibt an, ob sich Tumorzellen in den Blutgefäßen befinden. Liegen keine Tumorzellen in den Blutgefäßen vor, bezeichnet man es als V0, finden sich Tumorzellen in den Blutgefäßen, beschreibt man es als V1 (3). Eine Infiltration von Tumorzellen in Blutgefäße ist ein wichtiger prognostischer Faktor für das Überleben (2). Aufgrund dessen gehört die Beurteilung der Blutgefäßinvasion beim Pankreaskarzinom zur Pathologie Befundung (83).

### 1.3.5 Neuralscheideninfiltration

Als Neuralscheideninfiltration (NI) bezeichnet man den Prozess der Einwanderung von Tumorzellen in einen Nerv. Häufig wird auch von einer Perineuralscheideninfiltration gesprochen, wobei dies die Einwanderung von Tumorzellen in das Perineurium beschreibt, die mittlere Schicht eines Nervs (8).

Die perineurale Invasion wurde erstmals 1905 von Ernst, P. (16) in Zusammenhang mit einem Chondrosarkom beschrieben (43).

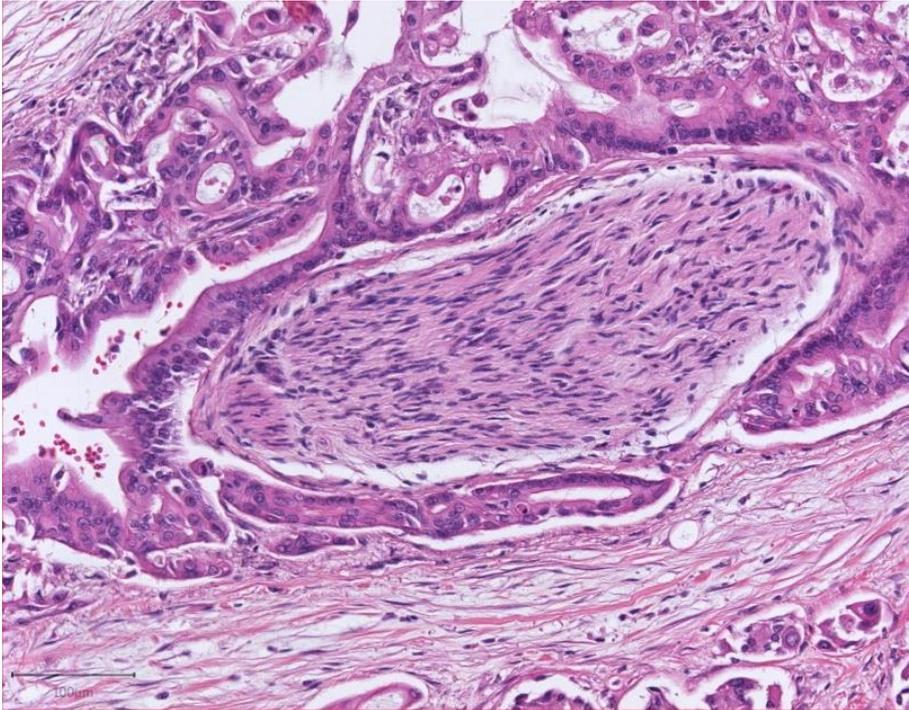
Ein Nerv ist von außen nach innen aus drei Schichten aufgebaut: Epineurium, Perineurium und Endoneurium. In Abb. 2 ist ein peripherer Nerv im Querschnitt dargestellt (66). Das Epineurium besteht vor allem aus Kollagen und Elastin. Das Perineurium beinhaltet endotheliale Zellen und eine Basalmembran und übernimmt als Aufgabe die Barrierefunktion (8). In der innersten Schicht, dem Endoneurium, befinden sich einzelne Nervenfasern, Axone der Nerven und Schwann Zellen (52).



**Abb. 2**

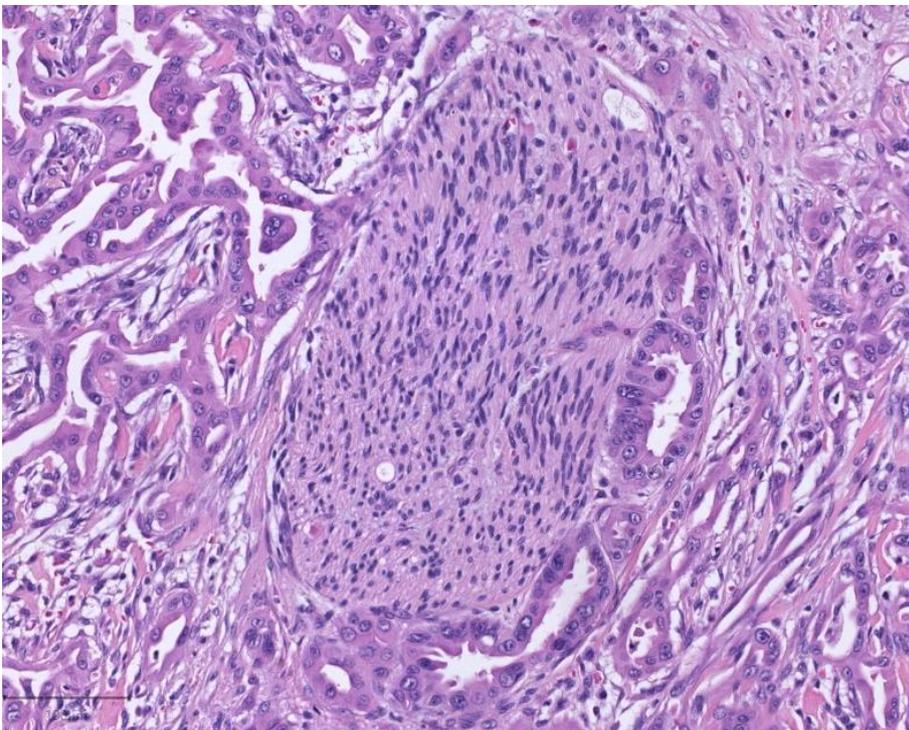
Darstellung eines peripheren Nerven im Querschnitt. Die Abbildung zeigt die Unterteilung in Epineurium, Perineurium und Endoneurium. Im Epineurium finden sich zudem Blutgefäße sowie Binde- und Fettgewebe. Abb. in Anlehnung an (66).

Je nachdem bis zu welcher Schicht des Nerven sich die Tumorzellen ausgebreitet haben, kann man unterscheiden zwischen epineuraler Tumorassoziation (ENA), perineuraler Invasion (PNI) und endoneuraler Invasion (ENI). Abb. 3–5 stellen exemplarisch diese verschiedenen Nerveninfiltrationen dar.



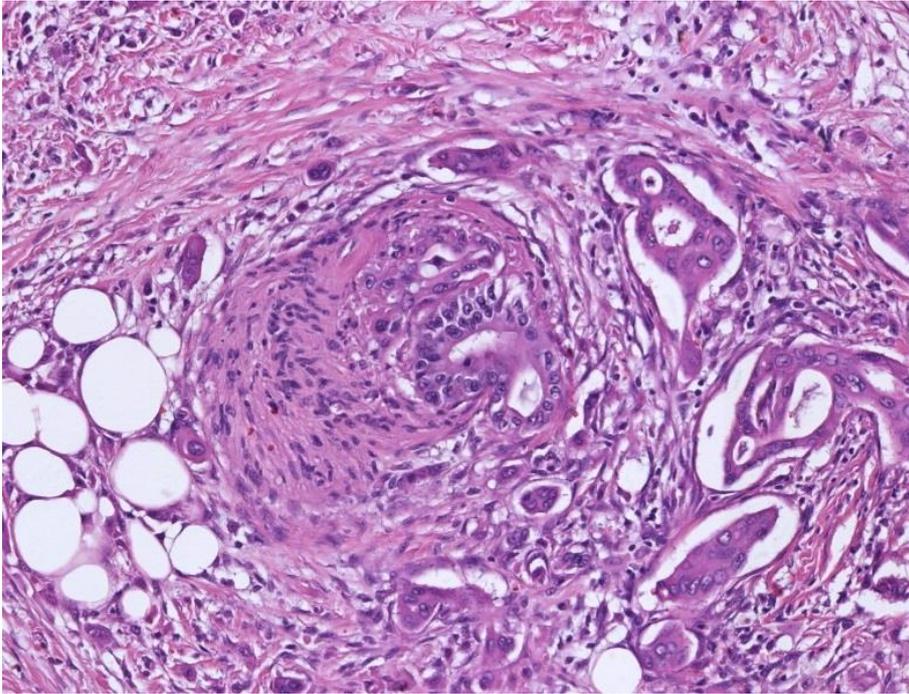
**Abb. 3**

Darstellung einer epineuralen Tumorassoziation (ENA) bei PDAC. Die Tumorzellen haben den Nerv fast komplett umschlossen, jedoch durchdringen sie noch nicht das Perineurium. Hämatoxylin-Eosin-Färbung (H.E.-Färbung). Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Petrova.



**Abb. 4**

Darstellung einer perineuralen Invasion (PNI) bei PDAC. Die Tumorzellen erreichen das Perineurium, jedoch noch nicht das Endoneurium des Nervs. H.E.-Färbung. Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Petrova.



**Abb. 5**

Darstellung einer endoneuralen Invasion (ENI) bei PDAC. Die Tumorzellen sind bis in das Endoneurium vorgedrungen. H.E.-Färbung. Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Petrova.

Bei Karzinomen im Pankreas, Kopf- und Halsbereich, Kolon, Rektum und Prostata konnte die Präsenz von NI in Studien nachgewiesen werden (52). Dabei zeigte sich die Präsenz von NI bei Magenkarzinomen bei 60–75 % und bei Kolorektalen Karzinomen bei 33 % (33). Pankreaskarzinome zeigen dabei am häufigsten das Auftreten von NI aller gastrointestinaler Tumore, in einigen Studien konnte NI bei Pankreaskarzinomen mit einer Inzidenz bis zu 100 % nachgewiesen werden (52,65). Es wird vermutet, dass durch die frühzeitige Tumordinfiltration von Neuralscheiden eine schnelle Ausbreitung in das retroperitoneale Gewebe möglich ist (30,47,69). Die prognostische Bedeutung der NI beim Pankreaskarzinom wurde in einer Studie von Liebl et al. publiziert (53). Eine Invasion der Neuralscheiden ging dabei mit einer schlechteren Prognose einher (53,65).

Bisher besteht keine standardisierte Methode zur Bestimmung der NI sowie eine einheitliche Unterteilung der Schwere der NI in der Routinediagnostik (53).

Ceyhan et al. untersuchten in ihrer Studie an einem Kollektiv von 546 Patienten die Pankreasneuropathie und den neuropathischen Schmerz bei malignen Pankreastumoren und analysierten die NI (6).

Dabei zeigte sich von 149 Patienten mit der Diagnose Adenokarzinom eine Prävalenz der NI bei 79 % (6). Ceyhan et al. führten zur angemessenen Quantifizierung der verschiedenen Erscheinungsformen der NI ein neuartiges, standardisiertes Bewertungssystem ein. Bei der Bestimmung des Scores handelt es sich um eine empirische Methode (14).

Zunächst erfolgte eine Einteilung der Schwere der NI in nicht vorhanden/0, perineural/1 und intraneural/2. Die Häufigkeit der NI wurde untergegliedert in nicht vorhanden/0, gering/1, häufig/2 und übermäßig/3. Um den Ausprägungsgrad der NI der Tumorzellen bestimmen zu können, erfolgte eine Multiplikation der Schwere und der Häufigkeit der neuralen Invasion (6). Anschließend wurden die Patienten anhand des neuralen Invasionsscores in drei Gruppen unterteilt: keine neurale Invasion, NI 0 (0); geringe bis mittlere neurale Invasion, NI I (1–3); schwere neurale Invasion, NI II (4–6) (6). Dabei zeigte sich bei den Adenokarzinomen signifikant eine schwerere neurale Invasion im Gegensatz zu den anderen malignen Pankreastumoren (invasive IPMN, maligne neuroendokrine Tumore, Ampullarkarzinom) ( $p < 0.001$ ) (6).

Zusätzlich war eine signifikante Assoziation zwischen neuraler Dichte und neuraler Invasion bei den Adenokarzinomen nachweisbar ( $p < 0.005$ ). Ein Zusammenhang zwischen NI und Überleben konnte nicht belegt werden (6).

Der Score von Ceyhan et al. (6) zur Berechnung der NI weist hinsichtlich der Quantifizierung und Stratifizierung Kritikpunkte auf. Anhand des resultierenden Invasionsscores ist nicht zu eruieren, wie sich dieser zusammensetzt. Es werden dabei zwei unterschiedliche Werte miteinander multipliziert. Der Score kann schließlich aus verschiedenen Gründen den gleichen Zahlenwert aufweisen, zum Beispiel kann entweder die Häufigkeit dominierender Wert oder die Schwere der NI im Vordergrund stehen (6). Die Ergebnisse der Studie von Ceyhan et al. zeigen signifikante Werte hinsichtlich der neuralen Invasion und der neuralen Dichte, jedoch keine prognostischen Korrelationen (53).

Liebl et al. untersuchten in einer Studie mit 2050 Patienten mit gastrointestinalen Tumoren die Ausprägung und Bedeutung von NI für Prognose und Überleben (53). Bei den 132 Patienten mit Pankreaskarzinom zeigte sich eine Präsenz von NI bei 100 % (53).

Dabei konnte NI als ein unabhängiger prognostischer Faktor nachgewiesen werden (HR = 1.09, 95 % CI 1.04–1.15,  $p < 0.001$ ). Die mittlere Nachbeobachtungszeit aller 2050 Patienten lag bei 37 Monaten (Interquartilsabstand: 12.8–78.0 Monate). Patienten mit Pankreaskarzinom zeigten die niedrigste 5-JÜR mit  $19 \pm 3$  % (53). Liebl et al. demonstrierten einen quantitativen Ansatz, indem sie einen Score bildeten, in dem alle eingedrungenen Nerven, gewichtet nach der Tiefe der Invasion in das Epineurium, Perineurium oder Endoneurium, zusammengefasst werden. Damit zeigten sie, dass dieser Score eine prognostische Stratifizierung bei PDAC erlaubt (53).

Allerdings lag die durchschnittliche Anzahl bei acht Schnitten pro Patient. Durch die Verwendung unterschiedlicher Schnittanzahlen pro Patient, ist eine direkte Vergleichbarkeit zwischen den Patienten nicht gegeben. Bei Analyse mehrerer Schnitte pro Patient, resultiert dementsprechend ein höherer Score als bei der Bestimmung nur eines Schnittes pro Patient. Dies zeigt das Problem der Quantifizierung bei dem Score von Liebl et al. (53).

In einer Metaanalyse von Schorn et al. wurden 3538 Patienten mit der Diagnose PDAC von 23 Studien für die univariate Gesamtüberlebens Meta-Analyse und 6885 Patienten von 36 Studien für die multivariate Gesamtüberlebens Meta-Analyse eingeschlossen (65). In der univariaten Meta-Analyse zeigten 71.7 % (Median 64.2 %, Spannweite 43.2–91.9 %) und in der multivariaten Meta-Analyse 78.3 % (Median 76.2 %, Spannweite 47.8–91.9 %) eine NI (65). Die HR der univariaten (HR = 1.88, 95 % CI 1.71–2.07,  $p < 0.00001$ ) und multivariaten Meta-Analyse (HR = 1.68, 95 % CI 1.47–1.92,  $p < 0.00001$ ) zeigten einen großen Einfluss von NI auf das Gesamtüberleben (overall survival, OS). Ebenso war NI mit einem verminderten krankheitsfreien Überleben (disease-free survival, DFS) (HR = 2.53, 95 % CI 1.67–3.38,  $p = 0.0001$ ) und progressionsfreien Überleben (HR = 2.41, 95 % CI 1.73–3.37,  $p < 0.00001$ ) in der multivariaten Metaanalyse assoziiert (65). Die Präsenz der NI wies eine große Spannweite in der Meta-Analyse auf (65). Mögliche Erklärungen für diese Diskrepanz kann eine unterschiedlich verwendete Definition der NI und die verschiedenen Methoden zur Auswertung der NI sein.

Kayahara et al. untersuchten in ihrer Studie mit 30 Patienten mit Pankreaskopfkarcinom den Zusammenhang zwischen NI und Infiltration von Lymphknoten (43). Die histologischen Analysen ergaben, dass Tumorzellen hauptsächlich kontinuierlich entlang der Nervenbahnen wuchsen. Es zeigte sich eine kontinuierliche Ausbreitung zwischen den Tumorzellen innerhalb einiger Lymphknoten und den Tumorzellen im perineuralen Raum. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die NI ein Weg zur Lymphbeteiligung sein könnte (43).

Der Zusammenhang zwischen NI und TB wurde bisher nur in wenigen Studien untersucht (60). Die Studien von Karamitopoulou et al. und O'Connor et al. zeigten eine ausgeprägte Präsenz von NI (99.1 % bzw. 88 %) und TB (100 % bzw. 88 %) (40,60). Nur bei O'Connor et al. war eine signifikante Korrelation zwischen NI und TB nachweisbar ( $p = 0.0162$ ) (60).

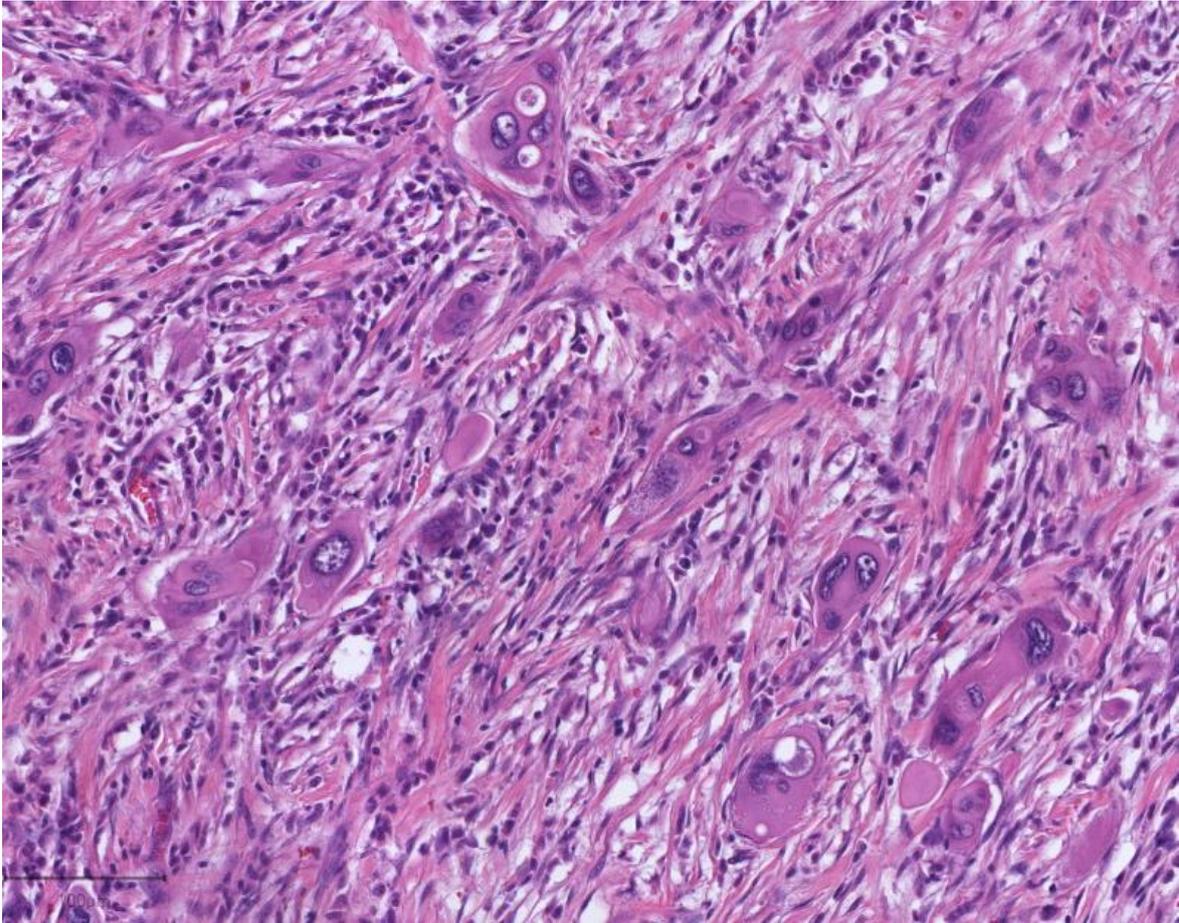
### 1.3.6 Tumor Budding

Ein Tumor Bud ist definiert als eine freistehende, isolierte, undifferenzierte Zellgruppe mit bis zu fünf Zellen. Unter TB versteht man den Prozess des Ablösens dieser Zellgruppen von dem Primärtumor. Die Tumor Buds befinden sich im Stroma des umliegenden Tumors, ohne direkten Kontakt zum Primärtumor zu haben (38). In Abb. 6 ist ein histologischer Ausschnitt von TB bei PDAC dargestellt.

Die Bedeutung von TB wird zunehmend wichtiger für die Charakterisierung bestimmter Karzinome. Insbesondere bei dem Kolonkarzinom ist auf Grundlage vieler Studien die Korrelation zwischen TB und Lymphknotenmetastasen sowie Überlebensrate bereits bestätigt und wird vermutlich in Zukunft einen Teil in der Diagnostik von Kolonkarzinomen einnehmen (23,44,56).

Das häufige Auftreten von TB bei Pankreaskarzinomen konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden (39,40,45,60).

Zur Beurteilung von TB bei PDAC liegt derzeit keine standardisierte Evaluierungsmethode vor (24). Insbesondere stellt sich die Frage, welcher Cut-off als prognostisch relevant zu bewerten ist und ob ein zwei- oder dreistufiges System zur Unterteilung des Schweregrads des TB verwendet werden soll (39,56).



**Abb. 6**

Darstellung eines histologischen Ausschnittes mit Tumor Budding bei PDAC. Es lassen sich Tumor Buds mit bis zu fünf Zellen erkennen. H.E-Färbung. Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Petrova.

Bei einem zweistufigen System erfolgt eine Gliederung in low-grade TB und high-grade TB (9,40,45,54,60). Chouat et al. und Lohneis et al. verwendeten diese Einteilung in ihren Studien mit einem Cut-off bei 10 buds/HPF für prognostische Stratifizierung des TB bei PDAC (9,54). Dabei bezeichneten sie es als high-grade TB, wenn  $\geq 10$  buds/HPF vorlagen. In der Studie von Chouat et al. war TB in allen PDAC Tumoren präsent, high-grade TB bei 50 % der Patienten (9). Lohneis et al. beobachteten TB bei 74 % der Patienten mit PDAC (54).

Karamitopoulou et al. und O'Connor et al. definierten high-grade TB bei einem Cut-off von 10 buds/10 HPF und errechneten anschließend den Durchschnitt der Tumor buds bei 10 HPF (40,60). Karamitopoulou et al. beobachteten TB bei allen 117 PDAC Fällen, high-grade TB wurde bei 70.3 % der Fälle gefunden (40).

O'Connor et al. konnten TB bei PDAC bei 88 % nachweisen, high-grade TB bei 71 % der Patienten (60). Auch Kohler et al. verwendeten ein zweistufiges System und definierten low-grade TB bei  $\leq 10$  buds/HPF und high-grade TB bei  $> 10$  buds/HPF (45). Kohler et al. wiesen in ihrer Studie high-grade TB bei PDAC bei 70 % der Patienten nach (45).

Karamitopoulou et al. verwendeten in ihrer Studie 2018 zur Bestimmung des TB bei PDAC anhand des standardisierten Scoring Systems der International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) ein dreistufiges System, welches zur Bestimmung von TB bei Kolonkarzinomen empfohlen wird (39,55,56). Es erfolgte eine Einteilung in low-grade TB (1–4 buds/HPF), intermediate-grade TB (5–9 buds/HPF) und high-grade TB ( $\geq 10$  buds/HPF) (39). In dieser Studie wurde das TB von zwei Untersuchern analysiert. TB war bei 97.3 % der Patienten nachweisbar, high-grade TB zeigte sich bei 54.5 % (Untersucher 1) bzw. bei 46.4 % der Patienten (Untersucher 2) (39).

Diese Studien belegen damit die auffallende Überrepräsentierung von TB bei PDAC (39,45,60).

Die genaue prognostische Bedeutung ist bislang nicht geklärt. In einigen Studien mit PDAC konnte TB als negativ prognostischer Faktor nachgewiesen werden. Ein hoher Grad an Tumor Buds korrelierte dabei mit einem niedrigen Grad an DFS und OS (54). Die genaue Pathogenese von TB ist derzeit nicht genau bekannt. Eine Erklärungstheorie ist die epitheliale-mesenchymale Transition (EMT) (38). Diese wird in Abschnitt 1.4 näher erläutert.

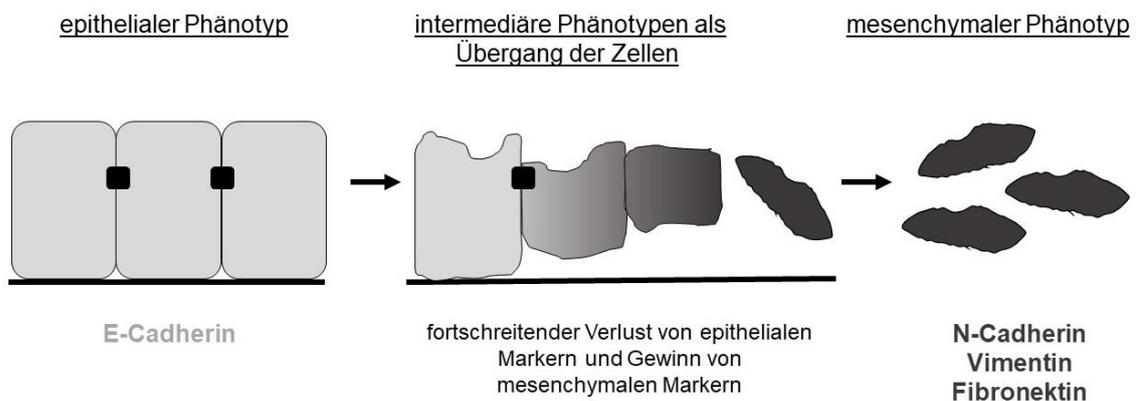
## 1.4 Epithelial-mesenchymale Transition

Bei der epithelial-mesenchymalen Transition (EMT) handelt es sich um einen mehrstufigen biologischen Prozess, bei dem sich Epithelzellen zu Mesenchymzellen umwandeln. Dabei können Epithelzellen ihre phänotypischen Eigenschaften verändern. Die Trigger für diese Umwandlung können Embryogenese, Gewebereparatur, pathologischer Stress, Entzündung und hochgradige Karzinome sein.

Die Umkehrung dieses Vorgangs wird als mesenchymal-epitheliale Transition (MET) bezeichnet (35).

EMT nimmt vermutlich eine wichtige Rolle in der Tumorgenese bei der Entstehung von TB ein (24,38). Die genaue Bedeutung und der Zusammenhang mit TB ist jedoch noch nicht genau geklärt. Es handelt sich bei der EMT derzeit um eine Theorie zur Erklärung des TB (37).

Epithelzellen besitzen einen apikalen und basalen Zellpol, sind fest untereinander verbunden und liegen einer Basalmembran auf. Dem gegenüber stehen die Mesenchymzellen. Diese weisen eine spindelförmige Formation auf, ihnen fehlen jedoch feste Zellverbindungen und sie liegen keiner Basalmembran auf (35). Die Umwandlung von Epithelzellen in Mesenchymzellen trägt daher vermutlich zur Invasion und Migration der Zellen bei (37). Abb. 7 zeigt eine schematische Darstellung dieses Prozesses mit Erläuterung der entsprechenden Biomarker. So exprimieren Epithelzellen im besonderen Maße den Biomarker E-Cadherin, wohingegen bei Mesenchymzellen die Biomarker N-Cadherin, Vimentin und Fibronektin vermehrt vorliegen (35).



**Abb. 7**

Darstellung des Prozesses der epithelialen-mesenchymalen Transition. Umwandlung polarisierter Epithelzellen in mobile Mesenchymzellen. Epithelzellen exprimieren als Biomarker insbesondere E-Cadherin. Mesenchymzellen weisen die Biomarker N-Cadherin, Vimentin und Fibronektin auf. Abb. in Anlehnung an (35).

Beim TB lösen sich einzelne Zellen oder Zellgruppen mit bis zu fünf Zellen (Tumor Buds) vom Haupttumor ab, indem sie vermutlich ihre Expression von E-Cadherin reduzieren und dadurch ihre Membranadhäsion verlieren (38). Währenddessen werden mesenchymale Biomarker wie N-Cadherin, Vimentin und Fibronectin hochreguliert (50).

Bei der MET handelt es sich um das umgekehrte Phänomen von EMT, welches als Ursache für die Metastasierung in Nachbarorgane diskutiert wird (19). Die ankommenden Zellen erlangen wieder ihre epithelialen Eigenschaften und stellen Kontakt zu Nachbarzellen her (35).

Die genaue Rolle von TB bei der EMT ist derzeit nicht bekannt. Auch der Zusammenhang zwischen NI und EMT wurde bisher in nur wenigen Studien untersucht. Eine erste Assoziation zwischen NI und EMT konnten Fujii-Nishimura et al. nachweisen (19). Es zeigte sich, dass die MET bei PDAC an perineuralen Invasionsstellen von Schwann Zellen induziert wird (19). Zudem veröffentlichten Karlsson et al. und Karamitopoulou et al. ein Erklärungsmodell über einen möglichen Zusammenhang zwischen Tumorzellen, EMT und Lymphknotenmetastasen (38,41).

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Studiendesign**

Die vorliegende Studie ist eine unizentrische, retrospektive explorative Datenanalyse.

### **2.2 Ethik**

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (AZ 17-118A).

### **2.3 Patientenkollektiv**

Das Patientenkollektiv umfasste Patienten mit der Diagnose PDAC, die in der Abteilung für Allgemein- und Viszeralchirurgie der Universitätsklinik zu Lübeck im Zeitraum von 1996 bis 2015 operiert wurden. Ausgeschlossen wurden Patienten mit postoperativer Mortalität, Patienten, die eine neoadjuvante Therapie erhielten, sowie Patienten mit Fernmetastasen.

### **2.4 Endpunkte**

Der primäre Endpunkt der Studie ist das mediane Gesamtüberleben des untersuchten Patientenkollektivs in Abhängigkeit von TB und NI. Zu den sekundären Endpunkten zählen die Korrelationen zwischen den untersuchten Parametern NI und TB und den Variablen Lymphknotenstatus, Lymphgefäßinvasion und Blutgefäßinvasion, Grading und adjuvanter Therapie.

## 2.5 Datenerhebung

### 2.5.1 Klinische Daten

Die folgenden klinischen Parameter wurden aus einer prospektiv geführten Datenbank der Klinik für Chirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck selektiert: Alter zum Zeitpunkt der Operation (Jahre), Geschlecht (männlich/weiblich), Operationsmethode (pyloruserhaltende Pankreaskopfresektion, Kausch-Whipple-Operation, totale Pankreatektomie, Pankreaslinksresektion), Zeit der letzten Nachuntersuchung nach der Operation (Monate), Vitalstatus zum Zeitpunkt der letzten Nachuntersuchung (lebend/tot) sowie adjuvante Therapie (ja/nein).

### 2.5.2 Histopathologische Parameter

Die nachstehenden histopathologischen Daten der Patienten wurden aus den Pathologie Berichten entnommen: Tumorgöße (cm), Anzahl Lymphknotenmetastasen, Anzahl resezierter Lymphknoten, Invasion angrenzender Strukturen und Fernmetastasen. Anhand dieser histopathologischen Parametern wurde die TNM-Klassifikation nach der 8. Ausgabe der UICC maligner Tumore erstellt (3). Die entsprechenden Stadien wurden anschließend zugeordnet (3).

Die 8. TNM-Klassifikation wurde im Dezember 2017 veröffentlicht und ist seit dem anzuwenden (3). Zuvor erfolgte die Einteilung maligner Tumore nach der 7. TNM-Klassifikation, die im Dezember 2009 publiziert wurde (61). Dies ist zu berücksichtigen bei dem Vergleich mit Studien zu PDAC, die in diesem Zeitraum durchgeführt wurden. Zusätzlich wurden die Lymphgefäßinvasion, die Blutgefäßinvasion, der R-Status und das Grading aus den Pathologie Berichten entnommen.

Für die weitere statistische Analyse erfolgte eine dichotome Gruppierung der folgenden histopathologischen Parameter. Das Grading wurde in G1/2 und G3/4 gruppiert, die Tumorgöße in T1/2 und T3/4 und die Lymphknotenmetastasen in N0 und N+. Bei dem R-Status erfolgte eine dichotome Gruppierung in R0 und R+. Dabei liegt R+ vor, wenn sich Tumorzellen am Resektionsrand befinden.

Zur Datenerhebung der NI und des TB wurden Hämatoxylin-Eosin-Gewebeschnitte (H.E.) aus der Routinediagnostik überprüft. Ein histologischer Schnitt aus der zentralen Tumorregion pro Patient wurde für die weitere Analyse durch einen erfahrenen Pathologen ausgewählt. Ein Untersucher (Autorin) analysierte jeden Gewebeschnitt, um die NI und das TB quantitativ zu charakterisieren.

### **Neuralscheideninfiltration**

Zur Bestimmung der NI wurde das gesamte Präparat unter Lichtmikroskopie bei 10-facher Vergrößerung manuell gescannt und die Anzahl der Nerven mit epineuraler Tumorassoziation (ENA), perineuraler Invasion (PNI) und endoneuraler Invasion (ENI), wie in Liebl et al. definiert, gezählt (53). Der neurale Invasionscore (NIS) nach Liebl et al. wurde wie folgt berechnet:

$$\text{NIS} = \text{N(ENA)} + 2 * \text{N(PNI)} + 3 * \text{N(ENI)}$$

wobei N ( ) die Anzahl der Nerven in jeder Kategorie bezeichnet (53). Darüber hinaus wurde jeder Patient in eine von vier Kategorien eingeteilt:

- Pn-0: keine perineurale Invasion
- Pn-ena: mindestens ein Nerv mit Tumorzellen in direkter Verbindung zum Epineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Perineurium oder Endoneurium
- Pn-pni: mindestens ein Nerv mit Invasion von Perineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Endoneurium
- Pn-eni: mindestens ein Nerv mit Invasion von Endoneurium.

Zusätzlich erfolgte eine dichotome Charakterisierung in Pn0 und Pn1. Pn1 ist definiert bei Vorhandensein eines Nervs mit mindestens epineuraler Tumorassoziation.

### **Tumor Budding**

Zur Beurteilung des TB wurden Hotspots am Rande des Tumors bei 10-facher Vergrößerung gesucht. An diesen Hotspots wurden drei HPF von 0.237 mm<sup>2</sup> bei 40-facher Vergrößerung zufällig ausgewählt und die Anzahl der Tumor Buds in jedem von ihnen gezählt. Die durchschnittliche Anzahl der Tumor Buds über den drei ausgewählten HPF wurde berechnet.

Diese Zahl wurde an den Cut-offs 0, 5 und 10 Buds dichotomisiert.

## 2.6 Auswertung und Statistik

Zur Datenverarbeitung und statistischen Datenanalyse wurde das Programm R Version 3.3.3. verwendet.

### **Deskriptive Statistik**

Die deskriptiven Statistiken wurden mit dem Median der kontinuierlichen Variablen und dem prozentualen Anteil der gesamten diskreten Parameter berechnet.

### **Univariable Analyse**

Das Überleben wurde mit Hilfe der Kaplan-Meier Methode geschätzt (80). Die Nachbeobachtungszeit wurde mittels der umgekehrten Kaplan-Meier Methode geschätzt. Die univariable Cox-Regressionsanalyse (80) diente zur Überlebensanalyse in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Tumorgröße (T), Lymphknotenstatus (N), Metastasen (M), UICC-Stadium, Blutgefäßinvasion, Lymphgefäßinvasion, neurale Invasion (Pn), NIS, adjuvante Therapie, Resektionsrand, Grading, Mittelwert der Tumor Buds und TB mit Cut-offs 0,5 und 10.

### **Multivariable Regression**

Es wurde eine multivariable, schrittweise Cox-Regressionsanalyse mit den Kovariablen UICC-Stadien, V, L, NIS, adjuvante Therapie, R-Status, Grading und TB > 5 buds/HPF durchgeführt.

### **Univariable lineare Regression**

Die univariable lineare Regression mit dem NIS als abhängige Variable wurde durchgeführt, um die Assoziation mit T, N, M, UICC-Stadium, L, V, mittlerer Tumor Buds Anzahl pro HPF und > 5 buds/HPF darzustellen. Ebenso wurde eine univariable logistische Regression mit den abhängigen variablen TB > 5 buds/HPF und den Kovariablen T, N, M, UICC-Stadium, L und V, Pn-Kategorien durchgeführt. Ein Konfidenzintervall von 95 % und ein Signifikanzniveau von 5 % wurden für alle Analysen festgelegt.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Charakteristika des Patientenkollektivs

Das in der endgültigen Analyse betrachtete Patientenkollektiv bestand aus  $n = 119$  Patienten. Die Patienten waren zum Zeitpunkt der Operation im Median 67 Jahre alt. Das Alter des jüngsten Patienten betrug 40 Jahre, der älteste Patient war 85 Jahre alt. Unter den Patienten befanden sich 57 (47.9 %) Frauen und 62 (52.1 %) Männer. Es erhielten 80 (67.2 %) Patienten eine adjuvante Therapie.

Bei dem Patientenkollektiv kamen vier Operationsmethoden zum Einsatz. 65 (54.6 %) Patienten erhielten eine pyloruserhaltende Duodenopankreatektomie, 35 (29.4 %) Patienten eine Kausch-Whipple-Operation, 10 (8.4 %) Patienten eine totale Pankreatektomie und 9 (7.6 %) Patienten eine Pankreaslinksresektion.

### 3.2 Histopathologische Parameter

Alle Pathologieberichte enthielten die Informationen des jeweiligen Tumors mit Lage und Tumorgröße, Tumorgrad, Anzahl der resezierten Lymphknoten, Anzahl der befallenen Lymphknoten und Bericht über den mikroskopischen Status der Resektionsränder.

Bei 87 (73.1 %) Patienten lagen die Stadien T1/2 vor, bei 32 (26.9 %) Patienten die Stadien T3/4. Eine Lymphknoteninvasion (N+) war bei 80 (67.2 %) Patienten vorzufinden. Das UICC Stadium I lag bei 32 (26.9 %) Patienten vor, Stadium II bei 59 (49.6 %) Patienten und Stadium III zeigte sich bei 28 (22.5 %) Patienten. Beim Grading wiesen 72 (60.5 %) Patienten G1/2 auf, 47 (39.5 %) Patienten G3/4. Ein negativer Tumorresektionsrand (R0) lag bei 81 (68.1 %) Patienten vor. Eine Lymphgefäßinvasion erwies sich bei 75 (63 %) Patienten, eine Blutgefäßinvasion bei 34 (28.6 %) Patienten.

Der NIS lag bei 17 (Spannweite von 0–95). Eine neurale Invasion (Pn1) wurde bei 114 (95.8 %) Patienten festgestellt. Hierbei lag bei 9 (7.6 %) Patienten die Kategorie Pn-ena vor, bei 63 (52.9 %) Patienten die Kategorie Pn-pni und bei 42 (35.3 %) Patienten die Kategorie Pn-eni.

Bei 5 (4.2 %) Patienten konnte keine neurale Invasion (Pn0) nachgewiesen werden. TB konnte bei 101 (84.9 %) Patienten nachgewiesen werden. Der Median der Tumor buds/HPF war 2.7. Bei einem Cut-off bei 5 buds/HPF konnten 36 (30.3 %) Patienten in die Kategorie > 5 buds/HPF eingeteilt werden. Bei einem Cut-off bei 10 buds/HPF konnten 11 (9.2 %) Patienten der Kategorie > 10 buds/HPF zugeteilt werden. Die deskriptive Statistik und Überlebensanalyse ist in Tab. 5 dargestellt.

### 3.3 Fehlende Daten

Für das Patientenkollektiv  $n = 119$  konnten alle erforderlichen Daten erhoben werden.

### 3.4 Univariable Analyse

In der univariablen Analyse gab es einen signifikanten positiven Zusammenhang zwischen Lymphknotenmetastasen N+ und Tumor Buds > 5 buds/HPF (Odds Ratio (OR) 1.2,  $p = 0.042$ ). Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen TB und den Parametern Pn-ena (OR 1.59,  $p = 0.068$ ), Pn-pni (OR 1.06,  $p = 0.799$ ), Pn-eni (OR 1.12,  $p = 0.611$ ) und NIS (OR 1,  $p = 0.197$ ). Dies ist in Tab. 6 dargestellt. Darüber hinaus gab es keine weiteren signifikanten Ergebnisse.

### 3.5 Überlebensanalyse

Die geschätzte mediane Nachbeobachtungszeit aller Patienten betrug 34 Monate (95 % CI 31–53 Monate). Bei der letzten Nachuntersuchung waren 83 (69.7 %) Patienten verstorben. Das geschätzte mediane Gesamtüberleben betrug 22 Monate (95 % CI 18–26 Monate) [Abb. 8].

Die univariable Cox-Regressionsanalyse [Tab. 5] zeigte bei Lymphknotenmetastasen N+ (HR = 1.78, 95 % CI 1.09–2.91, p = 0.02) [Abb. 9], niedriger Differenzierungsgrad G3/4 (HR = 2.09, 95 % CI 1.35–3.24, p = 0.001) [Abb. 10], Lymphgefäßinvasion L1 (HR = 2.35, 95 % CI 1.44–3.86, p = 0.001) [Abb. 11], Blutgefäßinvasion V1 (HR = 1.66, 95 % CI 1.05–2.62, p = 0.031) [Abb. 12] und TB > 5 buds/HPF (HR = 1.66, 95 % CI 1.06–2.61, p = 0.027) [Abb. 13] einen signifikanten negativen prognostischen Einfluss auf die Überlebenswahrscheinlichkeit. Das geschätzte mediane Überleben lag bei TB > 5 buds/HPF bei 17 Monaten (95 % CI 13–22 Monate).

In der univariablen Cox-Regressionsanalyse war das Auftreten von TB (HR = 1.68, 95 % CI 0.87–3.27, p = 0.124), der Mittelwert Anzahl buds/HPF (HR = 1.03, 95 % CI 0.99–1.07, p = 0.147) und TB > 10 buds/HPF (HR = 1.73, 95 % CI 0.88–3.39, p = 0.107) nicht signifikant.

Bei der Präsenz von TB lag das geschätzte mediane Überleben bei 19 Monaten (95 % CI 16–25 Monate) und bei TB > 10 buds/HPF bei 20 Monaten (95 % CI 3–24 Monate).

Es wurde kein signifikanter prognostischer Wert für Pn1 (HR = 1.99, 95 % CI 0.62–6.38, p = 0.249) und die Pn-Kategorien Pn-ena (HR = 1.7, 95 % CI 0.44–6.62, p = 0.444), Pn-pni (HR = 1.9, 95 % CI 0.58–6.21, p = 0.289), Pn-eni (HR = 2.26, 95 % CI 0.68–7.54, p = 0.184) oder NIS (HR = 1, 95 % CI 0.99–1.01, p = 0.695) gefunden.

Das geschätzte mediane Überleben war bei Pn1 21.9 Monate (95 % CI 17.8–25.1 Monate), Pn-ena 24 Monate (95 % CI 4–nicht verfügbar (NA) Monate), Pn-pni 22 Monate (95 % CI 15–26 Monate) und Pn-eni 18 Monate (95 % CI 14–27 Monate).

Im multivariablen Cox-Regressionsmodell [Tab. 5] zeigten sich die Lymphgefäßinvasion L1, das TB > 5 buds/HPF und die adjuvante Therapie als unabhängige prognostische Faktoren. Dabei waren die Lymphgefäßinvasion L1 (HR = 2.43, 95 % CI 1.47–4.03, p = 0.001) und das TB > 5 buds/HPF (HR = 1.7, 95 % CI 1.07–2.7, p = 0.026) signifikante negative prognostische Faktoren, die adjuvante Therapie (HR = 0.54, 95 % CI 0.33–0.86, p = 0.009) war ein positiver prognostischer Faktor.

**Tabelle 5: Deskriptive Statistik und Überlebensanalyse**

Parameter	n (% von Gesamt)/ Median (Spannweite)	Geschätztes medianes Überleben [Monate] (95 % CI)	Univariable Cox Regression		Multivariable Cox Regression	
			HR (95 % CI)	p-Wert	HR (95 % CI)	p-Wert
<b>Alter [Jahre]</b>	67 (40–85)		1.02 (0.99–1.05)	0.104	NI	
<b>Geschlecht</b>					NI	
<b>Weiblich</b>	57 (47.9)	19 (17–26)				
<b>Männlich</b>	62 (52.1)	22 (15–28)	0.9 (0.58–1.41)	0.65		
<b>T</b>					NI	
<b>T1/2</b>	87 (73.1)	19 (17–24)				
<b>T3/4</b>	32 (26.9)	26 (15–32)	0.8 (0.48–1.34)	0.392		
<b>N</b>					NI	
<b>N0</b>	39 (32.8)	29 (18–42)				
<b>N+</b>	80 (67.2)	19 (15–22)	1.78 (1.09–2.91)	0.02		
<b>Stadium</b>					EX	
<b>I</b>	32 (26.9)	29 (18–42)				
<b>II</b>	59 (49.6)	19 (14–22)	1.93 (1.12–3.32)	0.017		
<b>III</b>	28 (22.5)	23 (7–37)	1.64 (0.84–3.22)	0.15		
<b>Grade</b>					EX	
<b>G1/2</b>	72 (60.5)	26 (22–29)				
<b>G3/4</b>	47 (39.5)	15 (10–18)	2.09 (1.35–3.24)	0.001		
<b>R</b>					EX	
<b>R0</b>	81 (68.1)	22 (18–27)				
<b>R+</b>	38 (31.9)	18 (10–25)	1.25 (0.77–2.01)	0.37		
<b>L</b>						
<b>L0</b>	44 (37.0)	29 (23–42)				
<b>L1</b>	75 (63.0)	18 (14–22)	2.35 (1.44–3.86)	0.001	2.43 (1.47–4.03)	0.001
<b>V</b>					EX	
<b>V0</b>	85 (71.4)	23 (19–28)				
<b>V1</b>	34 (28.6)	15 (6–23)	1.66 (1.05–2.62)	0.031		
<b>Adjuvante Therapie</b>						
<b>nein</b>	39 (32.8)	15 (11–22)				
<b>ja</b>	80 (67.2)	24 (18–28)	0.67 (0.43–1.06)	0.087	0.54 (0.33–0.86)	0.009

Parameter	n (% von Gesamt)/ Median (Spann- weite)	Geschätztes medianes Überleben [Monate] (95 % CI)	Univariable Cox Regression		Multivariable Cox Regression	
			HR (95 % CI)	p-Wert	HR (95 % CI)	p-Wert
<b>NIS</b>	17 (0–95)		1 (0.99–1.01)	0.695	NI	
<b>Pn- Kategorien</b>					EX	
<b>Pn0</b>	5 (4.2)	32 (3–NA)				
<b>Pn1</b>	114 (95.8)	21.9 (17.8–25.1)	1.99 (0.62–6.38)	0.249		
<b>Pn-ena</b>	9 (7.6)	24 (4–NA)	1.7 (0.44–6.62)	0.444		
<b>Pn-pni</b>	63 (52.9)	22 (15–26)	1.9 (0.58–6.21)	0.289		
<b>Pn-eni</b>	42 (35.3)	18 (14–27)	2.26 (0.68–7.54)	0.184		
<b>Budding</b>					NI	
<b>nein</b>	18 (15.1)	29 (12–NA)				
<b>ja</b>	101 (84.9)	19 (16–25)	1.68 (0.87–3.27)	0.124		
<b>Mittelwert Anzahl buds/HPF</b>	2.7 (0–23)		1.03 (0.99–1.07)	0.147	NI	
<b>Budding 5/HPF</b>						
<b>≤ 5/HPF</b>	83 (69.7)	26 (19–29)				
<b>&gt; 5/HPF</b>	36 (30.3)	17 (13–22)	1.66 (1.06–2.61)	0.027	1.7 (1.07–2.7)	0.026
<b>Budding 10/HPF</b>						
<b>≤ 10/HPF</b>	108 (90.8)	22 (17–27)			NI	
<b>&gt; 10/HPF</b>	11 (9.2)	20 (3–24)	1.73 (0.88–3.39)	0.107		
<b>Gesamt</b>	119 (100)	22 (18–26)				

**Tab. 5**

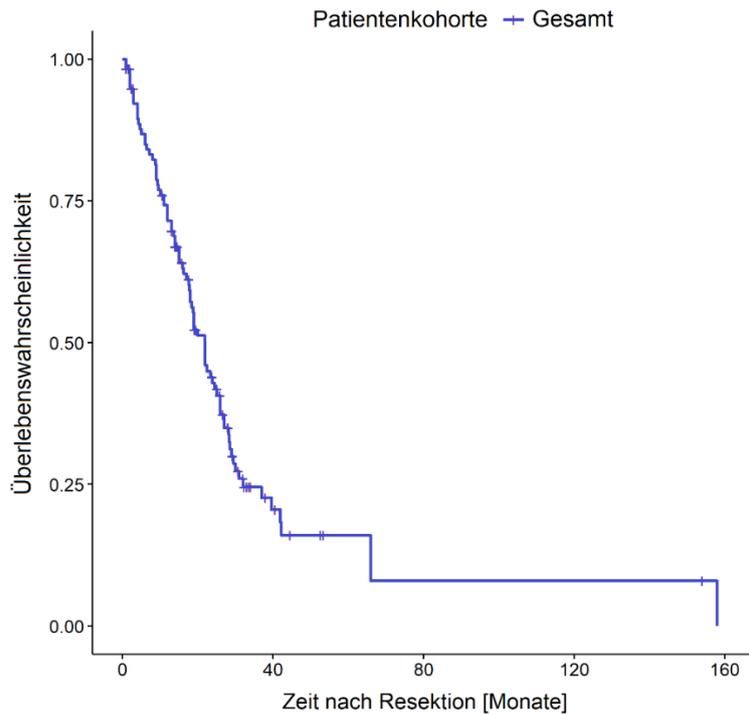
Deskriptive Statistik und Überlebensanalyse. CI - Confidence interval, EX - Excluded, HPF - High Power Field, HR - Hazard Ratio, L - Lymphgefäßinvasion, n - Anzahl Patienten, N - Status der Lymphknotenmetastasen, NA - Not available, NI - Not included, NIS - Neuraler Invasionscore, OR - Odds Ratio, Pn0 – Keine neurale Invasion, Pn1 - Mindestens ein Nerv mit Eindringen von Tumorzellen in das Epineurium, Pn-ena - Mindestens ein Nerv mit Tumorzellen in direkter Verbindung zum Epineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Perineurium oder Endoneurium, Pn-eni - Mindestens ein Nerv mit Invasion von Endoneurium, Pn-pni - Mindestens ein Nerv mit Invasion von Perineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Endoneurium, R+ - Positiver Resektionsrand, R-Status - Status des Residualtumors, T - Tumorgröße, UICC - Union internationale contre le cancer, V1 - Blutgefäßinvasion. Quelle eigene Anfertigung.

**Tabelle 6: Univariable lineare und logistische Regression**

Kovariablen	Lineare Regression NIS		Logistische Regression > 5 buds/HPF	
	Coef (95 % CI)	p-Wert	OR (95 % CI)	p-Wert
<b>T3/4</b>	3.89 (-3.58–11.36)	0.31	1.01 (0.84–1.22)	0.887
<b>N+</b>	-1.46 (-8.54–5.62)	0.687	1.2 (1.01–1.43)	0.042
<b>L1</b>	6.3 (-0.5–13.09)	0.072	1.05 (0.88–1.25)	0.592
<b>V1</b>	4.21 (-3.12–11.53)	0.263	1.17 (0.97–1.4)	0.103
<b>Grade G3/4</b>	2.75 (-4.04–9.54)	0.429	1.1 (0.93–1.31)	0.26
<b>R+</b>	4.39 (-2.7–11.48)	0.227	0.87 (0.73–1.04)	0.137
<b>UICC Stadium II</b>	0.46 (-7.52–8.45)	0.91	1.18 (0.97–1.44)	0.098
<b>UICC Stadium III</b>	2.89 (-6.53–12.3)	0.549	1.14 (0.91–1.44)	0.262
<b>&gt; 5 buds/HPF</b>	-4.76 (-11.95–2.43)	0.197		
<b>Mittelwert Anzahl buds/HPF</b>	-0.53 (-1.25–0.19)	0.149		
<b>Pn-ena</b>			1.59 (0.97–2.62)	0.068
<b>Pn-pni</b>			1.06 (0.7–1.6)	0.799
<b>Pn-eni</b>			1.12 (0.73–1.7)	0.611
<b>NIS</b>			1 (0.99–1)	0.197

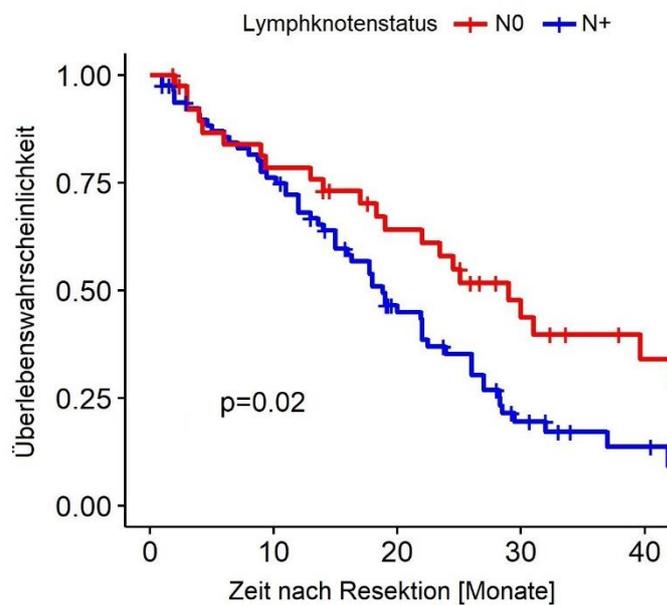
**Tab. 6**

Univariable lineare und logistische Regression. CI - Confidence interval, Coef – Koeffizient, HPF - High Power Field, L1 - Lymphgefäßinvasion, N+ - Invasion der Lymphknoten, NIS – Neuraler Invasionscore, OR - Odds Ratio, Pn-ena - Mindestens ein Nerv mit Tumorzellen in direkter Verbindung zum Epineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Perineurium oder Endoneurium, Pn-eni – Mindestens ein Nerv mit Invasion von Endoneurium, Pn-pni - Mindestens ein Nerv mit Invasion von Perineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Endoneurium, R+ - Positiver Resektionsrand, T3/4 - Tumor Stadien 3/4, UICC - Union internationale contre le cancer, V1 - Blutgefäßinvasion. Quelle eigene Anfertigung.



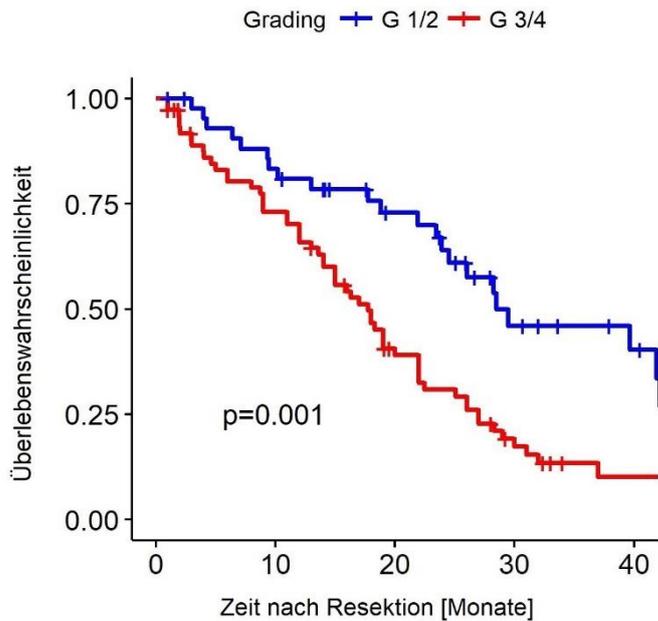
**Abb. 8**

Kaplan-Meier Kurve: Gesamtüberleben in Monaten nach Resektion in Bezug zur Überlebenswahrscheinlichkeit. Das geschätzte mediane Gesamtüberleben beträgt 22 Monate (95 % CI 18–26 Monate). Quelle eigene Anfertigung.



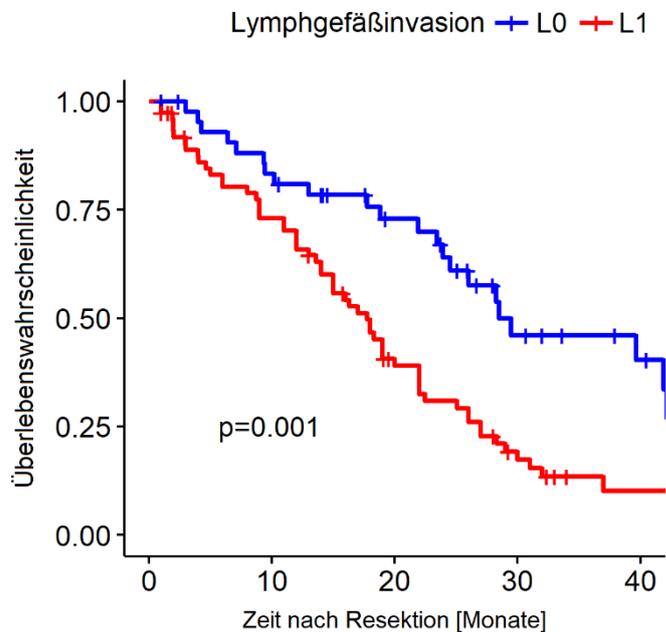
**Abb. 9**

Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit von dem Lymphknotenstatus. Die univariable Cox-Regressionsanalyse zeigt einen negativ prognostischen Einfluss der Lymphknotenmetastasen N+ (HR = 1.78, 95 % CI 1.09–2.91,  $p = 0.02$ ) auf die Überlebenswahrscheinlichkeit. Das geschätzte mediane Überleben bei positiven Lymphknotenstatus liegt bei 19 Monaten (95 % CI 15–22 Monate). Quelle eigene Anfertigung.



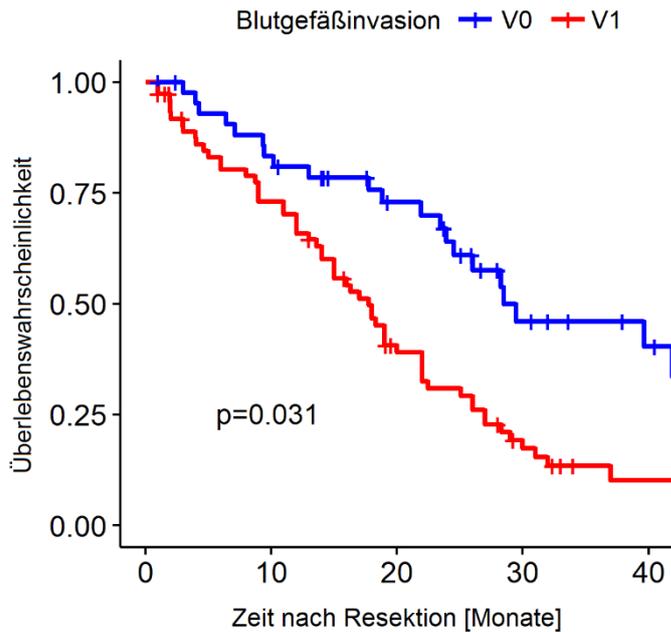
**Abb. 10**

Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit vom Grading. Die univariable Cox-Regressionsanalyse zeigt eine negativ prognostische Bedeutung bei höherem Grading G3/4 (HR = 2.09, 95 % CI 1.35–3.24, p = 0.001) auf die Überlebenschance. Das geschätzte mediane Überleben bei G3/4 befindet sich bei 15 Monaten (95 % CI 10–18 Monate). Quelle eigene Anfertigung.



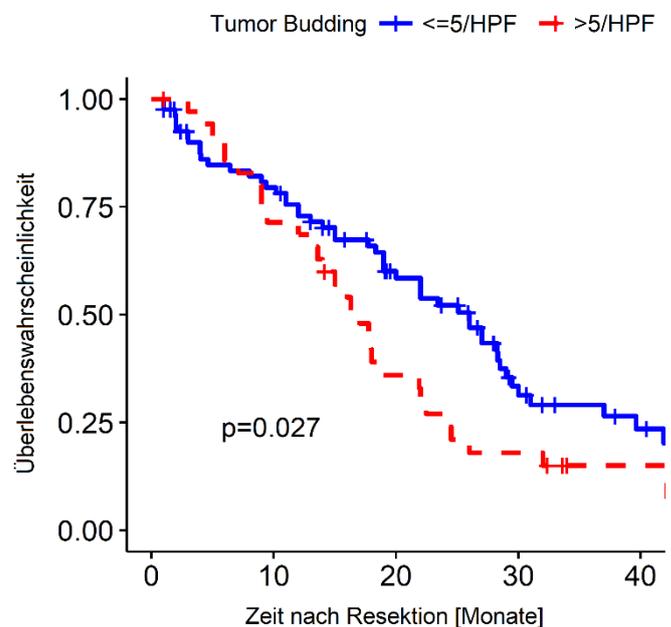
**Abb. 11**

Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit von der Lymphgefäßinvasion. Die univariable Cox-Regressionsanalyse zeigt einen negativ prognostischen Einfluss der Lymphgefäßinvasion L1 (HR = 2.35, 95 % CI 1.44–3.86, p = 0.001) auf die Überlebenschance. Das geschätzte mediane Überleben bei Lymphgefäßinvasion L1 liegt bei 18 Monaten (95 % CI 14–22 Monate). Quelle eigene Anfertigung.



**Abb. 12**

Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit von der Blutgefäßinvasion. Die univariable Cox-Regressionsanalyse zeigt für die Blutgefäßinvasion V1 einen negativ prognostischen Wert (HR = 1.66, 95 % CI 1.05–2.62,  $p = 0.031$ ) für die Überlebenswahrscheinlichkeit. Das geschätzte mediane Überleben bei Invasion der venösen Gefäße liegt bei 15 Monaten (95 % CI 6–23 Monate). Quelle eigene Anfertigung.



**Abb. 13**

Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit von Tumor Budding mit Cut-off 5. Die univariable Cox-Regressionsanalyse belegt eine negativ prognostische Wirkung des TB bei  $> 5$  buds/HPF (HR = 1.66, 95 % CI 1.06–2.61,  $p = 0.027$ ) für die Überlebenswahrscheinlichkeit. Das geschätzte mediane Überleben beträgt beim TB  $> 5$  buds/HPF 17 Monate (95 % CI 13–22 Monate). Quelle eigene Anfertigung.

## 4 Diskussion

TB und NI sind im Vergleich zu anderen tumorassoziierten Parametern, wie Lymph- oder Blutgefäßinfiltration, beim PDAC deutlich überrepräsentiert (40,53). Dies lässt eine Assoziation mit dem invasiven Wachstumsverhalten von Pankreaskarzinomen vermuten (37,38). Aufgrund des ubiquitären Vorkommens von TB und NI ist deren prognostische Bedeutung in der klassischen Betrachtung als dichotome Parameter in PDAC nicht zu eruieren. Außerdem ist eine Korrelation zwischen TB und NI anzunehmen (60).

Die vorliegende Arbeit untersucht den Zusammenhang zwischen TB und NI und deren prognostischen Bedeutung bei PDAC. Im Rahmen der Diskussion werden die Inhalte und Ergebnisse der vorgelegten Studie exemplarisch mit Studien zu einer ähnlichen Fragestellung verglichen und analysiert. Der Vergleich der vorgelegten Studie zu früheren Studien wird bezüglich der Parameter TB und NI getrennt erörtert, da bisherige Studien zumeist nur einen der beiden Faktoren analysiert haben. Abschließend wird das Verhältnis zwischen TB und NI untereinander dargelegt.

### 4.1 Tumor Budding

Die vorliegende Studie trägt weitere Evidenz zum Verständnis der prognostischen Bedeutung von TB beim PDAC bei. In der vorgelegten Studie konnte TB bei 84.9 % der Patienten nachgewiesen werden und bestätigt damit die Vermutung über die hochgradige Prävalenz von TB bei PDAC. Dies konnte bereits in vorherigen Studien über TB bei PDAC aufgezeigt werden (9,40,54,60). Chouat et al. und Karamitopoulou et al. konnten TB bei PDAC bei 100 % der Patienten nachweisen, O'Connor et al. bei 88 % der Patienten und Lohneis et al. bei 74 % der Patienten mit PDAC (9,40,54,60).

Im folgenden Abschnitt möchte ich die vorgelegte Studie mit fünf Studien aus den Jahren 2013 bis 2018 vergleichen, die TB bei PDAC analysierten (39,40,45,54,60). Diese zeigten eine ausgeprägte Präsenz von TB bei PDAC, verwendeten jedoch verschiedene Methoden zur Analyse und lieferten unterschiedliche Ergebnisse hinsichtlich der Bedeutung von TB und dessen Korrelation mit anderen histopathologischen Parametern (39,40,45,54,60).

Daher ist die Bedeutung von TB und die Methodik zur Beurteilung des TB bei PDAC bisher nicht sicher belegt.

### **Heterogenität der Methodik**

Eine Einteilung des TB kann nach verschiedenen Methoden erfolgen.

Zum einen kann das TB als dichotome Variable festgelegt werden, bei der zwischen TB ja/nein unterschieden wird. Diese Einteilung erfolgte bei O'Connor et al., bei denen die Anwesenheit von TB signifikant mit einer schlechteren Prognose für das Gesamtüberleben assoziiert war ( $p = 0.0003$ ) (60). Auch in der multivariablen Analyse dieser Studie korrelierte die Präsenz von TB signifikant mit einem geringeren Gesamtüberleben (Risk Ratio = 1.95, 95 % CI 1.03–4.08,  $p = 0.0393$ ) (60). Andere Studien konnten jedoch nachweisen, dass zusätzlich der Schweregrad des TB mit der Prognose sowie mit anderen histopathologischen Parametern korreliert, sodass die Einteilung des TB als dichotome Variable als nicht ausreichend zu bewerten ist (39,40,54).

Zum anderen kann TB als kontinuierliche Variable bestimmt werden, bei der der Mittelwert buds/HPF berechnet wird. Diese Methode wurde in der Studie von Lohnes et al. angewendet, in der die Anzahl an Tumor buds/10 HPF berechnet wurde (54). Dabei war eine steigende Anzahl an Tumor buds ein signifikanter prognostischer Faktor für DFS (HR = 1.06, 95 % CI 1.02–1.09,  $p = 0.001$ ) und OS (HR = 1.05, 95 % CI 1.02–1.09,  $p = 0.002$ ) (54). Ein Nachteil dieser Einteilung ist, dass durch Ausreißer Werte bei Einschluss von 10 HPF pro Patient, der Mittelwert verzerrt sein kann. Daher ist die Aussagekraft des Mittelwertes bei dieser Methode als eingeschränkt zu bewerten. Bei Analyse des TB als kontinuierliche Variable handelt es sich außerdem um eine sehr zeitaufwendige Methode.

Darüber hinaus zeigten einige Studien, dass eine Dichotomisierung mit einem Cut-off sinnvoller und praktikabler für die Analyse des TB sein könnte (40,45,54,60). Hinter dieser Methode steht die Theorie, dass ab einem bestimmten Cut-off Wert des TB, eine weitere Erhöhung keine zusätzliche Relevanz hinsichtlich der Prognose bedeutet.

Beim Kolorektalen Karzinom konnte diese Vermutung bereits nachgewiesen werden (79). Dabei war in der Studie von Hester C. et al. mit 952 Patienten high-grade TB mit Cut-off  $\geq 10$  buds/HPF mit einem reduzierten Tumor spezifischem Überleben assoziiert (HR = 8.68, 95% CI 6.30–11.97,  $p < 0.001$ ) (79). Die Ergebnisse dieser Studien verdeutlichen, dass die Notwendigkeit einer Dichotomisierung in high-grade und low-grade TB besteht.

In der vorgelegten Studie wurde für die Unterteilung des Schweregrades des TB ein zweistufiges System verwendet, welches auch Karamitopoulou et al. (2013), O'Connor et al., Kohler et al. und Lohneis et al. in ihren Studien über PDAC verwendeten (40,45,54,60).

Dabei ist die Frage, welcher Cut-off von prognostischer Bedeutung ist, bislang nicht geklärt. In der vorgelegten Studie wurde der Cut-off 10 buds/HPF analysiert. Aufgrund des kleineren Untersuchungsareals bei einer 40-fachen Vergrößerung im Vergleich zu Studien mit einer 20-fachen Vergrößerung, wurde zusätzlich auch der Cut-off 5 buds/HPF analysiert. Hierbei zeigte der Cut-off 5 buds/HPF eine bessere Segregation und war ein unabhängiger prognostischer Faktor (HR = 1.7, 95 % CI 1.07–2.7,  $p = 0.026$ ). In der aktuellen Studie war der Cut-off 10 buds/HPF nicht signifikant (HR = 1.73, 95 % CI 0.88–3.39,  $p = 0.107$ ).

Karamitopoulou et al. (2013), Kohler et al., Lohneis et al. und O'Connor et al. verwendeten in ihren Studien den Cut-off 10 buds/HPF (40,45,54,60). Bei Karamitopoulou et al. (2013) korrelierte high-grade TB negativ mit OS ( $p < 0.0001$ ) und DFI ( $p = 0.0005$ ) (40). Auch Lohneis et al. belegten einen signifikanten Unterschied zwischen high-grade und low-grade TB für das Gesamtüberleben ( $p = 0.001$ ) (54). In der Studie von O'Connor et al. war die Präsenz von TB signifikant mit einem schlechteren krankheitsbezogenem Überleben assoziiert ( $p = 0.0003$ ), wohingegen kein signifikanter Unterschied zwischen high-grade und low-grade TB nachweisbar war ( $p = 0.302$ ) (60). Kohler et al. konnten lediglich einen nicht signifikanten Trend zwischen high-grade TB und Langzeitüberleben aufzeigen ( $p = 0.073$ ) (45).

Ein mögliche Ursache für den nicht signifikanten Unterschied zwischen high-grade und low-grade TB bei O'Connor et al. und Kohler et al. kann das abweichende Patientenkollektiv der Studien sein (45,60).

Bei O'Connor et al. wurden Patienten mit Fernmetastasen aus dem Untersuchungskollektiv ausgeschlossen (60). Bei Kohler et al. konnte bei drei Patienten Fernmetastasen nachgewiesen werden (45). Demgegenüber hatten in der Studie von Karamitopoulou et al. (2013) 10 Patienten Fernmetastasen und bei Lohneis et al. 38 Patienten (40,54).

Karamitopoulou et al. orientierten sich in ihrer Studie 2018 bei der Untersuchungsmethode an der Empfehlung der ITBCC, die 2016 ein standardisiertes dreistufiges System für TB bei Kolonkarzinomen veröffentlichten (39,56). Es erfolgte eine Unterteilung in low-grade TB (1-4 buds/HPF), intermediate-grade TB (5-9 buds/HPF) und high-grade TB ( $\geq 10$  buds/HPF) (39). High-grade TB war mit kürzerem OS (HR = 3.234, 95 % CI 1.95–5.37,  $p < 0.0001$ ) und DFS (HR = 1.974, 95 % CI 1.15–3.39,  $p = 0.0135$ ) assoziiert (39).

Bisherige Studien bei PDAC konnten allerdings nachweisen, dass ein zweistufiges System für die prognostische Stratifizierung von PDAC gültig ist. (9,40,45,49,54,60). Somit liefert die aktuelle Studie zusätzliche Evidenz zu diesem Thema.

Eine Sonderstellung nimmt die vorgelegte Studie hinsichtlich der Wahl des Cut-offs bei 5 buds/HPF gegenüber den früheren Studien ein, da diese einen Cut-off bei 10 buds/HPF verwendeten (40,45,54,60). Mögliche Erklärungen für die abweichenden Ergebnisse der genannten Studien sind die unterschiedlich gewählten Untersuchungsflächen sowie eine unterschiedliche Anzahl an untersuchten HPF in der Analyse.

Die in der aktuellen Studie verwendete Methode beinhaltet die Bestimmung des TB bei 40-facher Vergrößerung über eine Untersuchungsfläche von 0.237 mm<sup>2</sup>. Auch Karamitopoulou et al. (2013) verwendeten in ihrer Studie eine 40-fache Vergrößerung, allerdings über eine Fläche von 0.49 mm<sup>2</sup>, ebenfalls wie O'Connor et al. (40,60). Kohler et al. analysierten das TB auch bei einer 40-fachen Vergrößerung, die genaue Fläche wurde jedoch nicht angegeben (45).

Lohneis et al. bestimmten das TB mit zwei Methoden, zum einen bei einer 40-fachen Vergrößerung über eine Fläche von 0.238 mm<sup>2</sup> und bei einer 20-fachen Vergrößerung über 0.785 mm<sup>2</sup> (54).

Auch Karamitopoulou et al. (2018) untersuchten das TB unter Verwendung einer 20-fachen Vergrößerung über eine Fläche von 0.785 mm<sup>2</sup> (39). Der Vergleich der zitierten Studien zeigt deutlich, dass trotz gleicher Wahl der Vergrößerung, unterschiedlich große Flächen zur Beurteilung des TB vorliegen und dies den Vergleich der Ergebnisse der Arbeiten einschränkt.

Bei Verwendung einer 40-fachen Vergrößerung ergibt sich eine kleinere, zu beurteilende Fläche und dadurch eine genauere Analyse des TB im Vergleich zu einer 20-fachen Vergrößerung, weshalb in der vorgelegten Studie eine 40-fache Vergrößerung angewendet wurde.

Allerdings erhält der Untersucher bei Verwendung einer 40-fachen Vergrößerung eine geringere Übersicht über die Ausprägung des TB. Dieser Vergleich der Studien zeigt deutlich, dass eine einheitliche Methodik zur Bestimmung des TB dringend erforderlich ist.

Zudem hebt sich die vorgelegte Studie mit der Wahl von drei HPF zur Bestimmung des TB von den früheren Studien ab. Karamitopoulou et al. (2013) verwendeten in ihrer Studie für die Analyse jeweils 10 HPF pro Patient, ebenso wie O'Connor et al. (40,60). Lohneis et al. untersuchten das TB anhand von zwei verschiedenen Methoden und bewerteten diese getrennt voneinander (54). Einerseits verwendeten sie bei einer 20-fachen Vergrößerung jeweils ein HPF pro Patient, bei 40-facher Vergrößerung wurde das TB an 10 HPF pro Patient analysiert (54). Kohler et al. untersuchten das TB an 12 HPF, jeweils peripher und zentral, sodass insgesamt 24 HPF pro Patient für die Bestimmung des TB verwendet wurden (45). In der Studie von Karamitopoulou et al. (2018) wurde hingegen ein HPF pro Patient untersucht (39). Das Ziel ist es, die Anzahl an benötigten HPF pro Patient zu identifizieren, die den Schweregrad des TB bei PDAC widerspiegeln.

Das signifikante Ergebnis in der aktuellen Studie, über die prognostische Bedeutung von TB mit Cut-off 5 buds/HPF, zeigt, dass die Verwendung von drei HPF bei einer 40-fachen Vergrößerung und ein Cut-off von 5 buds/HPF eine geeignete Methode zur Bestimmung des TB ist.

Ein weiterer Unterschied in der Methodik findet sich in der verwendeten Schnittfärbung zur Bestimmung des TB. In der aktuellen Studie wurden H.E. gefärbte Schnitte zur Analyse des TB verwendet.

Diese Färbung wurde auch bei O'Connor et al., Lohneis et al. und Karamitopoulou et al. (2018) angewendet (39,54,60). Im Gegensatz dazu untersuchten Karamitopoulou et al. (2013) und Kohler et al. das TB anhand von Pan-Zytokeratin gefärbten Schnitten (40,45).

Chouat et al. und Fujii-Nishimura et al. wiesen in ihren Studien eine höhere Präsenz von TB bei Bestimmung von Pan-Zytokeratin gefärbten Schnitten im Vergleich zu H.E. gefärbten Schnitten nach (9,19). Allerdings sind H.E.-Färbungen Teil der Routinediagnostik, sodass in der vorgelegten Studie diese Färbemethode zur Analyse des TB verwendet wurde (81). Zudem empfiehlt die ITBCC bei Bestimmung des TB bei Kolonkarzinomen ebenfalls die H.E.-Färbung (56).

Diese Differenz der Präsenz von TB zwischen H.E.- und Pan-Zytokeratin-Färbungen konnte zwischen der aktuellen Studie und den hier diskutierten Studien nicht bestätigt werden (39,40,54,60). Die Präsenz von TB lag in der vorgelegten Studie bei 84.9 %, bei O'Connor et al. bei 88 %, bei Lohneis et al. bei 73.9 % und bei Karamitopoulou et al. (2018) bei 97.3 %, welche alle H.E. gefärbte Schnitte zur Analyse verwendeten (39,54,60). In der Arbeit von Karamitopoulou et al. (2013) verwendeten sie Pan-Zytokeratin-Färbungen und wiesen TB bei 100 % nach (40). Kohler et al. publizierten in ihrer Studie lediglich die Präsenz von high-TB, das mit 77 % angegeben wurde (45).

In der vorgelegten Untersuchung wurde das TB anhand eines Untersuchers (Autorin) analysiert. Auch in der Studie von O'Connor et al. erfolgte die Analyse von einem Untersucher, bei Bedarf wurde ein zweiter Untersucher hinzugezogen (60). Hingegen erfolgte die Auswertung des TB bei Karamitopoulou et al. (2013), Karamitopoulou et al. (2018), Kohler et al. und Lohneis et al. durch zwei Untersucher, um die Unabhängigkeit der Untersuchungsmethode vom Betrachter beurteilen zu können (39,40,45,54). In der aktuellen Studie erfolgte die Bestimmung des TB durch einen Untersucher (Autorin).

Die Auswertung der TNM-Klassifikation erfolgte in der vorgelegten Studie nach der 8. Ausgabe der UICC (3). Mit Ausnahme von Karamitopoulou et al. publiziert 2018, welche die 7. und 8. TNM-Klassifikation der UICC verwendeten (39), gebrauchten die anderen Studien die 7. TNM-Klassifikation der UICC (39,40,45,54,60).

Dies ist darauf zurückzuführen, da die 8. TNM-Klassifikation erst 2017 veröffentlicht wurde (3). Unterschiede zwischen der 7. und 8. TNM-Klassifikation finden sich bei der Einteilung der Tumorgröße und den Lymphknotenmetastasen (3,61).

T2 liegt in der 8. TNM-Klassifikation vor, wenn der Tumor über 2 cm und kleiner gleich 4 cm in seiner größten Ausdehnung ist (3). In der 7. TNM-Klassifikation ist T2 definiert bei einer Tumorgröße über 2 cm begrenzt auf das Pankreas, eine maximale Tumorgröße ist nicht angegeben (61). In der 8. TNM-Klassifikation liegt T3 vor, wenn der Tumor in seiner größten Ausdehnung 4 cm überschreitet (3). Bei der 7. TNM-Klassifikation ist T3 definiert, wenn der Tumor über das Pankreas hinaus gewachsen ist, ohne den Truncus coeliacus oder die A. mesenterica superior zu infiltrieren (61).

Dies zeigt, dass bei der 8. TNM-Klassifikation bei der Einteilung des T2 und T3 Stadiums insbesondere der Tumorgröße in Zentimeter mehr Bedeutung zu kommt (3,13). Im Gegensatz dazu entscheidet in der 7. TNM-Klassifikation die Involvierung in die Nachbarstrukturen über die Definition von T2 und T3 Stadium (13,61). Durch die verschiedenen Definitionen von T2 und T3 in der 7. und 8. TNM-Klassifikation, ergeben sich daher Unterschiede in der dichotomen Gruppierung der T-Stadien in T1/2 und T3/4, welche in der statistischen Auswertung von Bedeutung ist (3,61).

Die aktuelle Studie ergab eine Verteilung der T-Stadien von 73.1 % mit T1/2 und 26.9 % mit T3/4. Bei Karamitopoulou et al. (2013) zeigte sich eine Verteilung der T-Stadien von T1/2 mit 9.6 % und T3/4 mit 91.4 %, bei Lohneis et al. lag T1/2 bei 11.56 % und T3/4 bei 88.44 % der Patienten vor (40,54). Auch bei O'Connor et al. erhielt die Mehrheit der Patienten die Diagnose eines T3/4 Stadiums (92.71 %), ebenso wie bei Kohler et al. (89.82 %) (45,60). Karamitopoulou et al. (2018) gaben die genaue Verteilung der T-Stadien in ihrer Studie nicht an (39).

Bei diesen Studien erhielt die deutliche Mehrheit der Patienten ein T3/4 Stadium (40,45,54,60), im Gegensatz zu der aktuellen Studie, bei der die Mehrzahl der Patienten ein T1/2 Stadium aufwies.

Diese deutliche Abweichung zwischen den dargelegten Studien und der aktuellen Arbeit ist möglicherweise auf unterschiedliche TNM-Klassifikationen zurückzuführen (3,61). Diese Unterschiede sind bei der Analyse der Korrelation zwischen TB und pT und Vergleich der Ergebnisse mit früheren Studien zu berücksichtigen.

Bei den Lymphknotenmetastasen wird in der 8. TNM-Klassifikation zwischen der genauen Anzahl der infiltrierten regionären Lymphknoten unterschieden und es erfolgt eine Unterteilung in N0 (keine positiven Lymphknoten), N1 (1-3 positive Lymphknoten) und N2 ( $\geq 4$  positive Lymphknoten) (3). Die Anzahl an positiven Lymphknoten ist einer der wichtigsten prognostischen Faktoren bei operablen Patienten, sodass anhand der 8. TNM-Klassifikation eine genauere Auswertung der Lymphknoten als in der 7. TNM-Klassifikation erfolgt (13). In der 7. TNM-Klassifikation erfolgte hingegen keine Unterteilung nach der Anzahl an positiven Lymphknoten, N1 war definiert bei Präsenz von positiven Lymphknoten (61). Diese Änderung in der Beurteilung von Lymphknotenmetastasen nimmt bei dem Vergleich mit früheren Studien eine untergeordnete Rolle ein, da die hier diskutierten Studien sowie auch die aktuelle Studie nur zwischen N0 und N+ unterscheiden (39,40,45,54,60).

Die dargelegten verschiedenen Methoden bisheriger Studien zur Beurteilung des TB zeigen, dass eine standardisierte Methode in Zukunft erforderlich ist, um eine Vergleichbarkeit der Studien zu erreichen.

Die vorgelegte Methode bietet eine gute Reproduzierbarkeit bei der Bestimmung des TB und ermöglicht eine Verwendung in der Routinediagnostik. Dies wird durch Verwendung einer 40-fachen Vergrößerung und drei HPF pro Patient sowie die Analyse von H.E.-Färbungen ermöglicht. Durch Bildung eines Mittelwertes der Tumor buds wird die Streuung verkleinert.

### **Unterschiede der Patientenkollektive**

In der vorgelegten Studie wurden Patienten mit Fernmetastasen ausgeschlossen. Ebenfalls erfolgte ein Ausschluss dieser Patientengruppe bei O'Connor et al. (60). Aufgrund des Ausschlusses von Patienten mit Fernmetastasen, sind die Ergebnisse der vorgelegten Studie sowie von O'Connor et al. nur für kurativ resezierte Karzinome geltend (60).

Bei den anderen Studien wurden Patienten mit Fernmetastasen eingeschlossen: Karamitopoulou et al. 2013 (n = 10), Kohler et al. (n = 3), Lohneis et al. (n = 38) und Karamitopoulou et al. 2018 (n = 10) (39,40,45,54). Zudem wurden Patienten, die eine neoadjuvante Therapie erhielten, in der vorgelegten sowie in nahezu allen anderen Studien ausgeschlossen (39,40,45,60).

Eine Ausnahme war dabei die Studie von Lohneis et al., die keine Angabe zu neoadjuvanter Therapie bei ihrem Patientenkollektiv machten (54).

Die genannten Studien zeigen eine ähnliche Patientenzahl, sodass diesbezüglich eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegeben ist.

### **Parameter, die mit Tumor Budding korrelieren**

Im folgenden Abschnitt wird die Korrelation zwischen TB und Prognose sowie histopathologischen Parametern bei der aktuellen und den früheren Studien diskutiert.

### **Prognose**

In der vorgelegten Studie zeigte sich TB mit einem Cut-off  $> 5$  buds/HPF als signifikanter negativer prognostischer Faktor in der univariablen ( $p = 0.027$ ) sowie in der multivariablen ( $p = 0.026$ ) Überlebensanalyse. Die negativ prognostische Bedeutung von high-grade TB konnte auch in den Studien von Karamitopoulou et al. 2013 (OS:  $p < 0.001$ , DFI:  $p = 0.0005$ ) (40) und 2018 (OS:  $p < 0.0001$ , DFS:  $p = 0.0135$ ) nachgewiesen werden (39). Die Arbeit von Karamitopoulou et al. zeigte high-grade TB als unabhängiger prognostischer Faktor für OS und DFS, sowohl bei Anwendung der 7. TNM-Klassifikation (OS: HR = 2.795, 95 % CI 1.71–4.57,  $p < 0.0001$ ), (DFS: HR = 1.643, 95 % CI 0.95–2.86,  $p = 0.0786$ ) als auch bei Verwendung der 8. TNM-Klassifikation (OS: HR = 2.298, 95 % CI 1.32–.99,  $p = 0.0031$ ), (DFS: HR = 1.713, 95 % CI 1.01–2.91,  $p = 0.0458$ ) (39).

Auch bei O'Connor et al. war TB mit einer schlechteren Prognose assoziiert ( $p = 0.0003$ ) (60). Bei Lohneis et al. korrelierte eine hohe Anzahl an Tumor buds in beiden verwendeten Methoden mit einem kürzeren OS (A:  $p < 0.001$ , B:  $p = 0.002$ ) und DFS (A:  $p < 0.001$ , B:  $p = 0.001$ ) (54). Nur bei Kohler et al. stellte sich high-grade TB als nicht signifikanter Trend zum Langzeitüberleben dar ( $p = 0.073$ ) (45). Ein Grund für diese Diskrepanz zu den anderen Studien kann die höhere Anzahl an untersuchten HPF sein. Kohler et al. verwendeten insgesamt 24 HPF pro Patient und schlossen dabei periphere sowie zentrale Tumoreale mit ein. Durch diese hohe Anzahl an verwendeten HPF kann es zu einer höheren Streuung in der statistischen Auswertung kommen (45).

## **Lymphknotenmetastasen**

In der aktuellen Studie zeigte sich in der univariablen Analyse eine signifikante positive Korrelation zwischen TB mit > 5 buds/HPF und Lymphknotenmetastasen (OR: 1.2,  $p = 0.042$ ), sodass diese Studie eine Sonderstellung einnimmt.

Bei Karamitopoulou et al. zeigte sich in den Studien 2013 sowie 2018 keine Assoziation zwischen TB und Lymphknotenmetastasen ( $p = 0.6033$  /  $p = 0.6217$ ), ebenso wie bei Lohneis et al. ( $p = 0.951$ ) (39,40,54). In der Studie von O'Connor et al. stellte sich lediglich ein nicht signifikanter Trend zwischen TB und Lymphknotenmetastasen dar ( $p = 0.074$ ) (60). Bei Kohler et al. wurde eine Assoziation zwischen TB und Lymphknotenmetastasen nicht untersucht (45). Die OR zwischen TB und Lymphknotenmetastasen wurden bei den anderen Studien nicht angegeben (39,40,45,54,60).

Die vorgelegte Studie belegt damit einen Zusammenhang zwischen TB > 5 buds/HPF und Lymphknotenmetastasen. Ein Grund für die unterschiedlichen Resultate kann der verwendete Cut-off > 5 buds/HPF sein, der lediglich in der aktuellen Studie verwendet wurde.

In der vorgelegten Studie liegt die absolute Häufigkeit von Lymphknotenmetastasen bei 80 Patienten (relative Häufigkeit: 67.2 %). Bei Karamitopoulou et al. (2013) und Karamitopoulou et al. (2018) wurde bei 94 Patienten Lymphknotenmetastasen diagnostiziert (relative Häufigkeit: 81.7 %), bei O'Connor et al. 149 Patienten (relative Häufigkeit: 77.6 %), bei Kohler et al. 78 Patienten (relative Häufigkeit: 72.2 %) und bei Lohneis et al. 131 Patienten (relative Häufigkeit: 75.7 %) (39,40,45,54,60). Die genannten Studien weisen ähnliche relative Häufigkeiten von Lymphknotenmetastasen auf. In der vorgelegten Studie ist diese mit 67.2 % etwas geringer als bei den anderen Studien (39,40,45,54,60).

## **Grading**

Eine Korrelation zwischen TB > 5 buds/HPF und Grading konnte in der vorgelegten Studie nicht bestätigt werden ( $p = 0.26$ ). Im Gegensatz dazu wiesen O'Connor et al. und Lohneis et al. eine signifikante Assoziation zwischen TB und Grading nach ( $p < 0.0001$ ;  $p < 0.001$ ) (54,60). Auch in der Studie von Karamitopoulou et al. (2018) war high-grade TB mit einem höheren Grading assoziiert ( $p = 0.002$ ) (39). Lediglich ein nicht signifikanter Trend zwischen TB und Grading zeigte sich in der Studie von Karamitopoulou et al. 2013 ( $p = 0.0687$ ) (40).

Bei Kohler et al. wurde der Zusammenhang zwischen TB und Grading nicht angegeben (45).

In der aktuellen Studie zeigte sich ein höheres Grading 3/4 bei 47 Patienten (relative Häufigkeit: 39.5 %), bei Karamitopoulou et al. (2013 und 2018) G3 bei 46 Patienten (relative Häufigkeit: 39.3 %), bei Lohneis et al. G3 bei 74 Patienten (relative Häufigkeit: 42.7 %) und bei O'Connor et al. G3 bei 62 Patienten (relative Häufigkeit: 32.3 %) (39,40,54,60). Aufgrund der nur geringen Abweichungen der relativen Häufigkeiten bei dem höheren Grading zwischen den Studien, ist eine Vergleichbarkeit dieser hinsichtlich des Gradings gegeben (39,40,54,60).

Eine Möglichkeit für die fehlende Korrelation zwischen TB und Grading in der aktuellen Studie kann die Wahl des Cut-offs bei 5 buds/HPF sein, da in den Studien von Karamitopoulou et al. (2013 und 2018), Lohneis et al. und O'Connor et al. der Cut-off bei 10 buds/HPF festgelegt wurde (39,40,54,60).

### **Lymphgefäßinvasion**

In der aktuellen Studie zeigte sich keine Korrelation zwischen > 5 buds/HPF und L1 ( $p = 0.592$ ). Auch bei Karamitopoulou et al. (2018) war eine Korrelation nicht signifikant ( $p = 0.0913$ ) (39).

Im Gegensatz dazu war in der Studie von Karamitopoulou et al. (2013) high-grade TB signifikant assoziiert mit L1 ( $p = 0.0192$ ) (40). Auch bei O'Connor et al. korrelierte TB signifikant mit L1 ( $p = 0.0017$ ) (60). Bei Kohler et al. und Lohneis et al. wurde die Korrelation zwischen TB und L1 nicht untersucht (45,54).

In der vorgelegten Studie konnte L1 bei 75 Patienten diagnostiziert werden (relative Häufigkeit: 63 %), bei Karamitopoulou et al. (2013) bei 93 Patienten (relative Häufigkeit: 80.9 %) und bei O'Connor et al. bei 107 Patienten (relative Häufigkeit: 55.7 %) (40,60). Die relativen Häufigkeiten der Lymphgefäßinvasion unterscheiden sich bei den drei verglichenen Studien, allerdings zeigt sich eine signifikante Korrelation zwischen TB und L1 sowohl bei einer relativen Häufigkeit von 55.7 % bei O'Connor et al. ( $p = 0.0017$ ) als auch bei einer relativen Häufigkeit von 80.9 % bei Karamitopoulou et al. ( $p = 0.0192$ ) (40,60).

Dies zeigt, dass die relative Häufigkeit der Lymphgefäßinvasion keine signifikante Auswirkung auf die Korrelation zum TB hat.

Eine mögliche Ursache für die fehlende Korrelation in der aktuellen Studie kann die Wahl des Cut-offs bei 5 buds/HPF im Gegensatz zu dem Cut-off bei 10 buds/HPF sein, welcher in den Studien von Karamitopoulou et al. (2013) und O'Connor et al. gewählt wurde (40,60).

### **Tumorgröße**

Die aktuelle Studie zeigte keine signifikante Korrelation zwischen TB > 5 buds/HPF und T3/4 ( $p = 0.887$ ). Ähnliche Ergebnisse lieferten die Studien von O'Connor et al. ( $p = 0.259$ ), Lohneis et al. ( $p = 0.476$ ) und Karamitopoulou et al. (2018) ( $p = 0.5607$ ) (39,54,60). Im Gegensatz dazu publizierten Karamitopoulou et al. (2013) eine signifikante Assoziation zwischen high-grade TB und fortgeschrittenem pT ( $p = 0.0463$ ) (40). Kohler et al. untersuchten die Korrelation zwischen TB und pT nicht (45).

Eine mögliche Ursache für die abweichenden Ergebnisse zwischen der aktuellen Studie und der Studie von Karamitopoulou et al. (2018) könnte daher rühren, dass in der Studie von Karamitopoulou et al. eine hohe relative Häufigkeit an Patienten mit fortgeschrittenem pT vorliegt ( $n = 104, 91.4 \%$ ) (39).

### **R-Status**

In der aktuellen Studie war keine signifikante Korrelation zwischen TB > 5 buds/HPF und R-Status nachweisbar ( $p = 0.137$ ). Zu dem gleichen Resultat kamen auch Karamitopoulou et al. (2013) ( $p = 0.4818$ ) und O'Connor et al. ( $p = 0.654$ ) (40,60). Karamitopoulou et al. (2018), Kohler et al. und Lohneis et al. untersuchten in ihren Studien den Zusammenhang dieser Parameter nicht (39,45,54). Diese Ergebnisse bisheriger Studien deuten darauf hin, dass es beim PDAC keinen signifikanten Zusammenhang zwischen R-Status und TB gibt (40,60).

### **Unterschiede der Ergebnisse**

Zusammenfassend lassen sich die folgenden Unterschiede in den Ergebnissen der genannten Studien darlegen. TB war in der aktuellen Studie signifikant als unabhängiger prognostischer Faktor nachweisbar. Diese Korrelation publizierten vier von fünf der verglichenen Studien (39,40,54,60). Eine signifikante Korrelation zwischen TB und Lymphknotenmetastasen wurde nur in der aktuellen Studie belegt.

Eine Korrelation zwischen TB und Grading war in der vorgelegten Studie nicht nachweisbar, bei drei von fünf Studien zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen diesen beiden Parametern (39,54,60). Bei zwei von fünf untersuchten Studien war eine signifikante Korrelation zwischen TB und L1 nachweisbar (40,60). Dies konnte in der aktuellen Studie nicht bestätigt werden. Eine signifikante Korrelation zwischen TB und pT war nur in einer von fünf Studien nachweisbar (40), wobei die aktuelle Arbeit dies nicht belegen konnte.

Tab. 7 gibt einen Überblick über die Patientenkollektive der diskutierten Studien. Zusätzlich werden die verschiedenen Methoden zur Auswertung des TB beim PDAC der früheren Studien mit der vorgelegten Studie verglichen und die Unterschiede differenziert dargestellt. Herangezogene Parameter zum Vergleich der Methoden sind: Anzahl der Patienten, Anwendung einer neoadjuvanten Therapie, TNM-Klassifikation, Ausschluss von Patienten mit Fernmetastasen, Schnitt Färbung, Anzahl der Untersucher, Wahl der Vergrößerung, Anzahl HPF und Cut-offs sowie die Unterteilung des Schweregrads beim TB.

**Tabelle 7: Vergleich der Patientenkollektive, Methodik und Ergebnisse mit früheren Studien**

	<b>Aktuelle Studie</b>	<b>Karamitopoulou et al. 2013 (40)</b>	<b>O'Connor et al. 2015 (60)</b>	<b>Kohler et al. 2015 (45)</b>	<b>Lohneis et al. 2018 (54)</b>	<b>Karamitopoulou et al. 2018 (39)</b>
<b>Zeitraum Operierte Patienten</b>	1996–2015	2000–2010	1998–2013	2001–2011	1998–2004	2001–2010
<b>n Gesamt</b>	119	117	192	108	A) 173 B) 162	117
<b>Tumorentität</b>	PDAC	PDAC	PDAC	PDAC	PDAC	PDAC
<b>Pat. mit neoadjuvanter Therapie</b>	EX	EX	EX	EX	n. a.	EX
<b>TNM-Klassifikation</b>	8.	7.	7.	7.	7.	7. und 8.
<b>Pat. mit pM, n mit pM</b>	EX	IN n = 10	EX	IN n = 3	IN n = 38	IN n = 10
<b>Schnitt Färbung</b>	H.E.	Pan-Zytokeratin	H.E.	Pan-Zytokeratin	H.E.	H.E.
<b>Anzahl Untersucher</b>	1	2	1, bei Bedarf 2	2	2	2
<b>Vergrößerung/ Fläche</b>	40x / 0.237 mm <sup>2</sup>	40x / 0.49 mm <sup>2</sup>	40x / 0.49 mm <sup>2</sup>	40x / n. a.	A) 20x / 0.785 mm <sup>2</sup> B) 40x / 0.238 mm <sup>2</sup>	20x / 0.785 mm <sup>2</sup>
<b>HPF</b>	3	10	10	Je 12 peripher und zentral, gesamt 24	A) 1 B) 10	1
<b>Cut-Offs</b>	A) 5 B) 10	10	10	10	A) 10 B) kontin. Variable	5 und 10
<b>Unterteilung Schweregrad TB</b>	A) ≤ 5 buds/ HPF & > 5 buds/ HPF	0-10 buds/ 10 HPF → low-grade > 10 buds/ 10 HPF → high-grade	≤ 10 buds/ 10 HPF → low-grade > 10 buds/ 10 HPF → high-grade	≤ 10 buds/ HPF → low- grade > 10 buds/ HPF → high-grade	A) 0-9 buds/ HPF → low- grade ≥ 10 buds/ HPF → high-grade	1-4 buds/ HPF → low- grade 5-9 buds/ HPF → interme- diate-grade

	Aktuelle Studie	Karamitopoulou et al. 2013 (40)	O'Connor et al. 2015 (60)	Kohler et al. 2015 (45)	Lohneis et al. 2018 (54)	Karamitopoulou et al. 2018 (39)
	B) ≤ 10 buds/ HPF & > 10 buds/ HPF				B) Anzahl buds/10 HPF	≥ 10 buds/ HPF → high-grade
<b>TB (%)</b>	84.9	100	88	n. a.	73.9	97.3
<b>High-grade TB (%)</b>	A) 30.3 B) 9.2	70.3	71	70	A) 32.9	Unters. 1/2: 54.5 / 46.4
<b>Low-grade TB (%)</b>	A) 69.7 B) 90.8	29.7	17	n. a.	A) 41	Unters. 1/2: 16.4 / 21.8
<b>Geschätztes medianes Überleben [Monate]</b>	22 (18–26)	12.6 (0–36)	n. a.	20 (14–26)	Low-grade TB: 26.7 High-grade TB: 12.3	13 (0–36)
<b>Korrelation TB mit weiteren Parametern</b>	> 5 buds/ HPF negativ prognos- tischer Faktor in univariabler (p = 0.027) und multiva- riabler (p = 0.026) Analyse  > 5 buds/ HPF korreliert positiv mit N+ (OR 1.2, p = 0.042)	High-grade TB ungünstig auf OS (p < 0.0001) und DFI (p = 0.0005)  High-grade TB assoziiert mit fortge- schrittenem pT (p = 0.0463) und L1 (p = 0.0192)	TB assoziiert mit schlech- terer Prognose (p = 0.0003) höherem Grading (p < 0.0001) L1 (p = 0.0017) und PNI (p = 0.0162)	High-grade TB nicht signifikanter Trend zu Langzeit Überleben (p = 0.073)	Hohe Anzahl an buds assoziiert mit kürzerem DFS und OS. Positive Korrelation zwischen TB und Grading (p < 0.001) A) OS (HR = 1.04, 95 % CI 1.02–1.06, p < 0.001) DFS (HR = 1.04, 95 % CI 1.02–1.06, p < 0.001)	High-grade TB assoziiert mit kürzerem OS (HR = 3.234 95 % CI 1.95–5.37, p < 0.0001), DFS (HR = 1.974 95 % CI 1.15–3.39, p = 0.0135), und höherem Grading (p = 0.002)

	Aktuelle Studie	Karamitopoulou et al. 2013 (40)	O'Connor et al. 2015 (60)	Kohler et al. 2015 (45)	Lohneis et al. 2018 (54)	Karamitopoulou et al. 2018 (39)
					B) OS (HR = 1.05, 95 % CI 1.02–1.09, p = 0.002) DFS (HR = 1.06, 95 % CI 1.02–1.09, p = 0.001)	
<b>TB als unabhängiger prognostischer Faktor</b>	> 5 buds/ HPF p = 0.026	p < 0.0001	p = 0.0393	NS p = 0.073	OS: A) p < 0.001 B) p = 0.002	High-grade TB, OS: p < 0.0001

**Tab. 7**

Vergleich der Patientenkollektive, Methodik und Ergebnisse der vorgelegten Studie mit früheren Studien zu Tumor Budding bei PDAC. Bd - Buds, CI - Confidence interval, DFI - Disease free interval, DFS - Disease free survival, EX - Excluded, H.E. - Hämatoxylin-Eosin, HPF - High Power Field, HR - Hazard Ratio, IN - Included, kontin. - Kontinuierlich, L1 - Lymphgefäßinvasion, n - Anzahl Patienten, n. a. - Nicht angegeben, NS - Nicht signifikant, OR - Odds Ratio, OS - Overall survival, Pat. - Patient, pM - Histopathologischer Status Fernmetastasen, PNI - Perineurale Invasion, pT – Histopathologische Größe des Primärtumors, TB - Tumor Budding, TNM - Tumor/Lymphknoten/ Metastasen, Unters. - Untersucher. Quelle eigene Anfertigung.

### Interpretation der Ergebnisse

Die vorgelegte Studie weist nach, dass TB mit > 5 buds/HPF ein signifikant negativer prognostischer Faktor in der univariablen (p = 0.027) sowie in der multivariablen (p = 0.026) Analyse ist. Zudem zeigt sich eine signifikante positive Korrelation zwischen TB > 5 buds/HPF und Lymphknotenmetastasen (p = 0.042). Dies bestätigt die Validität von TB als ein histopathologisches Merkmal von Tumorinvasivität und Metastasierung.

Mit diesen Ergebnissen der Studie kann TB als prognostischer Faktor bei PDAC sowie die Korrelation zwischen TB und Lymphknotenmetastasen bestätigt werden.

Der signifikante Zusammenhang zwischen TB und Lymphknotenmetastasen bei PDAC konnte bisher in keiner Studie belegt werden, sodass die vorgelegte Studie eine Sonderstellung einnimmt. Zudem bestätigt sie bisherige Studien hinsichtlich der negativ prognostischen Bedeutung von TB (39,40,54,60).

Die Ergebnisse der vorgelegten Studie sind plausibel, da bereits andere Studien zum Beispiel beim Kolorektalen-, Magen- und Mammakarzinom, dem ösophagealen Adenokarzinom sowie kutanen und oralen Plattenepithelkarzinomen einen Zusammenhang zwischen TB und Lymphknotenmetastasen nachweisen konnten (1,12,20,25,48,51).

TB ist bereits beim Kolorektalen Karzinom im Frühstadium als ein unabhängiger prognostischer Faktor für Lymphknotenmetastasen bekannt (56). Diesen Zusammenhang belegten auch Deb et al. in ihrer Studie mit 80 Patienten mit Kolorektalem Karzinom ( $p < 0.001$ ) (12). Liang et al. konnten in ihrer Arbeit mit 160 Patienten mit Mammakarzinom ebenfalls eine signifikante Assoziation zwischen TB und Lymphknotenmetastasen belegen ( $p = 0.05$ ) (51). Gulluoglu et al. zeigten in ihrer Studie mit 126 Patienten mit Magenkarzinom im Frühstadium einen signifikanten Zusammenhang zwischen TB und Lymphknotenmetastasen ( $p < 0.0001$ ) (25). High-grade TB ist ebenfalls bei oberflächlichen ösophagealen Adenokarzinomen signifikant mit einer höheren Prävalenz an Lymphknotenmetastasen assoziiert (48). Dies belegten Landau et al. in ihrer Arbeit mit 210 Patienten mit ösophagealen Adenokarzinomen im Frühstadium ( $p < 0.001$ ) (48). In der Studie von Fujimoto et al. mit 159 Patienten war TB ein unabhängiger Risikofaktor für Lymphknotenmetastasen beim kutanen Plattenepithelkarzinom ( $p < 0.0001$ ) (20).

Diese Erkenntnisse bisheriger Studien bestätigt in der aktuellen Arbeit die Wahl des Cut-offs bei 5 buds/HPF, die Verwendung von drei HPF an einem Hotspot und die Anwendung einer 40-fachen Vergrößerung als valide Methode zur Bestimmung des TB bei PDAC und verdeutlicht die Sonderstellung der vorgelegten Studie.

Es wird vermutet, dass TB der histologische Ausdruck der EMT ist (24). Die gegenwärtige Hypothese ist, dass Tumor buds die Degradation des peritumoralen Bindegewebes bewirken, indem sie Lymph- und Blutgefäße infiltrieren und somit zur Ausbildung von lokalen und Fernmetastasen führen (38).

Karlsson et al. und Karamitopoulou et al. demonstrierten ein Erklärungsmodell über den Zusammenhang zwischen Tumorzellen, EMT und Lymphknotenmetastasen bei PDAC (38,41). Dieser Bezug wird durch das Ergebnis der aktuellen Studie über die signifikante Korrelation zwischen TB und Lymphknotenmetastasen bestätigt, sodass die vorgelegte Studie die bisherige Hypothese zum TB unterstützt.

## 4.2 Neuralscheideninfiltration

In der vorgelegten Studie konnte bei 95.8 % der Patienten mit PDAC eine Neuralscheideninfiltration (NI) nachgewiesen werden. Unser Ergebnis bestätigt damit bisherige Resultate anderer Studien, bei denen die ausgeprägte Anwesenheit von NI wie bei Liebl et al. mit 100 % oder bei Karamitopoulou et al. mit 99.1 % belegt werden konnte (40,53). Damit nimmt PDAC hinsichtlich der häufigen Anwesenheit von NI eine Sonderstellung gegenüber anderen Gastrointestinalen Tumoren ein, bei denen die Existenz von NI deutlich geringer ausfällt, zum Beispiel bei Hepatozellulären Karzinomen (6 %), Kolonkarzinomen (28 %) oder Rektumkarzinomen (34 %) (65).

Im folgenden Abschnitt wird die vorgelegte Studie mit der Studie von Liebl et al. aus dem Jahr 2014 verglichen, welche die NI bei Pankreaskarzinomen analysierten (53). Diese Studie zeigte eine ausgeprägte Präsenz von NI bei Pankreaskarzinomen und zeigte die NI als einen unabhängigen prognostischen Faktor (53). Die verwendete Methode bei Liebl et al. ist allerdings in der Routinediagnostik nur schwer umzusetzen (53), sodass in der vorgelegten Studie ein für die Routinediagnostik geeignete Methode verwendet wurde.

Weitere Studien zur Untersuchung der prognostischen Bedeutung von NI sowie der Zusammenhang zwischen NI und weiteren histopathologischen Parametern bei Patienten mit PDAC unter Ausschluss von Patienten mit neoadjuvanter Therapie liegen bisher nicht vor. Dies verdeutlicht die Notwendigkeit weiterer Studien und die Entwicklung einer standardisierten Methode zur Beurteilung der Bedeutung von NI bei PDAC.

## **Heterogenität der Methodik**

In der vorgelegten Studie ist NI definiert bei Invasion von Tumorzellen ins Epineurium. Diese Definition von NI verwendeten auch Liebl et al. (53). In der aktuellen Studie wurden Patienten mit der Diagnose PDAC eingeschlossen, bei Liebl et al. wurden Patienten mit der Diagnose Pankreaskarzinom einbezogen. Eine weitere histopathologische Differenzierung war bei Liebl et al. nicht angegeben (53). Zur Bestimmung von NI wurde in der aktuellen Studie ein Schnitt pro Patient analysiert. Liebl et al. bezogen in die Analyse pro Patient drei Schnitte vom Primärtumor, alle Schnitte die Lymphknoten enthielten sowie die davon umliegenden Gewebeschnitte mit ein. Die Schnittanzahl lag im Durchschnitt bei acht pro Patient (53). Zur Beurteilung des Schweregrades der NI wurde der NIS nach Liebl et al. berechnet (53).

Durch Verwendung unterschiedlicher Schnittanzahlen pro Patient, ist eine direkte Vergleichbarkeit zwischen den Patienten nicht gegeben. Bei Untersuchung mehrerer Schnitte pro Patient, resultiert dementsprechend ein höherer NIS als bei der Bestimmung nur eines Schnittes pro Patient. Zudem ist die Analyse von NI anhand mehrerer Schnitte pro Patient sehr zeitaufwendig und für die Routinediagnostik nicht geeignet. Zusätzlich kann es durch Verwendung einer hohen Schnittanzahl zur Bestimmung der NI zu einer höheren Streuung in der statistischen Auswertung kommen.

In der aktuellen Studie erfolgte die Auswertung der NI anhand eines Schnittes, da dies mit einem geringeren Zeitaufwand verbunden ist und damit in die Routinediagnostik integriert werden kann. Zudem soll die Methode eindeutig sein und eine gute Reproduzierbarkeit auch bei Verwendung nur eines Schnittes pro Patient aufweisen.

Die Auswertung der NI erfolgte in der aktuellen Studie bei einer 10-fachen Vergrößerung. Bei Liebl et al. war die verwendete Vergrößerung nicht angegeben (53). Dies schränkt zum einen die Möglichkeit der Vergleichbarkeit der Studien ein, zum anderen ergibt sich aus der Studie von Liebl et al. keine standardisierte Methode für die Umsetzung dieser in die Routinediagnostik (53). Ziel ist es eine Vergrößerung zu finden, mit der möglichst alle Neuralscheideninfiltrationen eines Schnittes detektiert werden können.

Da sich in der vorgelegten Studie eine Präsenz von Neuralscheideninfiltration bei 95.8 % der Patienten und damit bei nahezu dem gesamten Patientenkollektiv zeigte, ist die Verwendung einer 10-fachen Vergrößerung als geeignete Methode zur Beurteilung der NI anzusehen. Die Analyse der NI erfolgte in der vorgelegten Studie anhand von H.E. gefärbten Schnitten, ebenso wie bei Liebl et al (53).

In der aktuellen Studie erfolgte eine Einteilung jedes Patienten in die Kategorien Pn-0, Pn-ena, Pn-pni und Pn-eni. Diese Gliederung der NI findet sich auch bei Liebl et al. wieder (53). Diese Unterteilung der NI wurde erstmals in der Studie von Liebl et al. 2014 verwendet (53), weitere Studien mit dieser Einteilung der NI bei PDAC wurden bisher nicht publiziert.

In der vorgelegten Studie wurde die 8. TNM-Klassifikation verwendet, im Gegensatz dazu verwendeten Liebl et al. die 7. TNM-Klassifikation, da ihre Studie 2014 veröffentlicht wurde (53). Unterschiede zwischen der 7. und 8. TNM-Klassifikation finden sich bei der Einteilung der Tumorgröße und den Lymphknotenmetastasen (3,61). Da sich in der aktuellen Studie keine signifikante Korrelation zwischen NI und anderen histopathologischen Parametern ergab und in der Studie von Liebl et al. diese Zusammenhänge nicht angegeben waren (53), spielt diese Differenz in diesem Kapitel eine untergeordnete Rolle.

Die Analyse der NI erfolgte in der aktuellen Arbeit anhand eines Untersuchers (Autorin). Bei Liebl et al. wurde die Auswertung durch drei unabhängige Untersucher durchgeführt (53). Hierdurch kann bewertet werden, ob die Untersuchungsmethode unabhängig vom Betrachter valide ist.

Die Vorteile der aktuellen Methode sind die Verwendung eines Schnittes pro Patient und sowie die Beurteilung von H.E. gefärbten Schnitten, sodass diese Methode für die Routinediagnostik geeignet und der Zeitaufwand für die Analyse geringer ist. Durch Analyse nur eines Schnittes pro Patient, kann dieser Schnitt gegebenenfalls nicht repräsentativ sein.

### **Unterschiede der Patientenkollektive**

In der vorgelegten Studie wurden Patienten mit der Diagnose PDAC eingeschlossen. Bei Liebl et al. wurden alle Patienten mit der Diagnose Pankreaskarzinom eingeschlossen (53).

Die Anzahl der eingeschlossenen Patienten in die aktuelle Studie beträgt  $n = 119$ , bei Liebl et al.  $n = 132$  (53). Die Studien weisen eine ähnliche Patientenanzahl auf, sodass diesbezüglich eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegeben ist (53).

Patienten mit Fernmetastasen sowie Patienten, die eine neoadjuvante Therapie erhielten, wurden in der aktuellen Studie ausgeschlossen. Daher ist die vorgelegte Studie nur für kurativ resezierte Karzinome geltend. Bei Liebl et al. wurden lediglich Patienten mit neoadjuvanter Therapie aus der Studie ausgeschlossen, Patienten mit Fernmetastasen blieben eingeschlossen (53). Die Anzahl Patienten mit Fernmetastasen wurde nicht angegeben (53).

### **Zusammenhang zwischen NI und weiteren Parametern**

Im folgenden Abschnitt wird die Korrelation zwischen NI und Prognose, NIS sowie histopathologischen Parametern der aktuellen Studie und der Studie von Liebl et al. diskutiert (53).

### **Prognose**

In der aktuellen Studie konnte für NI keine unabhängige prognostische Bedeutung nachgewiesen werden ( $p = 0.249$ ). Allerdings zeigte sich eine Abnahme der Überlebenszeit mit steigender Pn-Kategorie. Dabei lag die mittlere Überlebenszeit bei Pn-0 bei 32 Monaten (95 % CI 3–NA), bei Pn-ena bei 24 Monaten (95 % CI 4–NA), in der Gruppe Pn-pni bei 22 Monaten (95 % CI 15–26) und bei Pn-eni lediglich bei 18 Monaten (95 % CI 14–27). In der univariablen Cox-Analyse konnte diese Beobachtung allerdings statistisch nicht signifikant belegt werden (Pn-ena: HR = 1.7, 95 % CI 0.44–6.62,  $p = 0.444$ ; Pn-pni: HR = 1.9, 95 % CI 0.58–6.21,  $p = 0.289$ ; Pn-eni: HR = 2.26, 95 % CI 0.68–7.54,  $p = 0.184$ ). Eine mögliche Erklärung für die fehlende Signifikanz ist die zu geringe Patientenanzahl.

### **NIS**

Der NIS lag in der vorgelegten Studie bei  $n = 17$  (0–95), wobei keine Signifikanz nachweisbar war (HR = 1, 95 % CI 0.99–1.01,  $p = 0.695$ ). In der Studie von Liebl et al. lag der NIS bei  $n = 24.9$  ( $\pm 1.9$ ) und zeigte sich als unabhängiger prognostischer Faktor beim Pankreaskarzinom (HR = 1.09, 95 % CI 1.04–1.15,  $p < 0.001$ ) (53).

In der aktuellen Studie liegt eine hohe Spannweite innerhalb des NIS im Vergleich zu der Studie von Liebl et al. vor (53), was eine Ursache für die fehlende Signifikanz des NIS darstellen kann.

### **Histopathologische Parameter**

In der vorgelegten Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen NI und anderen histopathologischen Parametern aufgezeigt werden. In der Studie von Liebl et al. wurde der Zusammenhang zwischen NI und anderen histopathologischen Parametern nicht angegeben (53).

Tab. 8 gibt einen Überblick über die Patientenkollektive der diskutierten Studien. Zusätzlich werden die Methoden zur Auswertung der NI von Liebl et al. mit der vorgelegten Studien verglichen und die Unterschiede differenziert dargestellt. Herangezogene Parameter zum Vergleich der Methode sind: Anzahl der Patienten, Tumorentität, Häufigkeit von NI, Anwendung von neoadjuvanter Therapie, TNM-Klassifikation, Ausschluss von Patienten mit Fernmetastasen, Schnitt Färbung, Anzahl untersuchter Schnitte pro Patient, Wahl der Vergrößerung, Anzahl Untersucher, Score zur Beurteilung der NI, Kategorien von NI, Definition von Pn1 und signifikante Ergebnisse der Studien.

**Tabelle 8: Vergleich der Patientenkollektive, Methodik und Ergebnisse mit früherer Studie zu NI bei PDAC**

	<b>Aktuelle Studie</b>	<b>Liebl et al. (2014) (53)</b>
<b>Zeitraum</b>		
<b>Operierte Patienten</b>	1996–2015	1987–2009
<b>n Gesamt</b>	119	132
<b>Tumorentität</b>	PDAC	Pankreaskarzinom
<b>Häufigkeit NI</b>	95.8 %	100 %
<b>Pat. mit neoadjuvanter Therapie</b>	EX	EX
<b>Pat. mit pM, n mit pM</b>	EX	IN, n = n. a.
<b>TNM-Klassifikation</b>	8.	7.
<b>Schnitt-Färbung</b>	H.E.	H.E.
<b>Anz. Schnitte / Patient</b>	1	Ø 8
<b>Vergrößerung</b>	10x	n. a.
<b>Anzahl Untersucher</b>	1	3
<b>Score</b>	nach Liebl et al. (53)	$NIS = N(ENA) + N(PNI) * 2 + N(ENI) * 3$
<b>Kategorien</b>	Pn0 & Pn1; Pn0, Pn-ena, Pn-pni, Pn-eni	Pn0, Pn-ena, Pn-pni, Pn-eni
<b>Definition von Pn1</b>	bei Eindringen von Tumorzellen ins Epineurium	bei Eindringen von Tumorzellen ins Epineurium
<b>NIS</b>	17 (0–95) (p = 0.695)	24.9 ± 1.9 (p < 0.001)
<b>NI als unabhängiger prognostischer Faktor</b>	nein Pn1 (p = 0.249)	ja (p < 0.001)

**Tab. 8**

Vergleich der Patientenkollektive, Methodik und Ergebnisse der vorgelegten Studie mit früherer Studie zu NI bei PDAC. Anz. – Anzahl, ENA – Epineurale Tumorassoziation, ENI – Endoneurale Invasion, EX - Excluded, H.E. - Hämatoxylin-Eosin, IN - Included, n - Anzahl Patienten, N ( ) - Anzahl Nerven, n. a. - Nicht angegeben, NI - Neurale Invasion, NIS - Neuraler Invasionscore, Pn0 - Keine neurale Invasion, Pn1 - Mindestens ein Nerv mit Eindringen von Tumorzellen in das Epineurium, Pn-ena – Mindestens ein Nerv mit Tumorzellen in direkter Verbindung zum Epineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Perineurium oder Endoneurium, Pn-eni - Mindestens ein Nerv mit Invasion von Endoneurium, PNI – Perineurale Invasion, Pn-pni - Mindestens ein Nerv mit Invasion von Perineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Endoneurium, pM – Histopathologischer Status Fernmetastasen, TNM – Tumorgroße/Lymphknoten/ Fernmetastasen. Quelle eigene Anfertigung.

## **Interpretation der Ergebnisse**

Es existiert weder eine einheitliche Definition von NI noch eine standardisierte Methode zur Beurteilung des Schweregrades von NI. Aufgrund der Ergebnisse der vorgelegten Studie bleibt die prognostische Bedeutung der neuralen Invasion bei PDAC und deren Korrelation mit anderen histopathologischen Parametern weiterhin unklar. In der aktuellen Studie zeigte sich eine Abnahme der Überlebenszeit mit steigender Pn-Kategorie. Dieser Trend konnte in der univariablen Cox-Analyse allerdings nicht signifikant belegt werden. Inwieweit die Unterteilung der Pn-Kategorien einen prognostischen Wert aufweist, sollte an größeren Patientenkollektiven untersucht werden.

Um eindeutig die prognostische Bedeutung von NI bei PDAC zu klären und eine Methode als standardisiertes Verfahren zu etablieren, sind Studien mit einer hohen Anzahl eingeschlossener Patienten nötig.

## **4.3 Zusammenhang zwischen Tumor Budding und Neuralscheideninfiltration**

In der vorgelegten Studie konnte TB bei 84.9 % und NI bei 95.8 % der Patienten nachgewiesen werden. Damit unterstützt unsere Studie die Ergebnisse früherer Studien, hinsichtlich der ausgeprägten Präsenz dieser Faktoren bei PDAC. Beide Faktoren nehmen hinsichtlich des häufigen Vorkommens bei PDAC eine Sonderstellung gegenüber anderen Gastrointestinalen Tumoren ein, bei denen TB und NI deutlich weniger präsent sind (53,62,75). Liebl et al. publizierten in ihrer Studie unter anderem eine Präsenz der NI beim Hepatozellulären Karzinom bei 6 % und beim Kolonkarzinom bei 28 % (53). In der Studie von Ulase et al. zeigte sich eine Präsenz des TB beim Magenkarzinom bei 74.8 %, bei Ozer et al. trat TB beim Kolorektalen Karzinom bei 49.2 % der Patienten auf (62,75).

Im folgenden Abschnitt wird die aktuelle Studie mit den zwei Studien von Karamitopoulou et al. (2013) und O'Connor et al. verglichen, die ebenfalls den Zusammenhang zwischen TB und NI bei PDAC analysierten (40,60).

Bei Karamitopoulou et al. zeigte sich an einem Patientenkollektiv von 117 Patienten TB bei 100 % und von 113 Patienten eine NI bei 99.1 % (40).

Bei O'Connor et al. war von 192 Patienten TB bei 88 % und eine NI ebenfalls bei 88 % nachweisbar (60). Von den Patienten mit TB war eine NI bei 90 % der Patienten vorhanden (60).

Die genannten Studien weisen eine ähnliche Präsenz von TB und NI auf, sodass das Ergebnis der aktuellen Studie hinsichtlich der Präsenz plausibel ist. Diese Grundlage ermöglicht einen Vergleich der resultierenden Ergebnisse der Studien.

### **Heterogenität der Methodik**

In der aktuellen Studie erfolgte die Analyse über den Zusammenhang zwischen TB und NI bei einem Cut-off von  $> 5$  buds/HPF. Karamitopoulou et al. und O'Connor et al. verwendeten für das TB den Cut-off 10 buds/HPF (40,60).

In der vorgelegten Studie lag eine NI bei Vordringen von Tumorzellen ins Epineurium vor. Der Schweregrad der NI wurde mit dem modifizierten Score von Liebl et al. angegeben (53). Zusätzlich erfolgte eine Einteilung in die Kategorien Pn-ena, Pn-pni und pn-eni. Bei Karamitopoulou et al. und O'Connor et al. wurde die NI lediglich als dichotome Variable (NI vorhanden/nicht vorhanden) definiert (40,60). Die Definition einer NI war bei Karamitopoulou et al. und O'Connor et al. nicht angegeben (40,60).

### **Zusammenhang TB und NI**

In der aktuellen Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen TB und NI nachgewiesen werden. In der linearen Regression ergab die Untersuchung zwischen NIS und Mittelwert buds einen nicht signifikanten Zusammenhang ( $p = 0.149$ ). In der logistischen Regression war zwischen den Pn-Kategorien und dem Cut-off  $> 5$  buds/HPF sowie dem NIS und Cut-off  $> 5$  buds/HPF keine signifikante Korrelation nachweisbar (Pn-ena: OR = 1.59, 95 % CI 0.97–2.62,  $p = 0.068$ ; Pn-pni: OR = 1.06, 95 % CI 0.7–1.6,  $p = 0.799$ ; Pn-eni: OR = 1.12, 95 % CI 0.73–1.7,  $p = 0.611$ ; NIS: OR = 1, 95 % CI 0.99–1,  $p = 0.197$ ). Bei Karamitopoulou et al. wurde aufgrund der ausgeprägten Präsenz der NI von 99.1 % eine statistische Analyse mit TB nicht durchgeführt (40). Dies zeigt die Notwendigkeit einer Quantifizierung von NI. Die Studie von O'Connor et al. ergab mit einem Kollektiv von 192 Patienten einen signifikanten Zusammenhang zwischen TB und NI ( $p = 0.0162$ ) (60).

## **Interpretation der Ergebnisse**

Der Zusammenhang zwischen TB und NI wurde bisher in nur wenigen Studien untersucht (60). In der vorgelegten Arbeit zeigte sich keine signifikante Assoziation zwischen TB und NI.

Die Ergebnisse bisheriger Studien lassen vermuten, dass es sich bei TB und NI um zwei unabhängige histopathologische Merkmale handelt, die bei PDAC ubiquitär sind (40,60).

Bisher bestehen keine einheitlichen Definitionen sowie keine standardisierten Methoden zur Bestimmung von TB und NI bei PDAC (39,40,45,53,54,60). Dies bestätigt die Notwendigkeit einheitlicher Definitionen und einer standardisierten Quantifizierungsmethode, um in weiteren Studien den Zusammenhang zwischen TB und NI sicher zu bestimmen.

## **4.4 Kritische Anmerkungen**

Kritikpunkte an der vorgelegten Studie sind zum einen der lange Beobachtungszeitraum von 20 Jahren und die über diesen Zeitraum fehlende standardisierte Befunderhebung des R-Status nach dem CRM-Konzept durch den Pathologen. Zusätzlich liegt kein vollständiges Follow-up vor.

Die Aussagekraft der vorgelegten Studie ist aufgrund der für die statistische Auswertung geringen Patientenzahl ( $n = 119$ ) limitiert. Angesichts der kleinen Fallzahl ist es möglich, dass Unterschiede keine Signifikanz erreichen. Bei NI ist zum Beispiel ein Unterschied anhand der absoluten Zahlen zu erkennen. Dieser Unterschied ist jedoch aufgrund der hohen Streuung nicht signifikant.

Zusätzlich handelt es sich um eine unizentrische Studie.

In der vorgelegten Studie erfolgte die Untersuchung von NI und TB an H.E. gefärbten histologischen Schnitten. Diese Färbung wird routinemäßig in der Standarddiagnostik hergestellt, weshalb diese eine gut zugängliche Möglichkeit zur Untersuchung von NI und TB darstellt (81).

Für die Analyse von NI und TB kann eine Pan-Zytokeratin-Färbung einer H.E.-Färbung jedoch überlegen sein (19).

Dies konnten auch Koelzer et al. in einer Studie über TB bei Kolonkarzinomen zeigen, bei der eine hohe Korrelation innerhalb der Untersucher bei Pan-Zytokeratin gefärbten Schnitten bestand, wohingegen bei H.E.-Färbungen die Übereinstimmung lediglich moderat war (44). Auch bei Chouat et al. zeigte sich in ihrer Studie mit 50 Patienten mit der Diagnose PDAC bei der Bestimmung von high-grade TB eine Differenz zwischen H.E.-Färbungen (50 %) und Pan-Zytokeratin-Färbungen (56 %) (9).

Zusätzlich können Tumor Buds in einer H.E.-Färbung durch eine tumorbedingte Entzündung oder reaktive Fibroblasten verdeckt werden (44). Eine Pan-Zytokeratin-Färbung wird jedoch nicht routinemäßig durchgeführt und ist zudem kostenintensiver. H.E. gefärbte Schnitte hingegen werden als Standardschnitte routinemäßig durchgeführt, sodass eine Beurteilung von TB weltweit möglich ist (81). Die ITBCC sprach 2016 ihre Empfehlung zur Verwendung von H.E. gefärbten bei Bestimmung des TB bei Kolonkarzinomen aus (56). Daher wurden in der vorgelegten Studie ebenfalls H.E. gefärbte Schnitte aus der Routinediagnostik verwendet.

Zusätzlich spielt die richtige Wahl des Tumorblocks und der daraus ergebende Schnitt eine entscheidende Rolle. In der vorgelegten Studie wurde ein repräsentativer Tumorblock durch einen erfahrenen Pathologen ausgewählt und der entsprechende Schnitt durch einen Untersucher (Autorin) analysiert. Koelzer et al. empfehlen den Tumorblock mit dem höchsten Grad an TB (44).

Ein weiterer Kritikpunkt an der Studie stellt die Anzahl der Untersucher dar. In der vorgelegten Studie wurde die NI und das TB durch einen Untersucher (Autorin) ausgewertet. Bei vergleichbaren Studien analysierten meist zwei (39,40,45,54) oder drei (53) unabhängige Untersucher die histologischen Schnitte. Durch Analyse der histologischen Schnitte anhand eines Untersuchers (Autorin) in der aktuellen Studie ist nicht ermittelbar, inwieweit eine Abhängigkeit von unterschiedlichen Betrachtern das Ergebnis der Studie beeinflussen würde.

Je mehr Betrachter die histologischen Schnitte beurteilen würden, umso größer wäre die Sicherheit der Ergebnisse.

## 5 Zusammenfassung

Die Parameter Neuralscheideninfiltration und Tumor Budding zeigen beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas (PDAC) eine ausgeprägte Präsenz im Gegensatz zu anderen gastrointestinalen Tumoren. Ihre genaue prognostische Bedeutung ist nicht eindeutig und eine standardisierte Methode zur Evaluierung dieser histomorphologischen Merkmale ist bisher nicht vorhanden.

Ziel dieser retrospektiven Studie war die Relation von Tumor Budding und Neuralscheideninfiltration sowie deren prognostische Bedeutung beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas unter Betrachtung unterschiedlicher quantitativer Erfassung dieser Parameter zu untersuchen.

Betrachtet wurde ein Patientenkollektiv von 119 Patienten mit Pankreasresektion aufgrund von PDAC an der Klinik für Chirurgie, UKSH Campus Lübeck. Klinische und Standard histopathologische Daten wurden retrospektiv aus den Patientenakten und lokalen klinischen Datenbanken erhoben. NI und TB wurden an histologischen Schnitten aus der Routinediagnostik bestimmt. Kaplan-Meier Methode, univariable logistische, lineare und Cox-Regressionsmodelle sowie ein multivariablen Cox-Regressionsmodell wurden in der statistischen Analyse angewandt. Primärer Endpunkt war das mediane Überleben in Abhängigkeit von NI und TB.

Die Parameter NI und TB zeigten bei der Auswertung eine hohe Präsenz bei PDAC mit 95.8 % beziehungsweise 84.9 %.

In der vorgelegten Studie konnte zum ersten Mal ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumor Budding und Lymphknotenmetastasen belegt werden, wodurch die aktuelle Studie eine Sonderstellung einnimmt. Die mediane Überlebenszeit betrug 22 Monate.

In der univariablen Überlebensanalyse waren niedriger Differenzierungsgrad, Lymphknotenmetastasen, eine Lymphgefäßinvasion sowie Tumor Budding signifikante negative prognostische Faktoren. Nach Adjustierung in der multivariablen Analyse erwiesen sich die Lymphgefäßinvasion und Tumor Budding als negative prognostische Faktoren, die adjuvante Therapie als positiver prognostischer Faktor. Für die NI konnte keine signifikante prognostische Bedeutung nachgewiesen werden. Ebenso zeigte sich zwischen NI und TB statistisch keine Korrelation.

Zusammenfassend zeigt die Studie einen Zusammenhang zwischen Lymphknotenmetastasen und Tumor Budding sowie einen negativen prognostischen Einfluss von Tumor Budding in PDAC. Die Bedeutung von NI bei PDAC ist dagegen weiterhin unklar.

## 6 Ausblick

Um in Zukunft die genaue Bedeutung von NI und TB zu evaluieren, ist ein standardisiertes Verfahren zur Bestimmung von NI und TB die Grundvoraussetzung zur Vergleichbarkeit von Studien. Dazu müssen zunächst die Untersuchungsverfahren, die Methodik und die Definitionen der Parameter NI und TB vereinheitlicht werden. Dies beinhaltet konkret die Auswahl des Tumorblocks, eine einheitliche Schnitt Färbung, eine festgelegte Definition von NI und ein standardisiertes Verfahren zur Bestimmung von NI und TB. Die Methode zur Erhebung von NI und TB sollte die festgelegte Wahl von mikroskopischer Vergrößerung, Anzahl der Schnitte pro Patient, Anzahl der verwendeten HPF sowie die Bestimmung von NI und TB, zum Beispiel mit einem Score, beinhalten. Zusätzlich sollte die Betreuung an spezialisierten Zentren durchgeführt werden, um einerseits ein großes Patientenkollektiv zu erhalten und um andererseits die Möglichkeit zur Teilnahme an Studien sicherzustellen. Nur dadurch kann eine Vergleichbarkeit verschiedener Studien zu NI und TB gewährleistet werden.

In zukünftigen Studien müsste ermittelt werden, ob die Parameter TB und NI zur Therapieentscheidung beitragen können. Ein weiterer zu erforschender Aspekt wäre, ob die histopathologischen Parameter TB und NI einen prädiktiven Wert beim Ansprechen auf eine Chemotherapie darstellen.

Parallel wäre das Forschungsthema über die EMT und MET zum genaueren Verständnis dieser Prozesse sowie deren Zusammenhang mit den Parametern TB und NI von großer Bedeutung.

## 7 Literaturverzeichnis

1. **Angadi, P.V., Patil, P.V., Hallikeri, K., Mallapur, M.D., Hallikerimath, S., Kale, A.D.** (2015) Tumor Budding Is an Independent Prognostic Factor for Prediction of Lymph Node Metastasis in Oral Squamous Cell Carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*, Band 23, S. 102–110.
2. **Bilici, A.** (2014) Prognostic Factors Related with Survival in Patients with Pancreatic Adenocarcinoma. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, Band 20, S. 10802–10812.
3. **Brierley, J., Gospodarowicz, M., Wittekind, C.** (2017) *TNM Classification of Malignant Tumours 8th Edition*. 8. Auflage, Wiley-Blackwell, Hoboken, Vereinigte Staaten, S. 93–95.
4. **Bruch, H.-P., Trentz, O.** (2008) *Chirurgie*. 6. Auflage, Elsevier Urban & Fischer Verlag, München, S. 943–960.
5. **Callery, M.P., Chang, K.J., Fishman, E.K., Talamonti, M.S., William Traverso, L., Linehan, D.C.** (2009) Pretreatment Assessment of Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer: Expert Consensus Statement. *Annals of Surgical Oncology*, Band 16, S. 1727–1733.
6. **Ceyhan, G.O., Bergmann, F., Kadihasanoglu, M., Altintas, B., Demir, I.E., Hinz, U., Müller, M.W., Giese, T., Büchler, M.W., Giese, N.A., Friess, H.** (2009) Pancreatic Neuropathy and Neuropathic Pain--a Comprehensive Pathomorphological Study of 546 Cases. *Gastroenterology*, Band 136, S. 177–186.
7. **Chang, D.K., Johns, A.L., Merrett, N.D., Gill, A.J., Colvin, E.K., Scarlett, C.J., Nguyen, N.Q., Leong, R.W.L., Cosman, P.H., Kelly, M.I., Sutherland, R.L., Henshall, S.M., Kench, J.G., Biankin, A.V.** (2009) Margin Clearance and Outcome in Resected Pancreatic Cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, Band 27, S. 2855–2862.
8. **Chen, S.-H., Zhang, B.-Y., Zhou, B., Zhu, C.-Z., Sun, L.-Q., Feng, Y.-J.** (2019) Perineural Invasion of Cancer: A Complex Crosstalk between Cells and Molecules in the Perineural Niche. *American Journal of Cancer Research*, Band 9, S. 1–21.
9. **Chouat, E., Zehani, A., Chelly, I., Njima, M., Maghrebi, H., Bani, M.A., Njim, L., Zakhama, A., Haouet, S., Kchir, N.** (2018) Tumor Budding Is a Prognostic Factor Linked to Epithelial Mesenchymal Transition in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. Study Report and Literature Review. *Pancreatology: official journal of the International Association of Pancreatology (IAP) ... [et al.]*, Band 18, S. 79–84.
10. **Christmann, D.** (2015) Klassifikation von Tumoren. Krebsgesellschaft - Onko Internetportal. <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/basis-informationen-krebs-allgemeine-informationen/klassifikation-von-tumoren-tnm-.html> (Zugegriffen am: August 26, 2018).
11. **D'Haese, J.G., Werner, Prof.Dr.J.** (2016) Resektabilität Des Pankreaskarzinoms - Neue Kriterien. *Der Radiologe*, S. 318–323.
12. **Deb, B., Jacob, S.E.** (2019) Predictive Power of Tumour Budding for Lymph Node Metastasis in Colorectal Carcinomas: A Retrospective Study. *The Indian Journal of Medical Research*, Band 150, S. 635–639.

13. **Dell'Aquila, E., Fulgenzi, C.A.M., Minelli, A., Citarella, F., Stellato, M., Pantano, F., Russano, M., Cursano, M.C., Napolitano, A., Zeppola, T., Vincenzi, B., Tonini, G., Santini, D.** (2020) Prognostic and Predictive Factors in Pancreatic Cancer. *Oncotarget, Impact Journals*, Band 11, S. 924–941.
14. **Demir, I.E., Ceyhan, G.O., Liebl, F., D'Haese, J.G., Maak, M., Friess, H.** (2010) Neural Invasion in Pancreatic Cancer: The Past, Present and Future. *Cancers*, Band 2, S. 1513–1527.
15. **Ducreux, M., Cuhna, A.S., Caramella, C., Hollebecque, A., Burtin, P., Goéré, D., Seufferlein, T., Haustermans, K., Van Laethem, J.L., Conroy, T., Arnold, D., ESMO Guidelines Committee.** (2015) Cancer of the Pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, Band 26, S. 56–68.
16. **Ernst, P.** (1905) Über Das Wachstum Und Die Verbreitung Bösariger Geschwülste, Insbesondere Des Krebses in Den Lymphbahnen Der Nerven. *Beitrag pathologische Anatomie*, S. 29–51.
17. **Ettrich, T.J., Schulte, L.A., Eitel, N., Ettrich, K., Berger, A.W., Perkhofer, L., Seufferlein, T.** (2017) Surveillance after resection of pancreatic ductal adenocarcinoma with curative intent – a multicenter survey in Germany and review of the literature. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, Band 55, S. 657–666.
18. **Ferrone, C.R., Marchegiani, G., Hong, T.S., Ryan, D.P., Deshpande, V., McDonnell, E.I., Sabbatino, F., Santos, D.D., Allen, J.N., Blaszkowsky, L.S., Clark, J.W., Faris, J.E., Goyal, L., Kwak, E.L., Murphy, J.E., Ting, D.T., Wo, J.Y., Zhu, A.X., Warshaw, A.L., Lillemoe, K.D., Fernández-del Castillo, C.** (2015) Radiological and Surgical Implications of Neoadjuvant Treatment with FOLFIRINOX for Locally Advanced and Borderline Resectable Pancreatic Cancer. *Annals of Surgery*, Band 261, S. 12–17.
19. **Fujii-Nishimura, Y., Yamazaki, K., Masugi, Y., Douguchi, J., Kurebayashi, Y., Kubota, N., Ojima, H., Kitago, M., Shinoda, M., Hashiguchi, A., Sakamoto, M.** (2018) Mesenchymal-Epithelial Transition of Pancreatic Cancer Cells at Perineural Invasion Sites Is Induced by Schwann Cells: MET in Pancreatic Cancer Neural Invasion. *Pathology International*, Band 68, S. 214–223.
20. **Fujimoto, M., Yamamoto, Y., Matsuzaki, I., Warigaya, K., Iwahashi, Y., Kojima, F., Furukawa, F., Murata, S.-I.** (2016) Tumor Budding Is an Independent Risk Factor for Lymph Node Metastasis in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Single Center Retrospective Study. *Journal of Cutaneous Pathology*, Band 43, S. 766–771.
21. **Gastinger, I., Meyer, F., Shardin, A., Ptok, H., Lippert, H., Dralle, H.** (2018) Untersuchungen Zur Hospitalletalität in Der Pankreaschirurgie: Ergebnisse Einer Multizentrischen Beobachtungsstudie. *Der Chirurg*, Band 90.
22. **Göttinger, P.** (2018) Pankreaskarzinom: Chirurgische Konzepte Zur Kompletten Tumorentfernung. *Journal für Gastroenterologische und Hepatologische Erkrankungen*, Band 16.
23. **Graham, R.P., Vierkant, R.A., Tillmans, L.S., Wang, A.H., Laird, P.W., Weisenberger, D.J., Lynch, C.F., French, A.J., Slager, S.L., Raissian, Y., Garcia, J.J., Kerr, S.E., Lee, H.E., Thibodeau, S.N., Cerhan, J.R., Limburg, P.J., Smyrk, T.C.** (2015) Tumor Budding in Colorectal Carcinoma: Confirmation of Prognostic Significance and Histologic Cutoff in a Population-Based Cohort. *The American journal of surgical pathology*, Band 39, S. 1340–1346.

24. **Grigore, A.D., Jolly, M.K., Jia, D., Farach-Carson, M.C., Levine, H.** (2016) Tumor Budding: The Name Is EMT. Partial EMT. *Journal of Clinical Medicine*, S. 10–15.
25. **Gulluoglu, M., Yegen, G., Ozluk, Y., Keskin, M., Dogan, S., Gundogdu, G., Onder, S., Balik, E.** (2015) Tumor Budding Is Independently Predictive for Lymph Node Involvement in Early Gastric Cancer. *International Journal of Surgical Pathology*, Band 23, S. 349–358.
26. **Hackeng, W.M., Hruban, R.H., Offerhaus, G.J.A., Brosens, L.A.A.** (2016) *Surgical and Molecular Pathology of Pancreatic Neoplasms*. *Diagnostic Pathology*, Band 11, S. 47.
27. **Haeberle, L., Esposito, I.** (2019) *Pathology of Pancreatic Cancer*. *Translational Gastroenterology and Hepatology*, Band 4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6624347/> (Zugegriffen am: Juli 28, 2019).
28. **Hartwig, W., Hackert, T., Hinz, U., Gluth, A., Bergmann, F., Strobel, O., Büchler, M.W., Werner, J.** (2011) Pancreatic Cancer Surgery in the New Millennium: Better Prediction of Outcome. *Annals of Surgery*, Band 254, S. 311–319.
29. **Heinemann, V., Schmidberger, H.** (2019) Duktales Adenokarzinom des Pankreas. *Der Onkologe*, Band 25, S. 642–644.
30. **Hirai, I., Kimura, W., Ozawa, K., Kudo, S., Suto, K., Kuzu, H., Fuse, A.** (2002) Perineural Invasion in Pancreatic Cancer. *Pancreas*, Band 24, S. 15–25.
31. **Hohenberger, W.** (2017) Ursachen Und Risikofaktoren Für Bauchspeicheldrüsenkrebs. Krebsgesellschaft - Onko Internetportal. <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/bauspeicheldruesenkrebs/ursachen-und-risikofaktoren.html> (Zugegriffen am: Juli 30, 2019).
32. **Homayounfar, K., Kleiß, M., Rottmann-Ickler, C.** (2017) Behandlung Des Pankreaskarzinoms Aus Chirurgischer, Onkologischer Und Strahlentherapeutischer Sicht. *Hessisches Ärzteblatt*, S. 548–550.
33. **Hruban, R.H., Gaida, M.M., Thompson, E., Hong, S.-M., Noë, M., Brosens, L.A., Jongepier, M., Offerhaus, G.J.A., Wood, L.D.** (2019) Why Is Pancreatic Cancer so Deadly? The Pathologist's View. *The Journal of Pathology*, Band 248, S. 131–141.
34. **Kaatsch, P., Spix, C., Katalinic, A., Hentschel, S., Luttmann, S., Stegmaier, C., Waldeyer-Sauerland, M., Waldmann, A., Caspritz, S., Christ, M., Ernst, A., Folkerts, J., Hansmann, J., Klein, S., Kranzhöfer, K., Kunz, B., Manegold, K., Penzkofer, A., Tremel, K., Weg-Remers, S., Wittenberg, K., Barnes, B., Bertz, J., Buttman-Schweiger, N., Dahm, S., Fiebig, J., Haberland, J., Kraywinkel, K., Wienecke, A., Wolf, U.** (2014) Krebs in Deutschland - Bauchspeicheldrüse. 2013/2014. Robert-Koch-Institut, S. 48–51. [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKewjTxPGMmmbkAhWiQEEAHR7ODMgQFjAAegQIBBAC&url=https%3A%2F%2Fwww.krebsdaten.de%2FKrebs%2FDE%2FContent%2FPublikationen%2FKrebs%2Fin%2Fdeutschland%2Fkid%2F2017%2FKrebs%2Fin%2Fdeutschland%2F2017.pdf%3F\\_blob%3DpublicationFile&usq=AOvVaw2n09sRR6zvubup04bjEBMy-](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKewjTxPGMmmbkAhWiQEEAHR7ODMgQFjAAegQIBBAC&url=https%3A%2F%2Fwww.krebsdaten.de%2FKrebs%2FDE%2FContent%2FPublikationen%2FKrebs%2Fin%2Fdeutschland%2Fkid%2F2017%2FKrebs%2Fin%2Fdeutschland%2F2017.pdf%3F_blob%3DpublicationFile&usq=AOvVaw2n09sRR6zvubup04bjEBMy-) (Zugegriffen am: Oktober 14, 2018).

35. **Kalluri, R., Weinberg, R.A.** (2009) The Basics of Epithelial-Mesenchymal Transition. *The Journal of Clinical Investigation*, Band 119, S. 1420–1428.
36. **Kapp, M., Kunzmann, V.** (2014) Adjuvante Und Neoadjuvante Chemotherapie Des Lokalisierten Pankreaskarzinoms. *Trillum Krebsmedizin*, Band 23, S. 123,125.
37. **Karamitopoulou, E.** (2013) Role of Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Is Tumor Budding the Missing Link? *Frontiers in Oncology*, S. 1–5.
38. **Karamitopoulou, E.** (2013) Tumor Budding Cells, Cancer Stem Cells and Epithelial-Mesenchymal Transition-Type Cells in Pancreatic Cancer. *Frontiers in Oncology*, Band 2, S. 1–3.
39. **Karamitopoulou, E., Wartenberg, M., Zlobec, I., Cibin, S., Worni, M., Gloor, B., Lugli, A.** (2018) Tumour Budding in Pancreatic Cancer Revisited: Validation of the ITBCC Scoring System. *Histopathology*, Band 73, S. 137–146.
40. **Karamitopoulou, E., Zlobec, I., Born, D., Kondi-Pafiti, A., Lykoudis, P., Mellou, A., Gennatas, K., Gloor, B., Lugli, A.** (2013) Tumour Budding Is a Strong and Independent Prognostic Factor in Pancreatic Cancer. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)*, Band 49, S. 1032–1039.
41. **Karlsson, M.C., Gonzalez, S.F., Welin, J., Fuxe, J.** (2017) Epithelial-mesenchymal Transition in Cancer Metastasis through the Lymphatic System. *Molecular Oncology*, Band 11, S. 781–791.
42. **Katz, M.H.G., Ahmad, S.A., Eds.** (2016) *Multimodality Management of Borderline Resectable Pancreatic Cancer*. Springer International Publishing. <https://www.springer.com/de/book/9783319227795> (Zugegriffen am: April 28, 2020).
43. **Kayahara, M., Nakagawara, H., Kitagawa, H., Ohta, T.** (2007) The Nature of Neural Invasion by Pancreatic Cancer. *Pancreas*, Band 35, S. 218–223.
44. **Koelzer, V.H., Zlobec, I., Lugli, A.** (2016) Tumor Budding in Colorectal Cancer--Ready for Diagnostic Practice? *Human Pathology*, Band 47, S. 4–19.
45. **Kohler, I., Bronsert, P., Timme, S., Werner, M., Brabletz, T., Hopt, U.T., Schilling, O., Bausch, D., Keck, T., Wellner, U.F.** (2015) Detailed Analysis of Epithelial-Mesenchymal Transition and Tumor Budding Identifies Predictors of Long-Term Survival in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, Band 30, S. 78–84.
46. **Königsrainer, A.** (2015) Pankreaskarzinom: State of the Art 2015. *Deutsches Ärzteblatt*. <https://www.aerzteblatt.de/archiv/172136/Pankreaskarzinom-State-of-the-Art-2015> (Zugegriffen am: August 13, 2019).
47. **Krams, M., Frahms, S., Keller, U., Mawrin, C.** (2013) *Pathologie*. 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 312–313.
48. **Landau, M.S., Hastings, S.M., Foxwell, T.J., Luketich, J.D., Nason, K.S., Davison, J.M.** (2014) Tumor Budding Is Associated with an Increased Risk of Lymph Node Metastasis and Poor Prognosis in Superficial Esophageal Adenocarcinoma. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology*, Band 27, S. 1578–1589.
49. **Lawlor, R.T., Veronese, N., Nottegar, A., Malleo, G., Smith, L., Demurtas, J., Cheng, L., Wood, L.D., Silvestris, N., Salvia, R., Scarpa, A., Luchini, C.** (2019) Prognostic Role of High-Grade Tumor Budding in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis with a Focus on Epithelial to Mesenchymal Transition. *Cancers*, Band 11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6356259/> (Zugegriffen am: Juli

- 28, 2019).
50. **Li, H., Xu, F., Li, S., Zhong, A., Meng, X., Lai, M.** (2016) The Tumor Microenvironment: An Irreplaceable Element of Tumor Budding and Epithelial-Mesenchymal Transition-Mediated Cancer Metastasis. *Cell Adhesion & Migration*, Band 10, S. 434–446.
  51. **Liang, F., Cao, W., Wang, Y., Li, L., Zhang, G., Wang, Z.** (2013) The Prognostic Value of Tumor Budding in Invasive Breast Cancer. *Pathology, Research and Practice*, Band 209, S. 269–275.
  52. **Liebig, C., Ayala, G., Wilks, J.A., Berger, D.H., Albo, D.** (2009) Perineural Invasion in Cancer: A Review of the Literature. *Cancer*, Band 115, S. 3379–3391.
  53. **Liebl, F., Demir, I.E., Mayer, K., Schuster, T., D’Haese, J.G., Becker, K., Langer, R., Bergmann, F., Wang, K., Rosenberg, R., Novotny, A., Feith, M., Reim, D., Friess, H., Ceyhan, G.O.** (2014) The Impact of Neural Invasion Severity in Gastrointestinal Malignancies. *Annals of Surgery*, S. 900–906.
  54. **Lohneis, P., Sinn, M., Klein, F., Bischoff, S., Striefler, J.K., Wislocka, L., Sinn, B.V., Pelzer, U., Oettle, H., Riess, H., Denkert, C., Bläker, H., Jühling, A.** (2018) Tumour Buds Determine Prognosis in Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *British Journal of Cancer*, Band 118, S. 1485–1491.
  55. **Lugli, A.** (2016) Results from the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) in Bern. 26. Berner Chirurgie Symposium 2016.
  56. **Lugli, A., Kirsch, R., Ajioka, Y., Bosman, F., Cathomas, G., Dawson, H., El Zimaity, H., Fléjou, J.-F., Hansen, T.P., Hartmann, A., Kakar, S., Langner, C., Nagtegaal, I., Pappa, G., Riddell, R., Ristimäki, A., Sheahan, K., Smyrk, T., Sugihara, K., Terris, B., Ueno, H., Vieth, M., Zlobec, I., Quirke, P.** (2017) Recommendations for Reporting Tumor Budding in Colorectal Cancer Based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, Band 30, S. 1299–1311.
  57. **Mischinger, H.-J., Werkgartner, G., Kornprat, P., Marsoner, K., Wagner, D., Cerwenka, H., Bacher, H.** (2018) Komplikationen in der Pankreaschirurgie. *Wiener klinisches Magazin*, Band 21, S. 98–107.
  58. **Munding, J., Uhl, W., Tannapfel, A.** (2011) Aktuelle Daten zur R-Klassifikation des Pankreaskarzinoms: der Abstand zum Resektionsrand als unabhängiger Prognosefaktor? *Zeitschrift für Gastroenterologie*, Band 49, S. 1423–1427.
  59. **Oberhofer, E.** (2019) PCOS-Patientinnen erkranken häufiger an Krebs. *Gynäkologie & Geburtshilfe*, Band 24, S. 12.
  60. **O’Connor, K., Li-Chang, H.H., Kalloger, S.E., Peixoto, R.D., Webber, D.L., Owen, D.A., Driman, D.K., Kirsch, R., Serra, S., Scudamore, C.H., Renouf, D.J., Schaeffer, D.F.** (2015) Tumor Budding Is an Independent Adverse Prognostic Factor in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, Band 39, S. 472–478.
  61. **Ormanns, S., Esposito, I., Siveke, J., Kirchner, T., Neumann, J.** (2014) *Pathologie Und Molekularpathologie Des Pankreaskarzinoms*. Trillium Krebsmedizin, Band 23, S. 110–114.
  62. **Ozer, S.P., Barut, S.G., Ozer, B., Catal, O., Sit, M., Ozer, S.P., Barut, S.G., Ozer, B., Catal, O., Sit, M.** (2019) The Relationship between Tumor Budding and Survival in Colorectal Carcinomas. *Revista da Associação Médica Brasileira, Associação Médica Brasileira*, Band 65, S. 1442–1447.

63. **Pollheimer, M.J., Langner, C.** (2017) Pathologie der R1-Klassifikation in der viszeralonkologischen Chirurgie. *Der Chirurg*, Band 88, S. 731–739.
64. **Schlitter, A.M., Esposito, I.** (2010) Definition of Microscopic Tumor Clearance (R0) in Pancreatic Cancer Resections. *Cancers*, Band 2, S. 2001–2010.
65. **Schorn, S., Demir, I.E., Haller, B., Scheufele, F., Reyes, C.M., Tieftrunk, E., Sargut, M., Goess, R., Friess, H., Ceyhan, G.O.** (2017) The Influence of Neural Invasion on Survival and Tumor Recurrence in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma - A Systematic Review and Meta-Analysis. *Surgical Oncology*, Band 26, S. 105–115.
66. **Schünke, Schulte, Schumacher.** (2011) *Aufbau Eines Peripheren Nervs.* Thieme.  
<https://eref.thieme.de/cockpits/clAna0001clRettungsdienst0001/0/coAna00091/4-10843> (Zugegriffen am: August 2, 2019).
67. **Seufferlein, T., Porzner, M., Heinemann, V., Tannapfel, A., Stuschke, M., Uhl, W.** (2014) Duktales Pankreaskarzinom. *Deutsches Ärzteblatt*, Band 22, S. 397–400.
68. **Shen, C.-N., Goh, K.-S., Huang, C.-R., Chiang, T.-C., Lee, C.-Y., Jeng, Y.-M., Peng, S.-J., Chien, H.-J., Chung, M.-H., Chou, Y.-H., Hsieh, C.-C., Kulkarni, S., Pasricha, P.J., Tien, Y.-W., Tang, S.-C.** (2019) Lymphatic Vessel Remodeling and Invasion in Pancreatic Cancer Progression. *EBioMedicine*, Band 47, S. 98–113.
69. **Shen, X.** (2010) Perineural Invasion in Pancreatic Cancer: Advanced Research in the Neuro-Cancer Interactions. *Clinical Oncology and Cancer Research*, Band 7, S. 337–341.
70. **Simon, O., Beyer, G., Mahajan, U.M., Mayerle, J.** (2018) Pancreatic Cancer in the Year 2018 - Room for Precision Medicine? *Deutsche Medizinische Wochenschrift* (1946), Band 143, S. 1109–1112.
71. **Stark, A., Eibl, G.** (2015) Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pancreapedia*, S. 3,6,7.  
<https://www.pancreapedia.org/sites/default/files/DOI%20V2.%20Pancreapedia%20PDAC%20Draft.pdf> (Zugegriffen am: Februar 25, 2017).
72. **Strobel, O., Hank, T., Hinz, U., Bergmann, F., Schneider, L., Springfield, C., Jäger, D., Schirmacher, P., Hackert, T., Büchler, M.W.** (2017) Pancreatic Cancer Surgery: The New R-Status Counts. *Annals of Surgery*, Band 265, S. 565–573.
73. **Tempero, M.A., Malafa, M.P., Al-Hawary, M., Asbun, H., Bain, A., Behrman, S.W., Benson, A.B., Binder, E., Cardin, D.B., Cha, C., Chiorean, E.G., Chung, V., Czito, B., Dillhoff, M., Dotan, E., Ferrone, C.R., Hardacre, J., Hawkins, W.G., Herman, J., Ko, A.H., Komanduri, S., Koong, A., LoConte, N., Lowy, A.M., Moravek, C., Nakakura, E.K., O'Reilly, E.M., Obando, J., Reddy, S., Scaife, C., Thayer, S., Weekes, C.D., Wolff, R.A., Wolpin, B.M., Burns, J., Darlow, S.** (2017) Pancreatic Adenocarcinoma, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN*, Band 15, S. 1028–1061.
74. **Tjaden, C., Hackert, T., Büchler, M.W.** (2015) Chirurgische Therapie des Pankreaskarzinoms. Lehnert, H., Schellong, S.M., Mössner, J., Sieber, C.C., Swoboda, W., Neubauer, A., Kemkes-Matthes, B., Manns, M.P., Rupp, J., Hasenfuß, G., Floege, J., Hallek, M., Welte, T., Lerch, M., Märker-Hermann, E. and Weilemann, L.S., Eds., *DGIM Innere Medizin: herausgegeben von Hendrik Lehnert*, Springer, Berlin, Heidelberg, S. 1–9. <https://doi.org/10.1007/978-3->

- 642-54676-1 553-1 (Zugegriffen am: April 14, 2020).
75. **Ulase, D., Heckl, S., Behrens, H.-M., Krüger, S., Röcken, C.** (2020) Prognostic Significance of Tumour Budding Assessed in Gastric Carcinoma According to the Criteria of the International Tumour Budding Consensus Conference. *Histopathology*, Band 76, S. 433–446.
  76. **Varadhachary, G.R., Tamm, E.P., Abbruzzese, J.L., Xiong, H.Q., Crane, C.H., Wang, H., Lee, J.E., Pisters, P.W.T., Evans, D.B., Wolff, R.A.** (2006) Borderline Resectable Pancreatic Cancer: Definitions, Management, and Role of Preoperative Therapy. *Annals of Surgical Oncology*, Band 13, S. 1035–1046.
  77. **Verbeke, C.S.** (2013) Resection Margins in Pancreatic Cancer. *The Surgical Clinics of North America*, Band 93, S. 647–662.
  78. **Wetzke, M.** (2007) *Bildgebende Verfahren*. 1. Auflage, Elsevier Urban & Fischer Verlag, München, S. 62–63.
  79. **van Wyk, H.C., Roseweir, A., Alexander, P., Park, J.H., Horgan, P.G., McMillan, D.C., Edwards, J.** (2019) The Relationship Between Tumor Budding, Tumor Microenvironment, and Survival in Patients with Primary Operable Colorectal Cancer. *Annals of Surgical Oncology*, Band 26, S. 4397–4404.
  80. **Zwiener, I., Blettner, M., Hommel, G.** (2011) Überlebenszeitanalyse. *Deutsches Ärzteblatt*, Band 10, S. 163–169.
  81. *Methoden in der Pathologie. Praxis für Pathologie Lübeck.*  
<http://www.pathologen-luebeck.de/methoden-in-der-pathologie/> (Zugegriffen am: Juni 6, 2020).
  82. (2015) Pancreatic Cancer Facts 2015. Pancreatic Cancer Action. Pancreatic Cancer Action Network. <https://pancreaticcanceraction.org/about-pancreatic-cancer/pancreatic-cancer-facts/> (Zugegriffen am: August 26, 2018).
  83. (2013) S3-Leitlinie Zum Exokrinen Pankreaskarzinom. Leitlinienprogramm Onkologie der AWMF. <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/032-010OL.html> (Zugegriffen am: August 14, 2018).

## 8 Abkürzungsverzeichnis

5-JÜR	5-Jahres-Überlebensrate
A.	Arteria
CI	Confidence interval, Konfidenzintervall
CRM	Circumferential resection margin, zirkumferentieller Resektionsrand
CT	Computertomographie
DFS	Disease free survival, krankheitsfreies Überleben
EMT	Epithelial-mesenchymale Transition
ENA	Epineurale Tumorassoziation
ENI	Endoneurale Invasion
ERCP	Endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie
FOLFIRINOX	Folinsäure, 5-Fluorouracil, Irinotecan, Oxaliplatin
H.E.-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HPF	High Power Field, Haupt Gesichtsfeld
HR	Hazard Ratio
IPMN	Intraductal papillary mucinous neoplasm, intraduktale papilläre-muzinöse Neoplasie
ITBCC	International Tumor Budding Consensus Conference
L1	Lymphgefäßinvasion
MET	Mesenchymal-epitheliale Transition
MRCP	Magnetresonanz-Cholangiopankreatikographie
n	Anzahl Patienten
N+/N1	Lymphknoteninvasion
NI	Neuralscheideninfiltration
NIS	Neuraler Invasionscore
OR	Odds Ratio
OS	Overall survival, Gesamtüberleben
PDAC	Pancreatic ductal adenocarcinoma, duktales Adenokarzinom des Pankreas
pM	Histopathologischer Status Fernmetastasen
pN	Histopathologischer Status Lymphknotenmetastasen
PNI	Perineurale Invasion

Pn0	Keine neurale Invasion
Pn1	Mindestens ein Nerv mit Eindringen von Tumorzellen in das Epineurium
Pn-ena	Mindestens ein Nerv mit Tumorzellen in direkter Verbindung zum Epineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Perineurium oder Endoneurium
Pn-eni	Mindestens ein Nerv mit Invasion von Endoneurium
Pn-pni	Mindestens ein Nerv mit Invasion von Perineurium, aber keine Nerven mit Invasion von Endoneurium
pT	Histopathologische Größe des Primärtumors
R0	Kein Residualtumor
R1	Mikroskopischer Residualtumor
R-Status	Residualtumor Status
TNM	Tumorgröße, Lymphknoten, Fernmetastasen
UICC	Union internationale contre le cancer, Internationale Vereinigung gegen Krebs
V.	Vena
V1	Blutgefäßinvasion

# 9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis mit Quellenangaben

## Verzeichnis der Abbildungen

<b>Abb. 1</b>	Schematische Darstellung der Korrelation zwischen Tumorausbreitung an der Invasionsfront und dem R-Status .....	14
<b>Abb. 2</b>	Darstellung eines peripheren Nervs im Querschnitt .....	16
<b>Abb. 3</b>	Darstellung einer epineuralen Tumorassoziation bei PDAC .....	17
<b>Abb. 4</b>	Darstellung einer perineuralen Tumorinvasion bei PDAC.....	17
<b>Abb. 5</b>	Darstellung einer endoneuralen Tumorinvasion bei PDAC.....	18
<b>Abb. 6</b>	Darstellung eines histologischen Ausschnittes mit Tumor Budding bei PDAC .....	22
<b>Abb. 7</b>	Darstellung des Prozesses der epithelialen-mesenchymalen Transition	24
<b>Abb. 8</b>	Kaplan-Meier Kurve: Gesamtüberleben in Monaten nach Resektion in Bezug zur Überlebenswahrscheinlichkeit .....	36
<b>Abb. 9</b>	Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit von dem Lymphknotenstatus .....	36
<b>Abb. 10</b>	Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit vom Grading .....	37
<b>Abb. 11</b>	Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit von der Lymphgefäßinvasion .....	37
<b>Abb. 12</b>	Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit von Blutgefäßinvasion.....	38
<b>Abb. 13</b>	Kaplan-Meier Kurve: Überleben in Monaten nach Resektion in Abhängigkeit von Tumor Budding mit Cut-off 5 .....	38

### Quellen:

Abbildung 1: in Anlehnung an (77)

Abbildung 2: in Anlehnung an (66)

Abbildungen 3–6: mit freundlicher Genehmigung von Dr. E. Petrova

Abbildung 7: in Anlehnung an (35)

Abbildungen 8–13: eigene Anfertigung.

## Verzeichnis der Tabellen

<b>Tab. 1</b>	Histologische Typen bei einem Pankreaskarzinom .....	3
<b>Tab. 2</b>	Histologische Typen beim PDAC .....	4
<b>Tab. 3</b>	Darstellung der aktuellen 8. TNM-Klassifikation der UICC von 2017 für Pankreaskarzinome .....	6
<b>Tab. 4</b>	Darstellung der Stadieneinteilung bei PDAC anhand der aktuellen 8. TNM-Klassifikation.....	7
<b>Tab. 5</b>	Deskriptive Statistik und Überlebensanalyse.....	34
<b>Tab. 6</b>	Univariable lineare und logistische Regression .....	35
<b>Tab. 7</b>	Vergleich der Patientenkollektive, Methodik und Ergebnisse der vorgelegten Studie mit früheren Studien zu Tumor Budding bei PDAC .	54
<b>Tab. 8</b>	Vergleich der Patientenkollektive, Methodik und Ergebnisse der vorgelegten Studie mit früherer Studie zu NI bei PDAC .....	61

### Quellen:

Tabelle 1: adaptiert nach (26)

Tabelle 2: adaptiert nach (61)

Tabelle 3, 4: adaptiert nach (3)

Tabellen 5–8: eigene Anfertigung.

## 10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich für die Unterstützung einiger wichtiger Personen bedanken, ohne die eine Realisierung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater PD Dr. med. Wellner, für die ausgezeichnete Betreuung meiner Doktorarbeit und die Vermittlung dieses interessanten Themas.

Herrn Prof. Dr. Keck danke ich für die Möglichkeit, meine Promotion an der Klinik für Chirurgie, UKSH, Campus Lübeck, durchzuführen.

Dr. Ekaterina Petrova danke ich sehr für das mir entgegengebrachte Vertrauen bei der Übernahme der Betreuung meiner Doktorarbeit und für ihre kontinuierliche Unterstützung in dieser Zeit.

Wertvolle Unterstützung und Einarbeitung in die histopathologische Analyse von Pankreaskarzinomen erhielt ich von Dr. Juliana Knief vom Institut für Pathologie, UKSH, Campus Kiel.

Ohne die Unterstützung des Instituts für Pathologie, UKSH Campus Lübeck, unter der Leitung von Herrn Prof. Perner, wäre eine Durchführung der Datenerhebung von Neuralscheideninfiltration und Tumor Budding beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas nicht möglich gewesen.

Des Weiteren danke ich Prof. Thorns vom Institut für Pathologie, UKSH, Campus Lübeck für die Unterstützung und das Ermöglichen meiner Doktorarbeit.

Meinen Eltern danke ich für die Ermöglichung des Studiums und ihre beständige Unterstützung während dieser interessanten und arbeitsintensiven Zeit.

# 11 Lebenslauf



## Daten zur Person

Name Verena Kathrin Isabel Zielinski  
Geboren 21.04.1993 in München

## Hochschullaufbahn

11/2019 – 10/2020 Praktisches Jahr (Innere Medizin, Psychosomatik, Chirurgie)  
04/2016 – aktuell Studium Humanmedizin, Universität zu Lübeck  
Famulaturen in Chirurgie, Dermatologie, Notfallmedizin, Kinder- und Jugendmedizin und Allgemeinmedizin  
04/2014 – 03/2016 Studium Humanmedizin, Georg-August-Universität Göttingen  
10/2011 – 04/2014 Studium Biologie B.Sc., Albert-Ludwigs-Universität Freiburg  
09/2003 – 07/2011 Allgemeine Hochschulreife, Otfried-Preußler-Gymnasium Pullach, München, Abitur (1,9)

## Berufsausbildung

11/2012 – 08/2013 Ausbildung zur Rettungssanitäterin, Prometheus Akademie Berlin und Malteser Rettungswache Freiburg

## **Zeitraum der Dissertation**

2017 - 2021

## **Publikationen, Poster, Vorträge**

**Tumor Budding as a Prognostic Factor in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. Petrova, E., Zielinski, V., Bolm, L., Schreiber, C., Knief, J., Thorns, C., Bronsert, P., Timme-Bronsert, S., Bausch, D., Perner, S., Keck, T., Wellner, U. (2019) Virchows Archiv: An International Journal of Pathology.**

**Prognostic value of tumor budding and perineural invasion in pancreatic ductal adenocarcinoma. Petrova, E., Zielinski, V., Bolm, L., Schreiber, C., Knief, J., Thorns, C., Bronsert, P., Timme-Bronsert, S., Bausch, D., Perner, S., Keck, T., Wellner, U. Posterpräsentation, 53rd Annual Pancreas Club Meeting, May 17-18, 2019, San Diego, USA**

**Prognostischer Wert von Tumorbudding und Perineuralscheideninfiltration beim Pankreaskarzinom. Petrova, E., Zielinski, V., Knief, J., Bausch, D., Thorns, C., Keck, T., Wellner, U. Kurzvortrag, Viszeralmedizin 2018, 12 – 15. September 2018, München**