

Chirurgische Klinik und Poliklinik am Klinikum rechts der Isar
der Technischen Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. Friess

Möglichkeiten und Grenzen der objektiven Erfassung der
Pankreasstiffness über den *Activated-Stroma-Index*

Mine Sargut

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen
Universität München

zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin (Dr. med.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. G. O. Ceyhan

2. Prof. Dr. H. Friess

Die Dissertation wurde am 09.05.2016 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 12.10.2016 angenommen.

... gewidmet an meinen lieben Onkel Cem ...

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	4
1.1 Das Pankreas	6
1.1.1 Anatomie	7
1.1.2 Fibropathogenese	14
1.2 Die Pankreasfistel	17
1.2.1 Definition und Klassifizierung nach der ISGPF	17
1.2.2 Ursache für Pankreasfisteln nach Pankreaslinksresektion	20
1.2.3 Die Behandlung der Pankreasfistel	22
1.3 Die Pankreaslinksresektion	29
1.3.1 Definition und Indikation	29
1.3.2 Verschlusstechniken nach Pankreaslinksresektion.....	31
1.3.3 Weitere Komplikationen nach Pankreaslinksresektion.....	36
1.4 Der Activated-Strom-Index (ASI)	37
2. Fragestellung	40
3. Materialien und Methoden	41
3.1 Klinische Daten und Pankreasgewebe Sammlung	41
3.2 Immunhistochemische Aufbereitung, Computergestützte Bildanalyse	44
3.3 Statistische Auswertung	53
4. Ergebnisse	54
4.1 Charakterisierung der Patientenkohorte	54
4.2 Auswertung αSMA, Kollagen und ASI	59
4.2.1 Quantifizierung der Immunreaktivität von α SMA & Kollagen-I.....	59
4.2.2 Die Inzidenz der postoperativen Pankreasfistel korreliert nur mit der α SMA	65
4.2.3 Der Einfluss von α SMA, Kollagen und ASI auf die Fistel-Gradierung	68
4.2.4 Der Einfluss der Pankreaserkrankung auf die Entstehung einer Pankreasfistel	70
4.2.5 Sensitivität und Spezifität der Werte	82
4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse	83
5. Diskussion	85
6. Zusammenfassung	91
DANKSAGUNG	93
Literaturverzeichnis	94

Abkürzungen

A.	Arterie
Aa.	Arterien
AK	Antikörper
ASI	Activated Stroma Index
AUC	Area under the curve
CT	Computertomographie
D	Drittel
d.h.	Das heißt
DGE	Delayed gastric emptying
ECM	Extrazelluläre Matrix
Ggf	gegebenenfalls
IPMN	Intraduktal papillär muzinöse Neoplasie
ISGPF	Internationale Study Group Pancreatic Fistula
NCAM	Neural cell adhesion molecule
NGF	Nerve growth factor
PSZ	Pankreas Sternzelle
PSZs	Pankreas Sternzellen
Q	Quadrant
ROC	receiver operating characterisitc
s.c.	subcutan
Temp.	Körpertemperatur
US	Ultraschall
V.	Vene
v. Chr.	Vor Chiristus
Vv.	Venen
α SMA	Alpah Smooth Muscle Actin

1. Einleitung

Nach der Pankreaskopfresektion ist die Pankreasschwanzresektion die am häufigsten durchgeführte Resektion in der Pankreaschirurgie. Die postoperative Pankreasfistel ist hierbei die gefürchtetste Komplikation nach Pankreaslinksresektionen. Die berichtete Häufigkeit der postoperativen Pankreasfistel schwankt zwischen 3-25% nach Pankreaskopfresektion und bis zu 49% nach Pankreaslinksresektion. Die Pankreasfistel kann neben einem milden und selbstlimitierenden Verlauf auch schwerere Formen nach sich ziehen, die eine interventionelle oder chirurgische Therapie notwendig machen.

Der Pankreassaft ist eine enzymatisch hoch aktive und aggressive Substanz, die im Rahmen einer Pankreasfistel weitere Komplikationen, wie die arrosionsbedingte Beschädigung von umliegenden Gewebe (Gallengang, Gefäßwand, Darm) auslösen kann, die dann in einen septischen Verlauf übergehen können mitunter einem letalen Ausgang. Die Folgen sind schwere Krankheitsverläufe mit intensivpflichtiger Betreuung, ggf. Reoperationen und in seltenen Fällen auch das Versterben des Patienten.³⁶

Die Prävention von Pankreasfistel im postoperativen Verlauf ist nicht nur für die Genese des Patienten von Bedeutung, sondern trägt auch zur Senkung, der damit verbundenen Behandlungskosten bei. So sind zum Beispiel die Gesamtbehandlungskosten bei Grad-C-Fistel Patienten um 4-8 fache höher als bei Patienten ohne Fistel.⁶⁸

Aus den oben genannten Gründen ist die Vermeidung der Pankreasfistel nach Pankreasresektionen ein zentraler Punkt in der klinischen Erforschung der Pankreaschirurgie. Zu diesen Zweck untersuchten 2011 Diener und Kollegen im Rahmen der DISPACT-Studie die ideale Verschlusstechnik nach Pankreaslinksresektion. Hier zeigte sich bezüglich der postoperativen Fistelrate kein signifikanter Unterschied zwischen dem Verschluss mittels Stapler oder per Handnaht.²³ Mit diesen Daten wurde ersichtlich, dass zur Vermeidung der Pankreasfistel die chirurgische Technik allein nicht die

Hauptrolle zu spielen scheint. Ein weiterer Aspekt in der Genese von postoperativen Pankreasfisteln ist erwiesenermaßen die Konsistenz des Pankreas (Stiffness) In diversen Studien wurde zwar dieser wichtige Parameter mituntersucht, jedoch wurde das Pankreasgewebe, subjektiv in weich und hart durch den jeweiligen Operator eingeteilt, aber eine objektive Einteilung über den Grad der Stiffness fehlte gänzlich.

In der vorgelegten Dissertationsarbeit soll nun, durch zur Hilfenahme des durch Erkan und Kollegen im Jahre 2008 beschriebenen „Activated Stroma Index“ (ASI)²⁶ objektiv der Zusammenhang zwischen der Pankreasstiffness und der postoperativen Fistelbildung untersucht werden.

1.1 Das Pankreas

Das Wort stammt aus dem Griechischen und bedeutet: pán =alles, kreas=Fleisch

Es ist ein quer im Oberbauch liegendes Drüsenorgan das sowohl exokrine als auch endokrine Aufgaben hat. Es produziert Verdauungsenzyme, welche in das Duodenum abgegeben werden und im Verdauungstrakt zur Spalten von Eiweiß, Kohlenhydraten und Fetten dienen (=exokrine Aufgabe). Im endokrinen Anteil des Pankreas werden vor allem Hormone zur Regulation des Blutzuckerhaushaltes hergestellt.

1.1.1 Anatomie

Topographie

Das Pankreas befindet sich im Retroperitoneum zwischen dem Duodenum und der Milz. Es verläuft quer auf Höhe des 1. bis 2. Lendenwirbels bis zum Milzhilus. Es ist ein etwa 14-18 cm langes und 70-100g schweres und keilförmig aufgebautes Organ. Das Pankreas ist durch viele bindegewebige Strukturen sowie durch zahlreiche Gefäße fixiert und steht in direkter Nachbarschaft zu verschiedenen Organen. An der Vorderfläche, welches fast vollständig mit dem Peritoneum (entspricht der Hinterwand der Bursa omentalis) umgeben ist, sind von rechts nach links folgen Organe aufzuzählen (s. Abbildung 1): Leber, Duodenum, Colon transversum, Magen, Wurzel des Mesocolon transversum, Jejunum sowie links erneut das Colon transversum und die Milz.

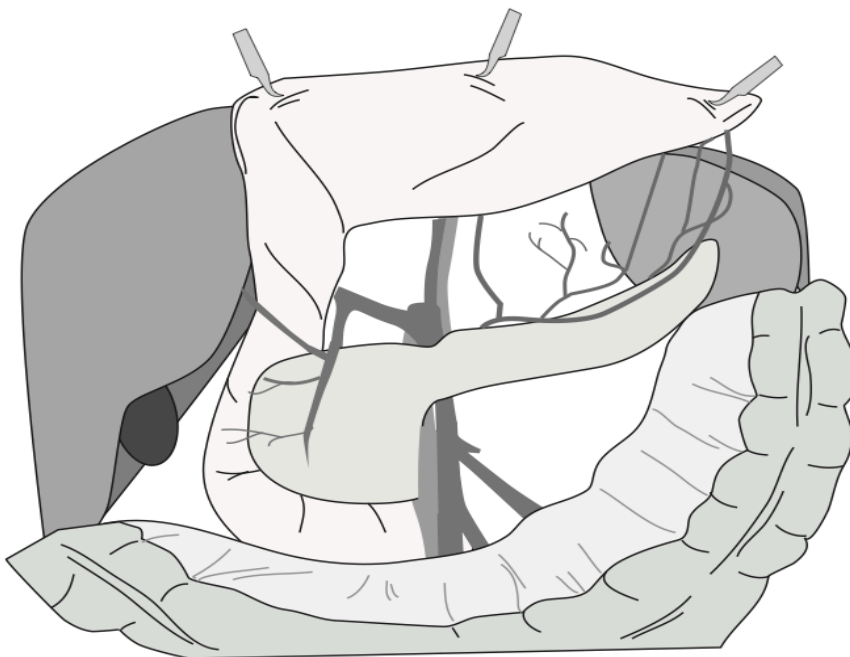


Abbildung 1: Topographie Pankreas

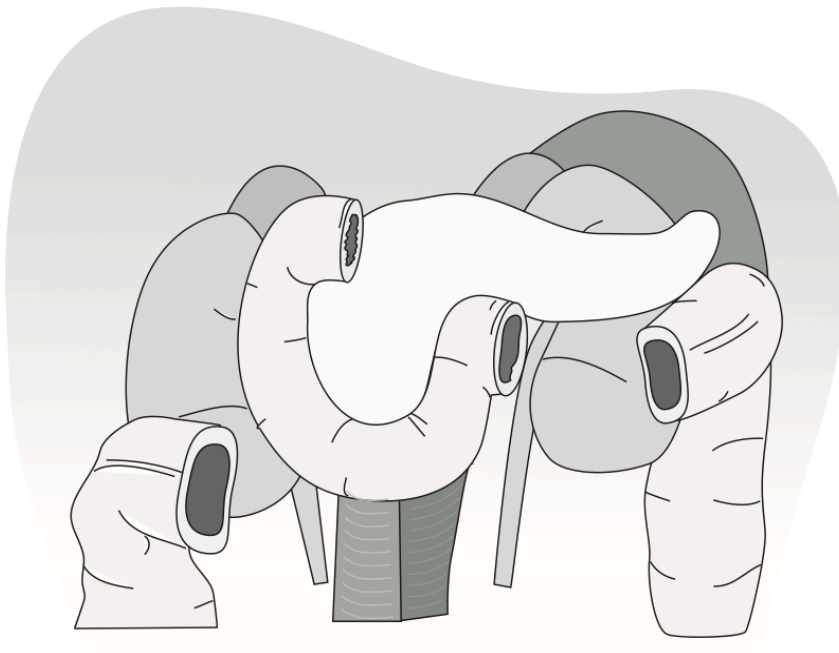


Abbildung 2: Nachbarorgane dorsal

Die Rückfläche ist nicht überzogen und grenzt von rechts nach links an folgende Organe (s. Abbildung 2): rechter Nierenhilus, V. cava inferior, Pfortader, V. mesenterica superior, Aorta, das kaudale Ende der linken Nebenniere und die obere Hälfte der linken Niere. Die wichtigsten Nachbarstrukturen sind kranial der Truncus coeliacus mit der A. lienalis und kaudal am Proc. Uncinatus die Mesenterialgefäße.^{39,54}

Das Pankreas selbst wird in fünf Abschnitte aufgeteilt (s. Abbildung 3).

Die V. mesenterica superior bildet dabei nach links die Grenze des Pankreaskopfes. Nach rechts ist der Pankreaskopf durch das Duodenum umfasst.

Dorsokaudal des Pankreaskopfes liegt der Processus uncinatus. Der Processus liegt dabei normaler Weise dorsal der V. mesenterica superior und Pfortader und ventral der V. cava inferior und Aorta.

Der Grenzbereich zum Pankreaskörper wird als Pankreashals bezeichnet. Es handelt sich dabei um den etwa 2 cm breiten Parenchymstreifen des Pankreas ventral der oberen Mesenterialgefäße. Hinter diesem Streifen befindet sich der Truncus coeliacus. Ebenfalls liegt in diesem Bereich die Einmündung der V. lienalis in die V. mesenterica superior, welche dann in die Pfortader übergeht.

Der Pankreaskorpus ist der Teil der sich links neben der Mesenterialengefäße befindet. Ventral verlaufen die A. und V. lienalis.

Der Pankreaskörper geht ohne eine fest definierte Linie über in den Pankreasschwanz, dieser endet dann an der Milz.^{39,54}

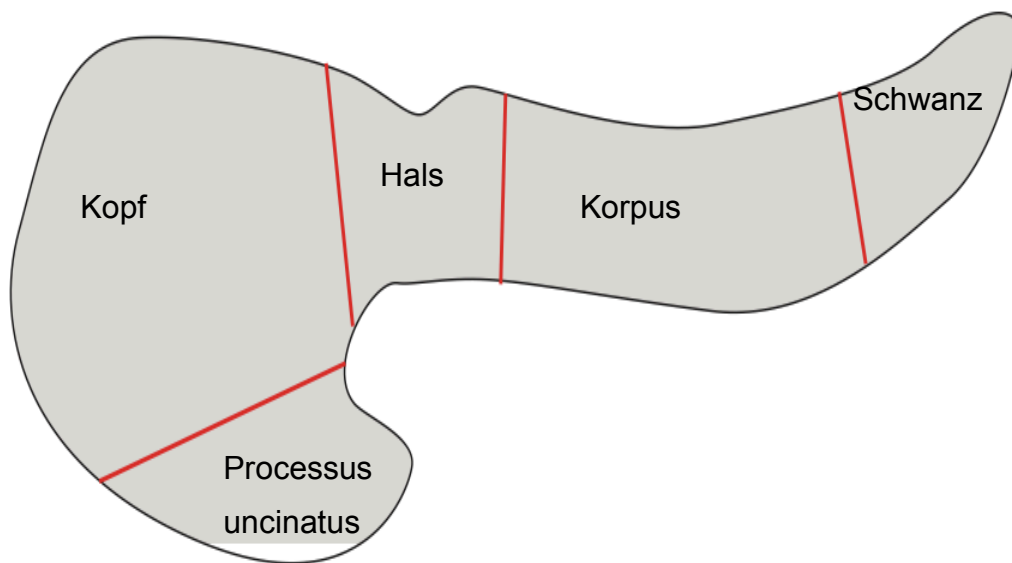


Abbildung 3 Pankreasabschnitte

Gefäße, Lymph- und Gangsystem

Arterien

Die arterielle Blutversorgung des Pankreas erfolgt über die Äste A. gastroduodenalis und über die Seitenäste der A. lienalis aus dem Truncus coeliacus und über die A. pancreaticoduodenalis inferior aus der A. mesenterica superior. Die beiden Stromgebiete sind über viele variable Anastomosen miteinander verbunden (s. Abbildung 4)^{39,54}

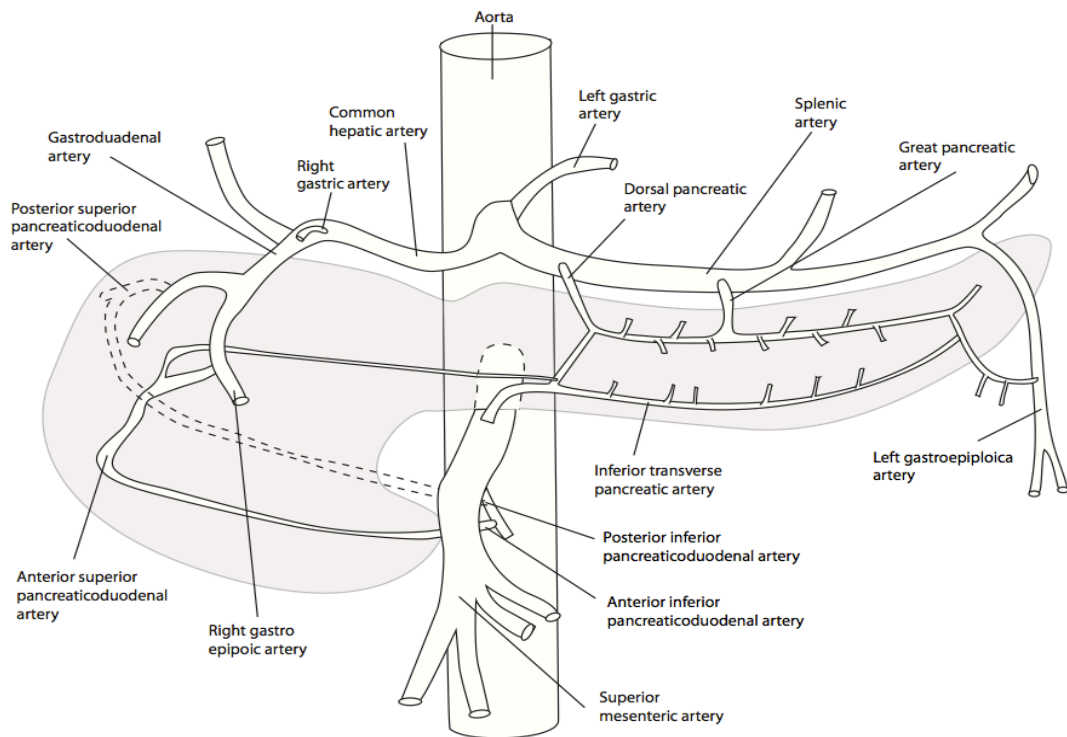


Abbildung 4 Arterielle Blutversorgung des Pankreas

Venen

Der venöse Abfluss des Pankreas erfolgt entweder über die Venae pancreaticoduodenales oder über die V. mesenterica superior, die V. lienalis oder die V. mesenterica inferior in die Vena portae (s. Abbildung 5).^{39,54}

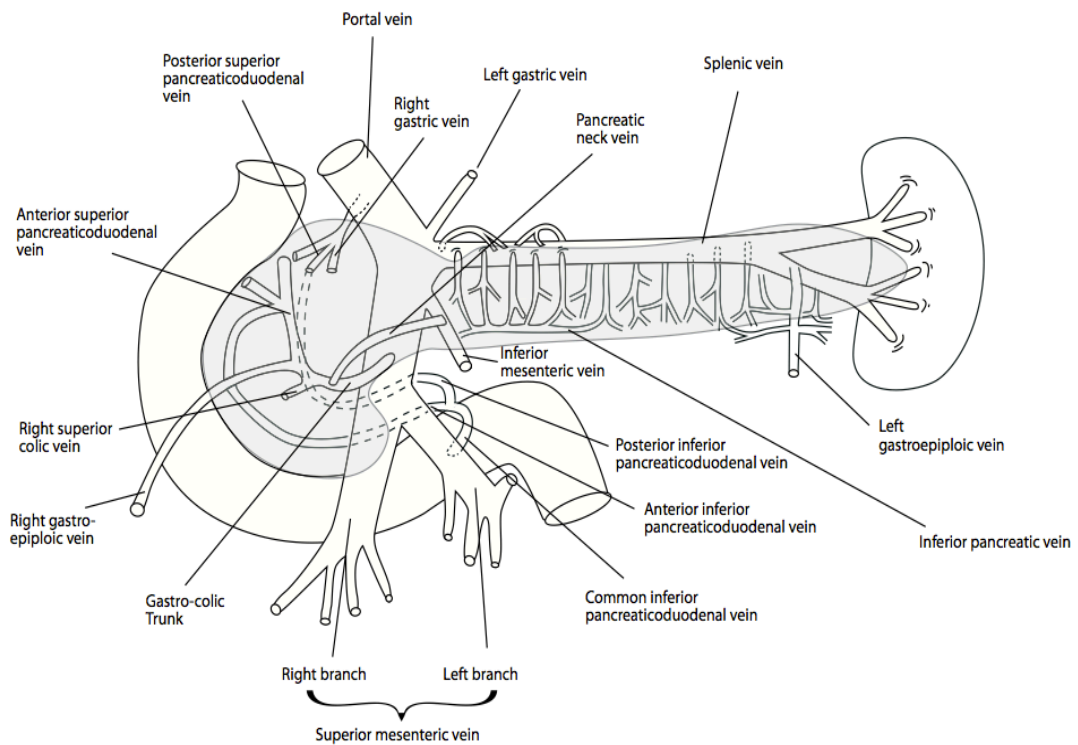


Abbildung 5 Venöer Blutabfluss des Pankreas

Lymphgefäße

Die Lymphdrainage aus dem Pankreas erfolgt über ein stark verzweigtes sowie weitläufiges Lymphbahnsystem. Die Primärstationen des Pankreaskopfes sind die ventral und dorsal gastroduodenal, peripylorisch, periduodenal und um die A. mesenterica superior gelegenen Lymphknoten. Der Processus uncinatus drainiert auch interaortokaval. Aus dem Pankreaskorpus erfolgt die Drainage in die Lymphknoten am oberen und unteren Pankreasrand (s. Abbildung 6). Der Pankreasschwanz drainiert hauptsächlich in Lymphknoten den Milzhilus. Die hepatischen, zöliakalen, oberen mesenterialen und paraaortalen Lymphknoten gelten als Sekundärstationen.^{39,54}

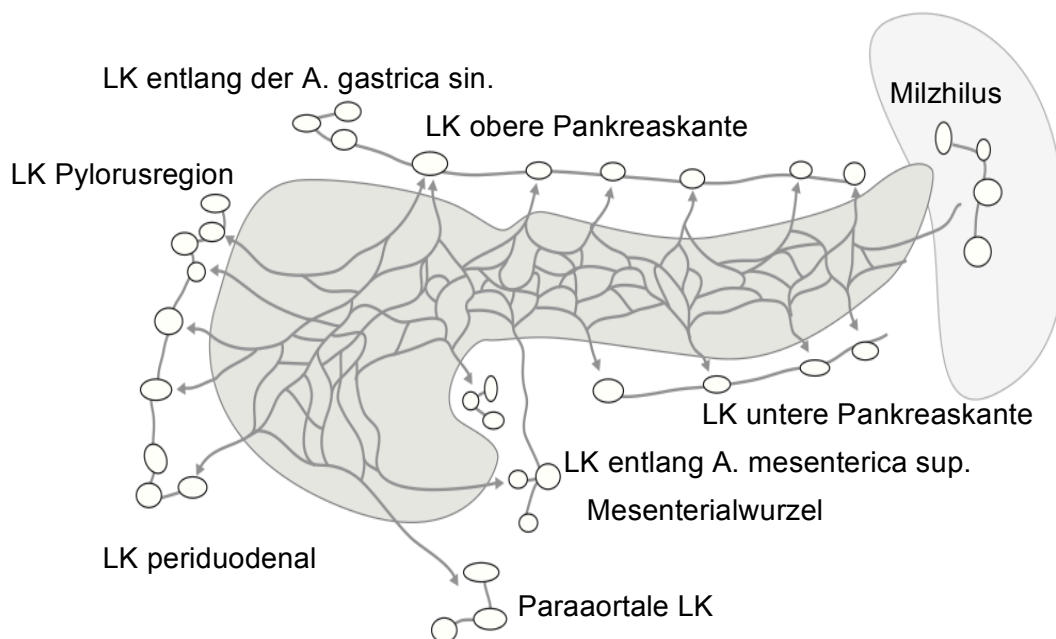


Abbildung 6 Lymphabfluss des Pankreas

Pankreas-Gangsystem

Der Pankreasschwanz, -körper, -hals sowie der untere Teil des Pankreaskopfes werden durch den Hauptausführungsgang, den Ductus pancreaticus (= Ductus Wirsungianus) über die Papilla duodeni major in das Duodenum drainiert. Der ventrokraniale Anteil des Pankreas wird durch den Ductus pancreaticus accessorius (= Ductus Santorini) über die Papilla duodeni minor in das Duodenum drainiert. Beide Gänge sind am Pankreaskopf miteinander in Verbindung (s . Abbildung 7).

Ductus pancreaticus accessorius

(= Ductus Santorini)

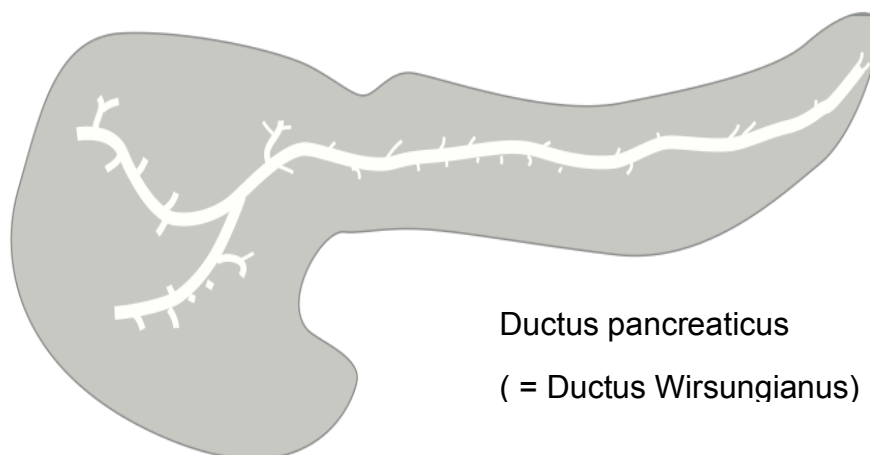


Abbildung 7 Gangsystem des Pankreas

In insgesamt 40 % der Fälle besteht eine Normvariante. In 30% der Fälle erfolgt die gesamte Drainage über den Ductus Wirsungianus, der Ductus Santorini endet dabei blind. In 10 % der Fälle drainiert der Ductus Santorini das gesamte Pankreassekret und der Ductus Wirsungianus ist klein oder fehlt komplett. ^{39,54}

1.1.2 Fibropathogenese

Die endokrine und exokrine Funktion des Pankreas mit den zugehörigen Zelltypen (Azinuszellen, duktale Zellen, Langerhans-Inselzellen) sind bereits seit 300 v. Chr. beschrieben und bis heute genauestens untersucht.⁴¹

Ein wichtiger Zelltyp blieb jedoch lange verborgen: Die „Pancreatic stellate cell“ = Pankreas Sternzellen (PSZ). Watari beschrieb diese Zellen erstmals 1982 unter dem Elektronenmikroskop am menschlichen Pankreasgewebe.⁹¹

Erst 16 Jahre später wurden Methoden entwickelt um die PSZ zu isolieren und in Kultur zu bringen. Durch diese komplexen Isoliermethoden konnten weitergehende Arbeiten an den PSZ erst ermöglicht werden.^{6,8} Jüngste Ergebnisse zeigen, dass die PSZ maßgeblich an der Pankreasfibrogenese beteiligt sind. Die PSZ induzieren eine vermehrte Anreicherung von extrazellulärer Matrix ECM (inklusive Kollagen). Hierbei ist die natürliche Balance zwischen der Anreicherung und Abbau von ECM gestört mit konsekutivem fibrotischem Umbaus des Pankreasparenchyms.^{26,28,90}

Die PSZ lagern sich um pankreastische Azinuszellen, sowie um kleine Pankreasgänge und Blutgefäße an.^{6,43,91} (s. Abbildung 8). Sie haben die Fähigkeit Acetylcholin abzusondern und dienen physiologisch im gesunden Pankreasgewebe als eine elektromechanische & humorale Schnittstelle zwischen den pankreatischen Nervenenden und Azini.^{29,67} Sie umfassen ungefähr 4-7% der gesamten Zellmasse.^{6,8} In der gesunden Bauchspeicheldrüse weisen PSZ reichlich Vitamin-A-haltige Fettvakuolen in ihrem Zytoplasma auf und sind in einem Ruhezustand. Sie können aufgrund der unterschiedlichen Expression von spezifischen Markern (Desmin, Glial fibrillary acidic protein, Vimentin und Nestin) und neuroektodermalen Markern (Nervenwachstumsfaktor (NGF)), von den Fibroblasten unterschieden werden. Unter dem Elektronenmikroskop imponieren die PSZ durch ein raues endoplasmatisches Retikulum, Kollagenfibrillen und Vakuolen um einen zentralen Kern.⁷

Aus dem Ruhezustand werden die PSZ durch verschiedene Faktoren aktiviert. Ein wichtiger Trigger-Faktor ist dabei Alkohol und dessen Metabolite, Acetaldehyd und Fettsäureethylester.⁵ Ebenfalls spielen Wachstumsfaktoren, Transforming Growth Factor β (TGF β), Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF α) und Interleukine (IL) eine entscheidende Rolle.^{28,90} Weiterhin können oxidative Stress und der erhöhte intraduktale Druck während der Pankreatitis die Aktivierung der PSZ weiter triggern.^{22,44,88} Die aktivierte PSZ produzieren selber Entzündungsmediatoren (einschließlich TGF β und Interleukine) so dass, sie selber in der Lage sind in einem aktivierten Zustand auch in Abwesenheit der anfänglichen Triggerfaktoren zu bleiben. Dies ist wohlmöglich dafür verantwortlich, dass trotz Eliminierung der Erstmediatoren (z.B. Alkohol) es zur Ausbildung der chronischen Pankreatitis kommt (s. Abbildung 9).^{2,4,7,47,59,77}

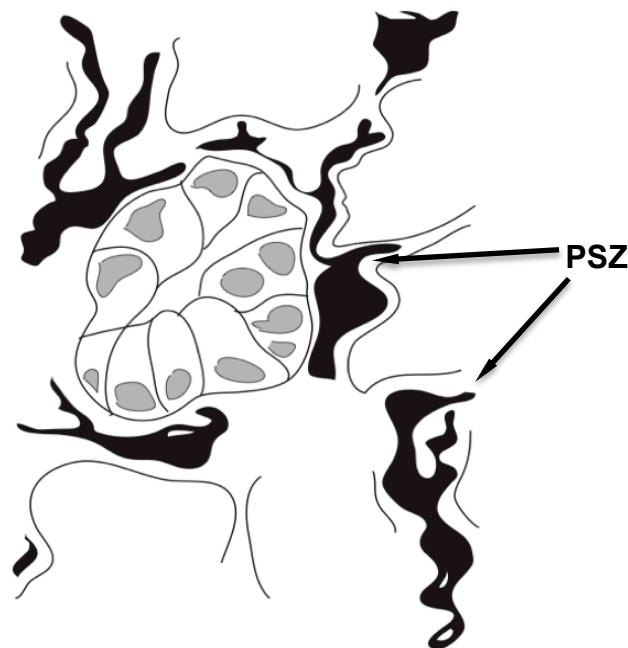


Abbildung 8 Pancreatic Stellat Cell

Sind die PSZ einmal aktiviert, führt es zu einem Abbau der Vitamin-A-haltigen Fettvakuolen und zu einer Umwandlung der Zellen in einen Myofibroblasten ähnlichen Phänotyp, welche das Zytosklettprotein α Smooth Muscle Actin (α SMA) exprimieren.⁷ So charakterisieren eine gesteigerte bzw. initiierte α SMA

und Kollagen Expression den Aktivierungsgrad der PSZ, das mit einem höheren fibrotischen Umbau des Pankreas (Desmoplasie) assoziiert ist.

Der fibrotische Umbau des Pankreas stellt ein erhöhtes Risiko für die Progression der chronischen Pankreatitis als auch die Entstehung eines Pankreaskarzinoms dar.

(Weiter Funktion der PSZ in Paper 2014 Wilson: Stars and stripes in pancreatic cancer: role of stellate cells and stroma in cancer progression, Apte: The Fibrosis of Chronic Pancreatitis: New Insights into the Role of Pancreatic Stellate Cells) ⁹²

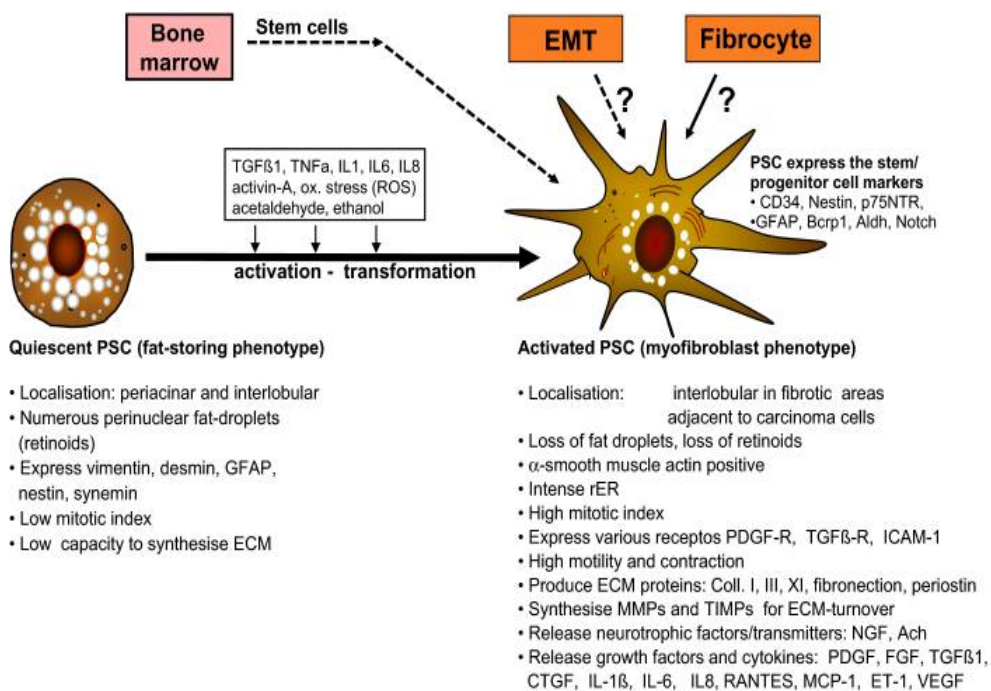


Abbildung 9 Triggerfaktoren PSZ ²⁸

1.2 Die Pankreasfistel

Die interne Pankreasfistel ist charakterisiert durch einen Austritt von Pankreassaft in die freie Bauchhöhle, die zu einem nach einem stumpfen Bauchtrauma mit konsekutiver Pankreasruptur entstehen kann oder durch die weitaus häufigere Form nach einer Pankreasresektion. Als auslösender Faktor für die chirurgische Pankreasfistel ist meistens eine Insuffizienz der Pankreatikojejunostomie bzw. Pankreatikogastrostomie oder die Pankreasnaht nach Pankreaslinksresektion verantwortlich. Davon zu unterscheiden ist die „externe“ Fistel = pankreatikokutane Fistel, welche eine direkte Verbindung zur Bauchdecke aufweist.

1.2.1 Definition und Klassifizierung nach der ISGPF

Jahrelang gab es keine einheitliche Definition der Pankreasfistel. Einige Studien beriefen sich bei ihrer Einteilung auf die Menge, einige Andere auf die Dauer der Sekretion und wiederum Andere auf die Amylase-Konzentration des Sekrets.^{20 73 12} Im Mai 2005 wurde durch Bassi und Kollegen einer internationalen Expertengruppe eine einheitliche Klassifizierung der postoperativen Fisteln vorgeschlagen (International Study Group on Pancreatic Fistula Definition/ ISGPF).

Die ISGPF definiert die postoperative Pankreasfistel als die Existenz einer Flüssigkeit (unabhängige Menge), welches über eine intraoperativ oder postoperativ (z.B. mittels CT oder US) eingelegte Drainage am oder nach dem dritten postoperativen Tag abfließt. Diese Drainage-Flüssigkeit muss dabei einen Amylase-Gehalt über mindestens das Dreifache der oberen normalen Amylase-Serumkonzentration haben.¹³ Die weitere Einteilung in die verschiedenen Schweregrade (A/B/C) erfolgt nach dem klinischen Zustand des Patienten und der fistelbedingten Interventionen. Die weiteren Faktoren, die ebenfalls eine Rolle in der Klassifizierung spielen, sind die eventuelle

Neuanlage einer Drainage, die Persistenz der liegenden Drainage, die Sichtbarkeit der Flüssigkeitsformation im CT (falls vorhanden), die Infektionsparameter, eine eventuelle Sepsis, eine Revisionsoperation und schlussendlich der Tod des Patienten. Eine CT oder US-Untersuchung ist nach der ISGPF nicht zwingend für die Klassifizierung notwendig. Die genaue Einteilung der ISGPF-Leitlinie ist in der Tabelle 1 zusammengefasst.¹³

Pankreasfistel Grad A

Die Pankreasfistel Grad A ist die klinisch leichteste Form. Die Patienten befinden sich in einem guten klinischen Zustand und die Fistel ist eher ein Zufallsbefund ohne klinische Relevanz.¹³

Pankreasfistel Grad B

Im Gegensatz zur Pankreasfistel Grad A ist die Grad B Fistel klinisch relevanter. Patienten mit einer Grad B Fistel haben Infektionszeichen (Temp. >38°, Leukozytose, lokale Rötung, Verhärtung oder eitriges Sekretion aus Drainage) ohne Zeichen einer Sepsis. Die Patienten sind meist in einem guten klinischen Zustand, benötigen jedoch meist eine zusätzliche Therapie (Details unter 4.2.3).¹³

Pankreasfistel Grad C

Dieser Fistelgrad ist klinisch von erheblicher Relevanz. Die Patienten sind in klinisch schlechten Zustand. Neben der Sepsis, welche sich mit einer lokalen Infektion und positiven Blutkultur mit Zeichen einer Bakteriämie (d.h. Schüttelfrost, Rigor etc) oder einer hämodynamischen Dekompensation durch hohe Herzleistung und niedrigem Schlagvolumen, oder mit Temperaturen über 38°C für 24 h äußern, lauern weitere Gefahren. So können durch den aggressiven Pankreassaft bedingte Arrosionsblutungen hervorgerufen werden. Die Patienten sind bei dieser Fistelstufe in potentieller Lebensgefahr und benötigen eine intensivmedizinische Betreuung und Therapie von Anfang an (Details unter 4.2.3).

Kriterien und Grandeinteilung der Pankreasfistel (nach ISGPF)

	Keine Fistel	GradA Fistel	Grad B Fistel	Grad C Fistel
Drainagen- amylase (obere Serumamylase)	<3x	>3x	>3x	>3x
Klinischer Zustand	Gut	Gut	Meistens gut	Krank/ schlecht
Fistelbedingter Behandlungs- bedarf	Nein	Nein	Manchmal ja	Ja
US/CT(falls vorhanden)	Negativ	Negativ	Negativ/ Positiv	Positiv
Liegedauer Drainage>3Wo	Nein	Nein	Manchmal ja	Ja
Infektions- zeichen	Nein	Nein	Ja	Ja
Neuanlage Drainage	Nein	Nein	Ja/Nein	Ja/Nein
Sepsis	Nein	Nein	Nein	Ja
Reoperation	Nein	Nein	Nein	Ja
Fistelbed. Tod	Nein	Nein	Nein	ja

Übersetzt von ⁶⁸ adaptiert an ¹³

Tabelle 1 Einteilung der Fistel nach ISGPF

Seit der Einführung der ISGPF-Klassifikation wurden bereits einige unabhängige Studien zur Evaluation der Relevanz der Klassifikation durchgeführt. Immer wieder wurde gezeigt, dass die ISGPF-Klassifikation eine gute Einteilungsmethode ist, um die Pankreasfistel objektiv zu erfassen und diese Werte mit anderen Studien zu vergleichen.^{24,68}

Die Internationale Study Group Pancreatic Fistula (ISGPF) ist eine anerkannte und weltweit genutzte Methode zur Einteilung der Pankreas-Fistel

1.2.2 Ursache für Pankreasfisteln nach Pankreaslinksresektion

Pankreasfisteln können im Allgemeinen durch Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse, Traumata oder Operationen verursacht werden. Die Entstehung von Pankreasfisteln charakterisiert weiterhin ein bedeutendes und ein bisher noch nicht gelöstes Problem in der Pankreaschirurgie. Daher ist die Pankreasfistel ständig im Fokus der chirurgischen Forschung, um mögliche Präventionsansätze zu identifizieren und letztendlich auch zu definieren.

Im Folgenden werden die perioperative Faktoren, die die Entstehung der Pankreasfistel unterstützen näher charakterisiert.

Konsistenz des Pankreas (=Stiffness)

In einer postoperativen Untersuchung von 1981 Patienten nach Pankreaskopfresektion konnte festgestellt werden, dass das „weiche“ Pankreasgewebe, mit einem bis zu 20-fach höheren Fistelrate von 22.6%, assoziiert ist.⁵⁷ Eine Vielzahl von Untersuchungen konnten dieses Risiko für die Entstehung von postoperativen Pankreasfisteln bei „weichem Pankreata“ bestätigen.^{11,21,73,93,94} In diesem Zusammenhang scheint nachvollziehbar, dass das nicht bzw. gering fibrotisch umgebaute Pankreas, das sogenannte „weiche Pankreas“, häufiger zu postoperativen Fistel führt. Diese Erklärung für

die erhöhte Rate an Pankreasfisteln scheint folgerichtig, da das weiche Pankreasgewebe meist brüchiger ist und somit schwieriger zu anastomosieren ist. Somit scheint die Stiffness des Pankreas maßgeblich an der Entstehung von postoperativen Pankreasfisteln beteiligt zu sein.

Pankreasresektionseite

Es ist nachgewiesen, dass nach Pankreaslinksresektion (etwa 30%) eine deutlich höhere Fistelrate als nach Pankreaskopfresektionen (etwa 3%) zu vermerken ist. Die Pankreaskopfresektion ist die chirurgisch anspruchsvollere Operation, bei der eine Verbindung zwischen einer Jejunalschlinge oder dem Magen und des Pankreasstumpfes gesetzt werden muss. Bei der Pankreaslinksresektion erfolgt „lediglich“ ein einfacher Verschluss des Pankreasstumpfes. Dies lässt sich dadurch erklären, dass nach einer Pankreaskopfresektion der zur Anastomose liegende Teil distal des Tumors/ der Gewebsveränderung liegt und daher eher fibrotisch verändert ist. Nach der Pankreaslinksresektion wird der Stumpf proximal des Tumors, also im eher nicht-fibrotischen Teil, verschlossen und somit kommt es im nicht-fibrotischen Teil eher zu einer Fistelbildung.⁶⁶ Eine weitere Erklärung ist, dass im Rahmen der Pankreatikojejunostomie bzw. Pankreatikogastrostomie der Pankreasgang intestinal drainiert wird. Bei der Pankreaslinksresektion wird der Gang chirurgisch durch Naht oder Staplertechnik verschlossen, was im Vergleich zur Pankreaskopfresektion eine klare Schwachstelle darstellt.

Parenchymschäden

Nicht nur technische Ursachen (Anastomosen-Insuffizienz) können zu Pankreasfisteln führen, sondern auch anatomische Norm-Varianten können für die Entstehung mitverantwortlich sein. Im Pankreasparenchym kann es in der Nähe der Schnittfläche zu einer Unterbrechung des Gangsystems und somit zu einem fehlenden Abfluss des Pankreassekrets in den Pankreashauptgang kommen. Die durch die Stauung des Pankreassekrets

entstandene fokal-nekrotisierende Pankreatitis kann die Entstehung einer Pankreasfistel unterstützen.⁵⁰

Blutversorgung

Die ausreichende Blutversorgung an den Schnitträndern des Pankreas spielt eine entscheidende Rolle in der Prävention von Pankreasfisteln. Die Studie von Strasberg et al. zeigte eine signifikante Reduktion der Pankreasfistelrate und Anastomoseninsuffizienzen bei ausreichender, arterieller Versorgung der Schnittränder nach Pankreaskopfresektionen.⁸¹

Gangweite

Die Weite des Pankreasganges konnte in einigen Arbeiten als ein weiterer Prädiktor zur Entstehung der Pankreasfistel identifiziert werden. So zeigte sich, dass bei einer kleinen, nicht-dilatierten Gangweite < 3mm es zu einer erhöhten Fistelbildung kommt.⁸⁹ In weiteren Studien zeigte sich, dass Patienten mit einem dilatierten Pankreasgang (> 5mm) nur zu etwa 7% eine Fistel entwickeln, im Vergleich zu Patienten mit einem engeren Pankreasgang (< 3mm) die eine Fistelrate bis 20% aufwiesen.^{45,65,78,89 66,69}

1.2.3 Die Behandlung der Pankreasfistel

Die postoperative Pankreasfistel ist weiterhin eine therapeutische Herausforderung, welche eine interdisziplinäre Behandlung des Patienten voraussetzt. Sie muss früh erkannt und adäquat behandelt werden, um eventuelle Folgekomplikationen zu verhindern. Entsprechend des klinischen Zustandes des Patienten reicht der Interventions-Repertoire von einer einfachen Drainage der Fistel bis hin zur Revisionsoperation.

	Keine	Grad-A	Grad-B	Grad-C
Gesamt-Verweildauer [Tage]	8	8	13	35
Verweildauer Intensivstation [Tage]	0	0	0	10
Weitere Komplikation außer Pankreasfistel [(%)]	37	12	76	100
Bluttransfusionen [Pat (%)]	13	8	69	50
Notwendige AHB [Pat (%)]	16	4	33	83

Tabelle 2 Veränderung der klinischen Parameter nach Fistelgrad angelehnt an Pratt et al⁶⁸

Die Kosten, die dabei entstehen, erstrecken sich von der verlängerten Liegezeit (Bett, behandelndes Personal) über Medikamenten-, Radiologie-, Labor-, Intensivkosten bis hin zu erneuten Operationskosten.⁶⁸ So steigt die durchschnittliche Gesamtkrankenhaus-verweildauer von 8 Tagen bei fistelfreien Patienten bis auf 35 Tage bei Patienten mit Grad C Fistel an. Diese hohe Diskrepanz erklärt sich dadurch, dass 83% der Patienten mit Grad-C-Fistel auf der Intensivstation behandelt werden müssen und bis zu 50% der Patienten eine Bluttransfusionen benötigen. Des Weiteren ist die Pankreasfistel Grad C signifikant höher mit einer weiteren Komplikation assoziiert als bei einem Patienten ohne eine Fistel (siehe Tabelle 2). Die Gesamtkosten der Behandlung steigen dabei von 18.000 \$ auf 119.000 \$ an (siehe Tabelle 3).⁶⁸

Kosten [Dollar \$]	keine	Grad-A	Grad-B	Grad-C
Gesamt-Krankenhaus	18 855	18 075	25 158	119 083
Radiologie	223	203	1 243	3 469
Medikamente	869	854	1 406	7 879
Labor	527	515	889	4 248
Zimmer	7 015	6 848	10 415	16 574
Intensivstation	837	731	2101	51 695
Bluttransfusionen	142	115	431	4 085
Operation	4 714	4 511	4 821	7 786

Tabelle 3 Kosten nach Fistelgrad angelehnt an Pratt et al⁶⁸

Fistel Grad A

Die unkomplizierte Fistel Grad A wird in der Regel durch die bereits intraoperativ eingelegte und in situ belassene Drainage und durch die Überwachung der klinischen Parameter ausbehandelt. Neben der klinischen Überwachung sollte der Amylase und Lipase-Gehalt der Fistelflüssigkeit regelmäßig kontrolliert werden. Ebenfalls sollte die 24-Stunden-Förderleistung der Fistel notiert werden und die Entzündungsparameter (z.B. Leukozyten, CRP) bestimmt werden. In der Regel ist eine Therapie mittels Drainage von etwa zwei bis vier Wochen nötig, bis es zu einem spontanen Verschluss der Fistel kommt. Während dieser Zeit können klinisch unauffällige Patienten mit Drainage unter der Voraussetzung, dass regelmäßige ambulante Kontrollen erfolgen, sogar entlassen werden.^{36 49}

Fistel Grad B

Kommt es zu einem Anstieg der Infektionsparameter, sollte die Indikation zur erneuten Drainagenanlage (meist CT-gesteuert) gestellt werden um weitere Komplikation durch den nicht-drainierten Pankreassaft zu vermeiden. Nach ISGPF-Klassifikation spricht man nun von einer Grad B Fistel. Oft ist bei dieser Art von Fistel noch eine zusätzliche Antibiotika-Behandlung nötig. Meist bleibt dann der weitere Verlauf unauffällig und es kommt zu einer Sistierung des Pankreassekrets innerhalb von zwei bis vier Wochen.^{36, 49}

Fistel Grad C

Die Grad C Fisteln erfordern, im Gegensatz zu der A und B Fistel, ein aggressiveres Vorgehen in der Therapie, um z.B. die Entwicklung von lebensgefährlichen Blutungen (z.B. Arrosionsblutungen aus der A. lienalis/gastroduodenalis) zu verhindern. Die im Pankreassaft enthaltenen Enzyme führen in Kombination mit einer bakteriellen Superinfektion zu einer Arosion der Gefäße, so dass Blutungen entstehen können.²⁰ Diese oft dramatisch verlaufenden Blutungen verlaufen zumeist lebensgefährlich. Bei Verdacht auf eine solche Blutung muss der Patient sofort intensivmedizinisch stabilisiert werden. Danach sollte sofort eine Diagnostik mittels KM-CT und einer arterielle Angiographie erfolgen. Dies dient nicht nur zur Detektion sondern auch zur Therapie der Blutungen. Die Blutungen können entweder durch Embolisation der Gefäße oder durch eine Stentimplantation gestillt werden.^{9, 79} Sollte die Blutung durch radiologische Interventionen nicht kontrollierbar sein, muss zügig eine Revisionsopertion erfolgen. In diesen Fällen ist eine Ligatur des entsprechenden Gefäßes nötig. Die Indikation zu einer Restpankreatektomie sollte nach Abwägung der Risiken (weitere Fistel mit Blutungen vs. Diabetes mellitus) gestellt werden.^{20, 16} Auf jeden Fall ist neben der Blutstillung eine umfangreiche Spülung des Bauches und eine erneute Drainagenanlage zwingend notwendig.^{36,40,49}

Somatostatin

Somatostatin ist ein Peptidhormon, welches während der Verdauung vom endokrinen Teil (δ -Zellen) des Pankreas ausgeschüttet wird. Vereinzelt wird es auch in den Zellen des Hypothalamus und des Gastrointestinaltraktes gebildet. Somatostatin hemmt die Sekretion von Pankreasenzymen, Gastrin, Sekretin, Cholecystokinin, Renin und Pepsin. Daher wird es zur Therapie von schweren Ulkus-, bzw. Ösophagusvarizen-Blutungen und zur Therapie von stark sezernierenden postoperativen Pankreasfisteln eingesetzt. Meist wird es bereits prophylaktisch nach Pankreasoperationen zur Verhinderung einer Fistel verwendet.

Bereits 1979 beschrieb Klempa et al. in einer Studie, dass die postoperative Morbidität durch intravenöse Infusionstherapie mit Somatostatin bei der Whipple'schen Operationen deutlich rückläufig war.⁵¹ Seitdem gab es viele Studien, die sich mit der Somatostatin-Therapie nach Pankreasoperationen auseinandersetzten. Einige dieser Studien bewiesen eine Effektivität der Therapie (Suc et al.⁸³, Friess et al.^{32, 33}), andere zeigten das sich nichts an der Morbidität änderte (Sarr et al.⁷², Yeo⁹⁴). Die Metaanalyse von Koti et al. 2010 zeigte, dass es zu einer signifikanten Reduktion der Fistel- und Sepsisrate kommt, aber dass die klinisch relevanten Fisteln nicht reduziert werden konnten. Auch andere Komplikationen wie Anastomosen-insuffizienz, postoperative Pankreatitis, Nierenversagen, Blutungen, infiziert abdominale Verhalte, verzögerte Magenentleerung, pulmonale Komplikationen, Schock oder Tod werden laut dieser Analyse nicht vermindert.⁵³ Auch in der Meta-Analyse von Gans et al. 2012 zeigte sich, dass die Therapie mit Somatostatin-Analoga nicht zu einem höheren Verschluss von Pankreasfistel führt.³⁴ So bleibt die Anwendung von Somatostatin-Analoga umstritten, aber auch wegen der geringen Nebenwirkungen wird diese Therapie (Octreoid 3x 100mg/Tag s.c für 7 Tage) an vielen Kliniken fortgeführt um den minimalen Vorteil auszunutzen.

Pasireotid

Hoffnung bringt das neue Somatostatin-Analogon Pasireotid (s. Abbildung 10). Es hat eine deutlich höhere Affinität zu vier der fünf Somatostatin-Rezeptoren und eine längere Halbwertszeit als Octreoid (s. Tabelle 4).

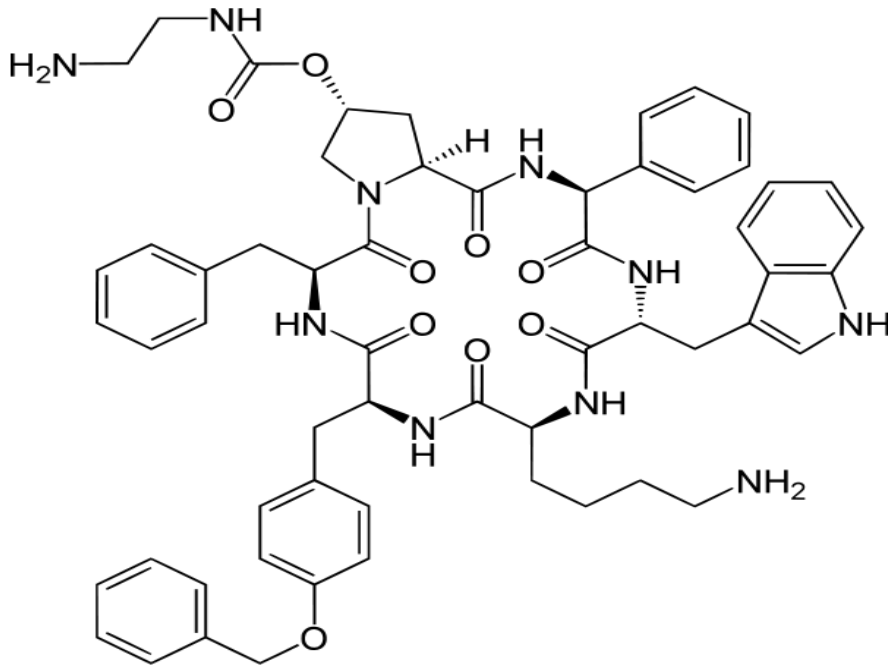


Abbildung 10 Pasireotid Molekül

In der monozentrisch, randomisiert, doppelverblindeten Studie von Allen et al wurde das neue Präparat an 300 Patienten, welche eine Duodenopankreatektomie oder distalen Pankreatektomie erhielten, getestet. 152 Patienten wurde Pasireotid ab dem Operationsmorgen (vor dem Operationsbeginn) für insgesamt 7 Tage zweimal am Tag 900µg s.c. (insgesamt 14x) verabreicht. Die Kontrollgruppe erhielt Placeboinjektionen. Die Ergebnisse zeigten das die klinisch relevanten Grad B und C Fisteln signifikant reduziert werden konnten. So hatten in der Placebo-Gruppe 20 Patienten eine Grad B und 5 Patienten eine C-Fistel. In der Pasireotid-Gruppe hatten lediglich 12 Patienten eine Grad B Fistel und keine Patienten eine Grad-C-Fistel ($P = 0,02$). Auch die Gesamtzahl aller Komplikationen war in der der Pasireotide-Gruppe mit 11,2% gegenüber der Placebogruppe mit 25,0 % signifikant reduziert ($P = 0,002$). Jedoch sah man in der Pasireotide-Gruppe

eine häufigeres Auftreten von starker Übelkeit, welches einem vorzeitigen Abbruch der Pasireotid-Injektionen führte (17,76 %). In der Kontrollgruppe trat dies lediglich bei bei 2,03 % der Patienten auf.¹ Momentan ist das Produkt in Deutschland noch nicht zugelassen

Substanz	hsst1	hsst2	hsst3	hsst4	hsst5
Somatostatin	0,93±0,12	0,15±0,02	0,56±0,17	1,5±0,4	0,29±0,04
Pasireotid	9,3±0,1	1,0±0,1	1,5±0,3	>1000	0,16±0,01
Octreotid	280÷80	0,38±0,08	7,1±1,4	>1000	6,3±1,0

Tabelle 4 Affinität zu den 5 Untergruppen der Somatostatin Rezeptoren

1.3 Die Pankreaslinksresektion

Die Pankreasresektion in Kombination mit einer additiven Chemotherapie (Gemcitabine) ist weiterhin die einzige Therapieoption, die bei dem duktalem Adenokarzinom des Pankreas eine Chance auf Heilung bietet. Durch die Verfeinerung der Operations-Techniken mit funktions- und organerhaltenden Verfahren ist die Resektion ebenfalls eine gute Option bei der Behandlung von Patienten mit chronischer Pankreatitiden und gutartigen Pankreaserkrankungen.⁴⁰

1.3.1 Definition und Indikation

Definition

Die Pankreaslinksresektion (= distale Pankreatektomie) erfolgt bei benignen oder malignen Läsionen im Korpus oder Schwanz des Pankreas. Zum ersten Mal wurde die distale Pankreasresektion durch Mayo im Jahre 1913 beschrieben. Aufgrund der anatomischen Nachbarschaft der A. und V. lienalis erfolgt eine en bloc Resektion des Pankreasschwanzes mit der benachbarten Milz.³ Nach Mobilisation der Milz wird der Pankreas je nach Lage der Läsion links der Pfortader nach Absetzung der A. und V. lienalis durchtrennt.⁴⁹ Zunehmend wird gerade bei gutartigen Erkrankungen des Pankreas auf milzerhaltende Techniken zugegriffen. Bei bösartigen Erkrankungen geht eine adäquate Lymphadenektomie dem Milzerhalt vor.³ Die Techniken zum Verschließen des verbleibenden Pankreasstumpfes werden weiter unten beschrieben (siehe 2.3.2)

Indikation und Fakten

Die Indikation zur elektiven Pankreaslinksresektion wird vor allem bei unklaren Pankreaskorpus- bzw. Pankreasschwanztumoren und bei der chronischen Pankreatitis gestellt.⁵⁶

Das wichtigste Ziel im Rahmen der chronischen Pankreatitis ist die Linderung von therapieresistenten Schmerzen.⁷⁴ So zeigte sich in diversen Studien eine

Schmerzlinderung von etwa 75-82%^{31,14}

Jedoch kann wie bereits erwähnt auch bei benignen (z.B. IPMN, 22%) , malignen (18%) und neuroendokrinen (14%) Tumoren und Pseudozysten (6%) im Pankreaskorpus und/ oder –schwanz die Indikation zur Pankreaslinksresektion gestellt werden.⁵⁶ Drei Viertel der Pankreastumore entstehen am Kopf, 20% im Korpus und 5% im Schwanz.⁷⁵ Somit fallen 25% der Tumore in den Resektionsbereich des distalen Pankreas. Das duktales Adenokarzinom ist dabei der häufigste maligne Tumor des Pankreas (95%). Die Inzidenz liegt bei zehn Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner und Jahr. Unter den Krebserkrankungen steht das Pankreaskarzinom mit etwa drei Prozent an Stelle 12. Auf Grund seiner hohen Letalität ist er auf Platz 5 aller Krebstodesfälle.^{3,16,20,49,53,75} Trotz vieler Therapieansätze (wie z.B. die Radio-Chemotherapie) ist die radikale Resektion des Tumors mit einer additiven Chemotherapie (Gemcitabine) immer noch die einzige Chance auf Heilung.
15,18,19,61

1.3.2 Verschlusstechniken nach Pankreaslinksresektion

Seit der Erstbeschreibung der Pankreaslinksresektion durch Mayo im Jahre 1913 gab es diverse Studien, um die Verschlusstechnik des Pankreasstumpfes nach der Resektion zu optimieren. Komplikationen, insbesondere die Pankreasfistel, sollen durch die neuen Methoden verhindert oder zu mindestens reduziert werden.

Handnaht

Bei dieser Technik wird nach der fischmaulartiger Resektion (meistens mittels Skalpell) zuerst der Pankreasgang mit einer Umstechungsligatur verschlossen. Dies zeigt laut Bilimoria et al bereits eine deutliche Reduktion der Fistelrate.¹⁷ Das Pankreasparenchym wird dann durch U-Nähte oder Einzelknöpfnähte fischmaulartig verschlossen (s. Abbildung 11 a).³⁷

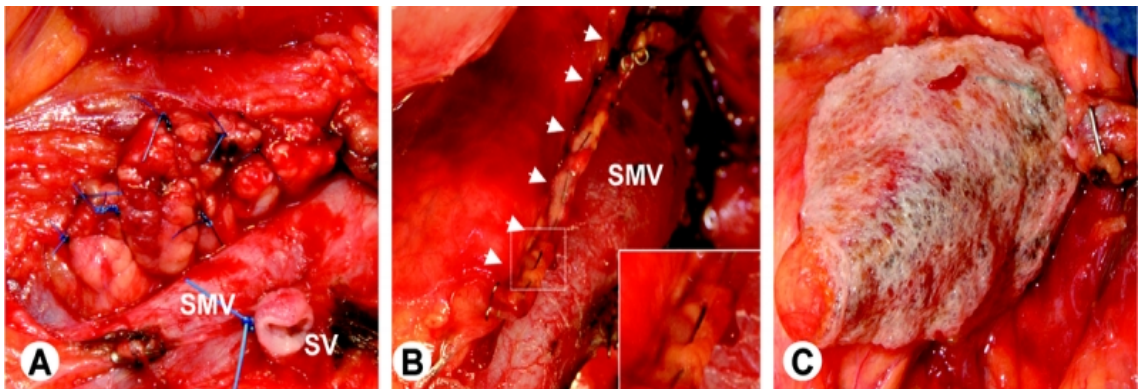


Abbildung 11 Verschiedene Verschlusstechniken A Einzelknopf, B Stapler, C Fibrinkleber, Bilder mit freundlicher Genehmigung von Prof. Jörg Kleeff

Stapler

Der Stapler ist ein Instrument welches erlaubt schnell und unabhängig von Erfahrung des einzelnen Chirurgen Anastomosen und Resektionen durchzuführen. Bereits die alten Ägypter 2000 v. Chr. wurden die ersten Stapler (Beißzangen von Ameisen) benutzt, um Wunden zusammenzuhalten.⁴² Ab dem 19. Jahrhundert erfolgte dann eine kontinuierliche Weiterentwicklung bis hinzu den heutigen Staplern. In der

distalen Pankreasresektion werden meist lineare 180-Grad-Stapler verwendet. Diese verschließen den Pankreasstumpf mit doppelten Klammerreihen, welche gegeneinander versetzt liegen. Das Gewebe dazwischen wird im selben Arbeitsschritt durchtrennt (s. Abbildung 11b und 12).⁵⁵ In einigen Studien wurde der Stapler als die bessere Verschlusstechnik, bezüglich der Pankreasfisteln, beschrieben.^{10,30,46,76} Jedoch waren diese Studien größtenteils unizentrisch und mit niedrigen Fallzahlen belegt. Die Metaanalyse von Knaebel et al und die multizentrisch, randomisiert, kontrollierte DISPACT-Studie von Diener und Kollegen zeigten, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Handnaht- und dem Staplerverschluss gibt.^{23,52}

In diesem Zusammenhang scheint die Pankreas-Parenchymdicke eine klinisch relevante Rolle zu spielen, wenn bei einer Pankreaslinksresektion das Pankreasparenchym durch einen Stapler durchtrennt werden soll. Hierzu zeigten Okano und Kawai und Kollegen, dass eine Parenchymdicke von >16mm bzw. >12mm einen unabhängigen prognostischen Faktor für die Entwicklung einer Pankreasfistel nach einer Pankreaslinksresektion darstellt.⁶³

48

Fibrinkleber

Nach Resektion des distalen Pankreas wird auch bei dieser Methode der Hauptgang mit einer Durchstechung ligiert. Anschließend erfolgt die Verteilung eines speziellen Fibrinklebers auf dem verbliebenen Stumpf (s. Abbildung 11c). Hierbei zeigt sich eine Reduktion der Fistelrate von 40 auf 15,4% bzw von 25,5 auf 9,3 %.^{62,85} Jedoch sind diese Studien wegen der geringen Teilnehmerzahl bedingt aussagekräftig.

Ultraschall-Dissektion

Bei dieser Methode erfolgt die Dissektion des Pankreas mittels eines Ultraschall-Gerätes. Anschließend wird der Hauptgang zusätzlich mit einer Durchstechung ligiert. Die Studie von Suzuki et al zeigte, dass diese Methode gegenüber der Handnaht die Fistelrate von 25,8 % auf 3,7 % reduzierte.⁸⁶ Jedoch wurde die US-Dissektion nur bei wenigen Patienten, welche einen

weichen und nicht-fibrotischen Pankreas, sowie einen nicht-dilatierten Hauptgang hatten, angewandt. Durch diese Prä-Selektion der Patienten sind die Daten der Studie eingeschränkt auf Patienten übertragbar.

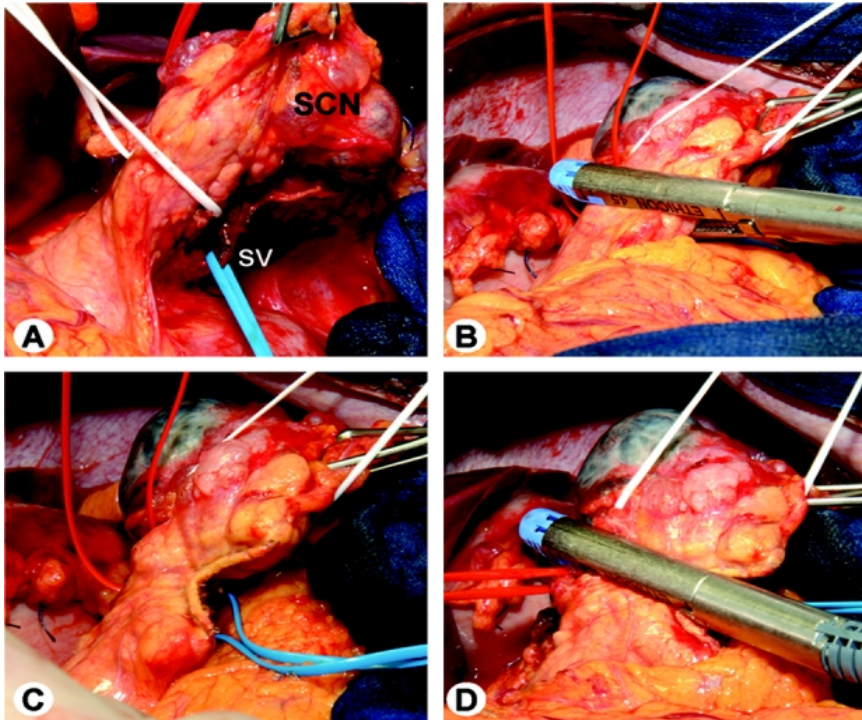


Abbildung 12 Pankreaslinksresektion mittels Stapler, Bilder überlassen mit Genehmigung von Prof. Jörg Kleeff

Pankreatikoenterostomie

Die Indikation zur Durchführung einer Anastomose zwischen dem Pankreas und dem Jejunum wird nur bei einer proximalen Obstruktion des Pankreashauptganges in Richtung des Duodenums gestellt. Dies ist meist in der präoperativen Bildgebung zusehen. In seltenen Fällen wird diese sehr selektive Indikation intraoperativ gestellt, wenn eine Sondierung des Ganges nicht möglich ist.⁴⁹ Meniconi und Kollegen verglichen in Ihrer Studie den Blindverschluss des Pankreas mit einer reinen Handnaht mit einer Pankreatikojejunostomie nach offener Pankreaslinksresektion. 36 Patienten wurden eingeschlossen, hierbei wurde bei 24 Patienten der Pankreasstumpf mittels Handnaht blind verschlossen und in 12 Fällen mittels einer

Pankreatikojejunostomie rekonstruiert. In der Handnaht-Gruppe zeigte sich eine Pankreasfistelrate von 29.1% wohingegen der Pankreatikojejunostomie-Arm eine Rate von beeindruckenden 0% aufwies ($p=0.005$). Auch unter Berücksichtigung einer deutlich erhöhten OP-Zeit scheint die Rekonstruktion mittels einer Pankreatikojejunostomie nach Pankreaslinksresektion eine gute Alternative zum einfachen Blindverschluss mittels Handnaht zu sein.⁵⁸

Seromuskulärer Patch

Nach Resektion und Verschluss des Pankreas mittels Stapler oder Handnaht wird bei dieser Technik ein gestielter seromuskulärer Patch, entweder vom Magen oder Dünndarm abgetrennt und auf den Pankreasstumpf genäht.^{60,64} Die Studie von Kleeff et al zeigte, dass diese Methode zwar die Fistelrate deutlich verringerte, aber zu einer deutlich höheren Rate von „Delayed gastric emptying“, also einer verzögerten Magenentleerung führte.⁴⁹

Bioabsorbale Staple Line Reinforcement

Bei dieser Methode wird bei der Pankreaslinksresektion während des Staplers ein Netz in das Gewebe eingesetzt (s. Abbildung 13).

In einer einfach-verblindeten, randomisierten und kontrollierten Studie wurde die Pankreaslinksresektion mit und ohne Netzverstärkung verglichen. Einhundert Patienten wurden eingeschlossen. 54 der Patienten erhielten ein Netzverstärkung 46 bekamen keine Netzverstärkung. Die klinisch relevanten Fisteln Grad B und C nach ISGPF wurden bei 1.9% (1/53) der Patienten mit Netz und bei 20% (11/45) der Patienten ohne Netzverstärkung ($p = 0.0007$) gesehen. So zeigte sich, dass ein Netzeinsatz durch den Stapler nach Pankreaslinksresektion zu einer signifikanten Reduktion der Fistelrate um 90% führte. Diese Technik muss jedoch noch in weiteren Studien genauer untersucht werden.³⁸

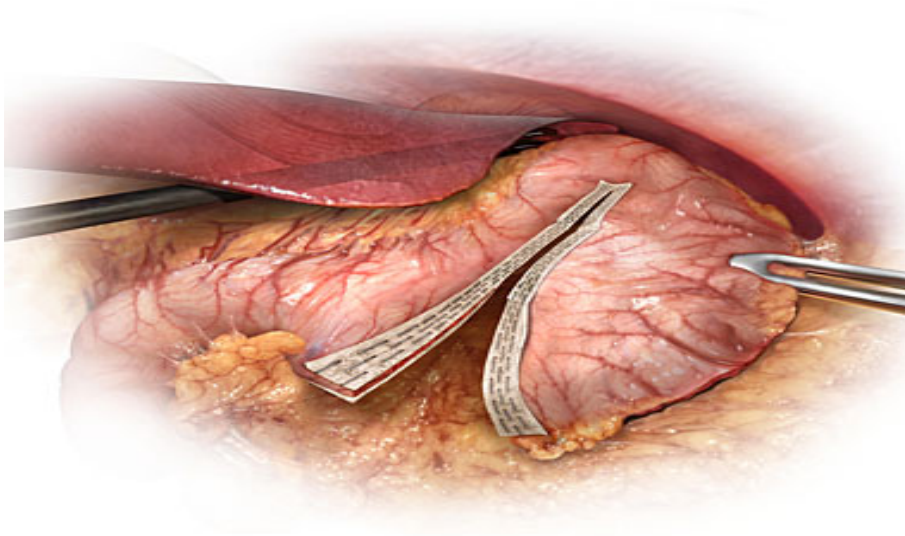


Abbildung 13 Gore® Seamguard® Bioabsorbable Staple Line

Stenting des Pankreasgangs

Ein Stent im D. wirsungianus kann helfen den Gang vor Verletzungen durch Nahtmaterial zu schützen und unbeabsichtigte Verengungen des Ganges zu reduzieren. Dadurch wird ein kontinuierlicher Abfluss des Pankreassekretes gewährleistet. In zwei voneinander unabhängigen Meta-Analysen mit bis zu 7 eingeschlossenen Studien und einer Gesamtpopulation von 724 Patienten, konnten Su ⁸² als auch Zhou ⁹⁵ und Kollegen eindrücklich nachweisen, dass eine interne Drainage der Pankreatikojejunostomie keine signifikanten Vorteile zur Pankreasfistel-Prophylaxe bietet. Interessanterweise zeigte sich sogar ein gegenteiliger Effekt. Bereits Su zeigte einen Trend zu einer höheren Pankreasfistelrate bei Patienten mit einem weichen Pankreas und einem internen Stent (OR=1.71; 95% KI=0.95-3.10; $p=0.08$) und dieser Trend konnte dann in einer signifikanten Weise durch die Arbeit von Zhou und Kollegen bestätigt werden (OR=2.03; 95% KI=0.99–4.16; $p<0.05$). Somit schlussfolgern beide Autoren, dass die interne Pankreasgangdrainage im Rahmen einer Pankreatikojejunostomie die Pankreasfistelrate nicht senkt, sie sogar bei weichen Pankreata erhöht und keinen positiven Einfluss auf das weitere

Patienten-Outcome hat. Diese Beobachtungen wurden auch durch Sachs et al⁷¹ bestätigt. In ihrer Studie konnte die interne Drainage weder die Inzidenz noch den Schweregrad der postoperativen Pankreasfisteln senken. In Einzelfällen wurde durch die interne Gangdrainage sogar der kurz- als auch langfristige Verlauf der Patienten negativ beeinflusst.

1.3.3 Weitere Komplikationen nach Pankreaslinksresektion

Durch den großen Fortschritt der Operationstechniken und der perioperativen intensivmedizinischen Betreuung der Patienten hat sich die Mortalität auf unter 5% in „High-Volume-Zentren“ reduziert.^{37,80} Doch im Bereich der Morbidität blieben die Zahlen bei 30-40% fast unverändert gleich. Neben der Pankreasfistel (26.4%)³⁰ sind das „Delayed gastric emptying“ (9.9%), die Blutung (4.8%), der Wundinfekt (4.8%) und der intraabdomineller Abszess die häufigsten Komplikationen nach Pankreasresektionen.³⁷

Delayed gastric emptying (DGE)

Die verzögerte Magenentleerung kann eine Vielzahl von klinischen Symptomen, wie Übelkeit, Erbrechen, frühes Sättigungsgefühl, Blähungen und Gewichtsverlust haben. Der genaue Mechanismus, der hinter dieser Störung liegt ist noch nicht ganz verstanden. Es wird vermutet, dass durch die Pankreatektomie zu einer Störung der nervalen Innervation am Magen und Darm kommt und dadurch die Transmitterausschüttung, welche die Erregbarkeit der glatten Muskulatur verändert, verhindert wird.³⁵

1.4 Der Activated-Strom-Index (ASI)

Erkan und Kollegen führten 2008 den Activated-Stroma-Index (ASI) erstmals als einen unabhängigen prognostischen Marker beim Pankreaskarzinom ein. Hier wurde das Pankreasgewebe von 233 Patienten untersucht, die von 2002 bis 2006 aufgrund eines duktales Adenokarzinom des Pankreas an der Universität Heidelberg operiert wurden. Es erfolgte, ähnlich wie in der vorgelegten Arbeit, die immunhistochemische Aufbereitung und computerunterstützte Bildanalyse von Paraffinschnitten zur Bestimmung und Quantifizierung des Desmoplasiegrads (ASI) im Pankreasgewebe.²⁶

In der Analyse der Schnitte zeigte sich, dass obwohl das Kollagen ein Produkt der aktivierten PSZ ist, nicht immer die höchste Kollagenablagerung an der gleichen Stelle mit der höchsten stromalen Aktivität (α SMA hoch) zu finden war.²⁶ Patienten die eine hohe Kollagenproduktion aufwiesen, hatten ein signifikant längeres Überleben ($p = 0.04$; s. Abbildung 14b). Dies ist dadurch zu erklären lt. Erkan et al, dass das Kollagen eine Art Kollagenkapsel um die Karzinomzellen bildet.

Bei Schnitten mit hoher PSZ-Aktivität (α SMA) zeigte sich eine Tendenz zur schlechteren Prognose, aber ohne eine Signifikanz ($p = 0.15$; s. Abbildung 14a).²⁶ Dies ist damit zu erklären, dass PSZ vermehrt durch Karzinomzellen /-triggerfaktoren aktiviert werden. Die Interaktion der PSZ mit den Karzinomzellen führt zu einem Abbau bzw. Umbau des Kollagen, wodurch die Kollagenkapsel um die Krebszellen durchbrochen wird und die Karzinomzellen ihre Invasivität steigern können.

Um die Bedeutung dieser unterschiedlichen Beobachtung näher zu untersuchen, entwickelten Erkan und Kollegen den *Activated-Strom-Index (ASI)* als Quotient aus α SMA und dem Kollagen.

$$\mathbf{ASI = \alpha SMA / Kollagen}$$

Nach Aufteilung der Kohorte in vier Quadranten (Q) in Abhängigkeit vom ASI zeigte bei geringer stromaler α SMA-Aktivität und hoher Kollagenproduktion eine bessere mediane Überlebensrate (Q1: low ASI = 25.7 Monate, 95% Konfidenzintervall 21.8-29,6 Monate; s. Abbildung 14c). Während bei hoher stromaler Aktivität und niedrigem Kollagen sich eine schlechtere Überlebensrate (Q4: high ASI = 16.1 Monate, 95% Konfidenzintervall 13.4-18.9 Monate; Abbildung 14c) zeigte. Der mittlere Unterschied in der Überlebensrate zwischen Q1 und Q4 lag bei 9,6 Monaten (siehe Abbildung 14d) zu Gunsten der Q1.

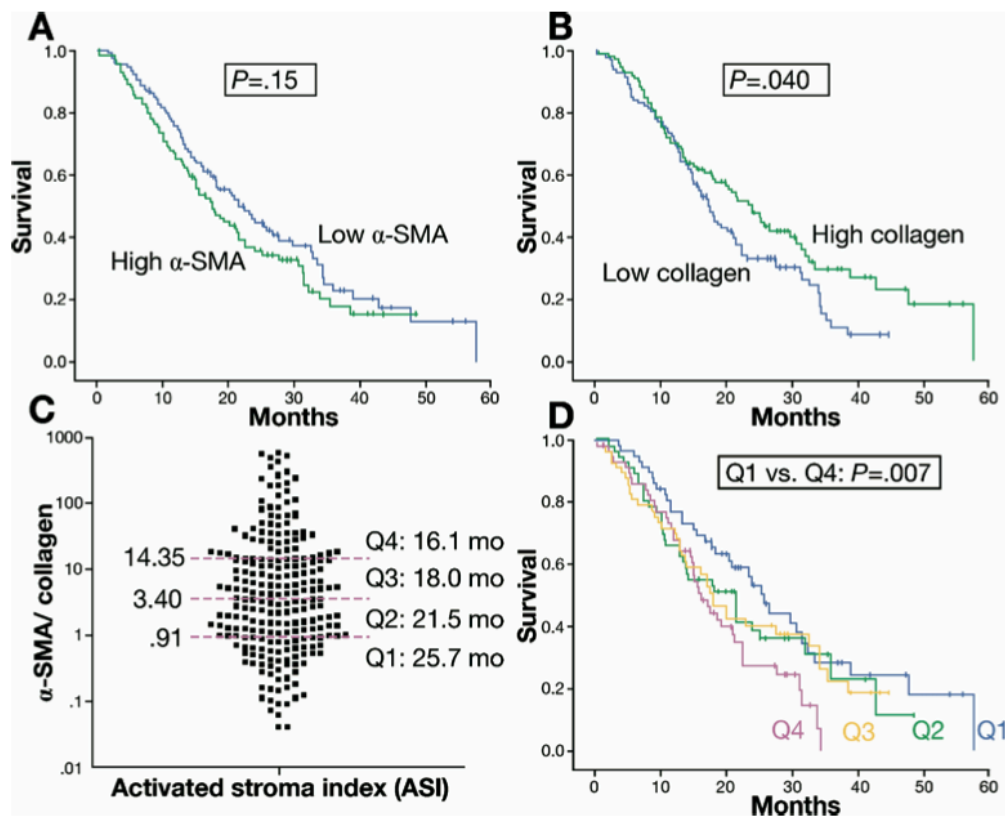


Abbildung 14 ASI und Prognose

ASI niedrig \rightarrow mediane Überlebensrate hoch

ASI hoch \rightarrow mediane Überlebensrate niedrig

In einer Multivarianten-Analyse wurden Faktoren, die signifikant mit dem Überleben korrelieren, wie dem Lymphknotenstatus (N), der Metastasierung (M), der Differenzierung des Tumors (G) mit dem ASI verglichen. Hierbei konnte der ASI als einen unabhängiger Faktor identifiziert werden.

2. Fragestellung

Ziel der Arbeit war es herauszufinden, ob der Actived Stoma Index (ASI) als ein objektiver Parameter dienen kann, um die Stiffness des Pankreas zu bestimmen und somit potentiell die Patienten zu identifizieren, die postoperative eine höhere Gefahr haben eine Pankreasfistel auszubilden.

Um dieser Fragestellung nachzugehen, wurde das Kollektiv der DISPACT-Studie verwendet, um das Pankreasgewebe nachzuuntersuchen und zu verifizieren, ob der ASI die Pankreasfistel nach Pankreaslinksresektion voraussagen kann.

3. Materialien und Methoden

3.1 Klinische Daten und Pankreasgewebe Sammlung

Das Pankreasgewebe wurde im Rahmen der DISPACT-Studie von November 2006 bis Juli 2009 gewonnen. Die DISPACT-Studie ist eine randomisiert, kontrollierte Studie mit zwei Armen, die an 21 europäischen Zentren für Pankreaschirurgie durchgeführt wurde. Es wurden 450 Patienten eingeschlossen, die eine Erkrankung des Pankreaskörpers und/ oder des Pankreasschwanzes hatten und für eine offene Pankreaslinksresektion geplant waren. Grundvoraussetzung war die Resektabilität des Tumors. Die Erkrankungen erstreckten sich von maligne, nicht-maligne oder neuroendokrine Tumoren, bis hinzu chronischen Pankreatitiden oder Pankreaspseudozysten.

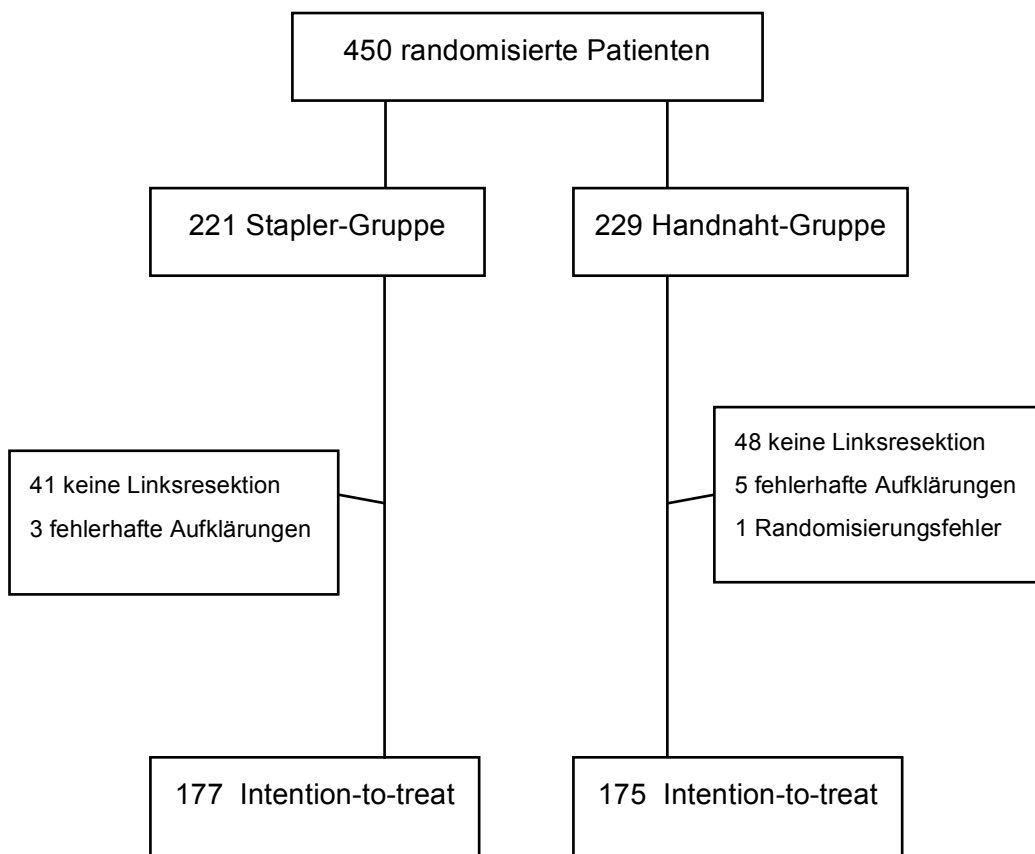


Diagramm 1 Patientenselektion DISPACT

Das im Rahmen der DISPACT Studie gewonnene Gewebe wurde mit den demografischen, chirurgischen und pathologischen Daten aus einer prospektiv registrierten Datenbank retrospektiv analysiert. Die Verwendung menschlichen Materials für die Analyse war im Rahmen der DISPACT Studie von der Ethikkommission der Universität Heidelberg in Deutschland genehmigt. Eine korrekte, schriftliche Einwilligung von allen ausgewerteten Patienten liegt vor. Die postoperative Pankreasfistel wurden gemäß der ISGPF-Definition von Bassi et al. eingeteilt (siehe 1.2.1).¹³

Von den 450 eingeschlossenen Patienten wurden 221 in die Stapler-Gruppe und 229 in die Handnaht-Gruppe randomisiert. 44 Patienten mussten nachträglich in der Stapler-Gruppe und 54 in der Handnaht-Gruppe ausgeschlossen werden. Der Ausschluss erfolgte, weil die geplante Linksresektion bei 89 Patienten nicht durchführbar war oder die Aufklärung (8 Patienten) fehlerhaft war. Zusätzlich gab es einen Randomisierungsfehler (s. Diagramm 1).

Verschlusstechnik	Stapler	49,7 %
	Handnaht	50,3 %
Geschlecht	Weiblich	54 %
	Männlich	46 %
Alter	59,8 (+/- 13,9) Jahre	
Operationsdiagnose	Maligne Tumore	54 %
	Benigne Tumore	37 %
	Chronische Pankreatitis	7 %
	Pseudozysten	9 %
	Andere	5 %
Gesamt Operationszeit	190,0 (+/- 80,5) min	

Tabelle 5 Patientenverteilung DISPACT

Die restlichen 352 Patienten waren zu 46% männlichen und zu 54 % weiblichen Geschlechts. Der Verschluss des Pankreas nach der Pankreaslinksresektion erfolgte in 49.7% per Handnaht und in 50.3% per Stapler. Im Durchschnitt waren die Patienten 59,8 (+/- 13.9) Jahre alt. Die Operationsindikation wurde in 54 % der Fälle wegen maligner Tumore, 37% wegen benigner Tumore, 7 % wegen chronischer Pankreatitis, 9% wegen Pseudozysten und in 5% der Fälle wegen anderen Ursachen gestellt. Eine Splenektomie erfolgte in 83% der Operation. Die durchschnittliche Operationszeit betrug 190.0 (+/- 80.5) Minuten (s. Tabelle 5).²³

Von den 352 Patienten hatten 127 Patienten (36,1% aller Patienten) eine Fistel innerhalb von 30 Tagen postoperativ. Nach der ISGPF-Definition von Bassi et al.¹³ hatten 55 dieser Patienten (43%) eine Fistel Grad A, 40 (32%) eine Fistel Grad B und 32 (25%) eine Fistel Grad C. 225 Patienten blieben in dem Nachbeobachtungszeitraum von 30 Tagen im Rahmen der DISPACT-Studie fistelfrei (s. Diagramm 2).

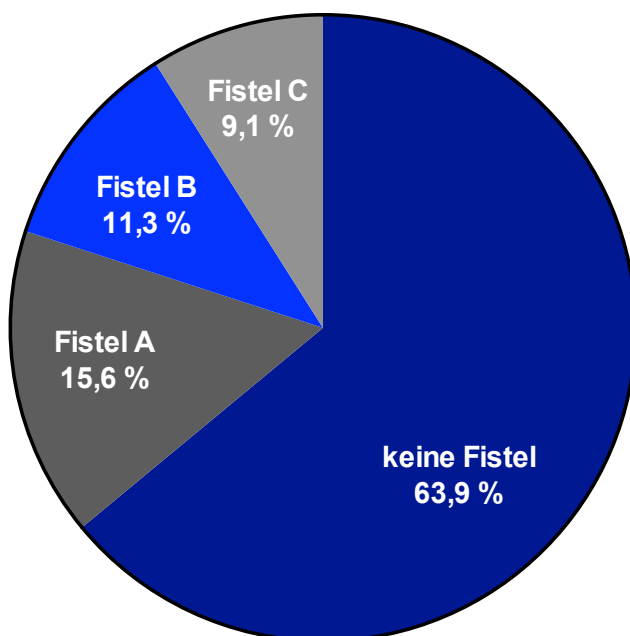


Diagramm 2 Fistelrate DISPACT

3.2 Immunhistochemische Aufbereitung und Computergestützte Bildanalyse

3.2.1 Materialien

3.2.1.1. Apparaturen

- Eismaschine (Scotsman AF 100; Scotsman Ice; Italy)
- Gewebeeinfiltration (Leica ASP 200S; Leica Microsystems GmbH; Wetzlar, Deutschland)
- Kühlplatte (COP 30; Medite GmbH; Burgdorf, Deutschland)
- Kühlschrank (Liebherr; Biberach, Deutschland)
- Mikrotom (Leica RM2255; Leica Microsystems GmbH; Wetzlar, Deutschland)
- Mikroskop (Axioskop 40; Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland)
- Mikroskop (Zeiss Primo Vert; Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland)
- Mikroskop-Kamera (AxioCam ICo3; Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland)
- Paraffinausgießstation (Leica EG 1160; Leica Microsystems GmbH; Wetzlar, Deutschland)
- Pipetten (Eppendorf Research; 1000µl; 200 µl; 100 µl; 20 µl; 10 µl; 2,5 µl; Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)
- Reinstwasser (Milli-Q-Advantage 10; Millipore-Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland)
- Scanner (Nikon LS-5000 ED; Nikon GmbH; Düsseldorf, Deutschland)
- Shaker (IKA® Schüttler MTS4; IKA-Werke GmbH und Co. KG; Staufen, Deutschland)
- Vortexer (Vortex-T Genie 2; Scientific Industries; USA)

- Waage (Kern PCB; Kern und Sohn GmbH; Bahingen, Deutschland)

3.2.1.2 Verbrauchsmaterialien

- Dako Pen (Dako Deutschland GmbH; Hamburg, Deutschland)
- Handschuhe (Powder-Free semper-care by sempermed; Semperit Technische Produkte GmbH; Wien, Österreich)
- Handschuhe (semper-care nitrile; Semperit Technische Produkte GmbH; Wien, Österreich)
- Objektträger (Menzel Gläser Super Frost Ultra Plus®; Menzel GmbH & Co KG; Braunschweig, Deutschland)
- Pipetten (Cellstar; 5 ml in 1/10 ml; 10 ml in 1/10 ml; 25 ml in 2/10 ml; Greiner bio-one; USA)
- Pipettenspitzen (Star Lab Tip One; 1000 µl Filter Tip; 200 µl Graduated Filter Tip; 100 µl Bevelled Filter Tip; 20 µl Bevelled Filter Tip; 10 µl XL Graduated Filter Tip; STARLAB GmbH; Hamburg, Deutschland)
- Reagenzröhrchen (Falcon-Röhrchen; Ratiolab GmbH; Dreieich, Deutschland)
- Tubes (Mikro-Schraubröhre 1,5 ml; Sarstedt AG & Co.; Nümbrecht, Deutschland)

3.2.1.3 Chemikalien

- Aqua destilliert; Apotheke Klinikum Rechts der Isar; München, Deutschland
- Acetic Acid Solution 1%; Apotheke Klinikum Rechts der Isar; München, Deutschland
- Dako Envision + system HRP Labelled Polymer, Anti-Rabbit, 15 ml (Dako Deutschland GmbH; Hamburg, Deutschland)
- Dako Liquid DAB+ Substrate Chromogen System (Dako Deutschland GmbH; Hamburg, Deutschland)

- Dulbecco's PBS (1x), 500 ml (PAA-Laboratories; Pasching, Österreich)
- Ethanol (50%; 70%; 90%; 96%); Apotheke Klinikum Rechts der Isar; München, Deutschland
- Natriumchlorid (Carl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland)
- Normal Goat Serum 10% ready to use, 100 ml (Invitrogen; USA)
- Paraffin (Carl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland)
- Paraformaldehyd-Lösung (PFA-Lösung) 8% 1000 ml; Apotheke Klinikum Rechts der Isar; München, Deutschland
- Roticlear (Carl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland)
- Roti-Mount (Carl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland)
- Triton X 100, 250 ml (Carl Roth GmbH; Karlsruhe, Deutschland)

4 % Paraformaldehyd-Lösung	500 ml 8 % Paraformaldehyd-Lösung
	500 ml Dulbecco's PBS (1x)

Tabelle 6 Lösungen und Puffer

3.2.1.4 Antikörper

Primär-Antikörper

- Anti-alpha smooth muscle Antibody M0851; (monoclonal mouse, DAKO Cytomation, Hamburg, Deutschland)

Sekundär-Antikörper

- HRP anti-mouse (Dako Deutschland GmbH; Hamburg, Deutschland)

3.2.1.5 Anilinblau-Färbung

Aniline Blue Solution (Sigma-Aldrich Chemie GmbH; Steinheim; Deutschland):

- Aniline blue
(Disodium hydrogen
aminomethyl[[4-[(sulphonatophenyl)amino]phenyl][4-
[(sulphonatophenyl)imino]cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene]methyl]ben
2.5 %,
- Acetic acide 2 %,
- Water 95,5%)

3.2.1.6 Software

- Mac-Office Home 2011; Microsoft®
- IBM SPSS Statistics, Version 23 für Mac (IBM Inc., USA)
- Prism 6 für Mac (GraphPad Software Inc., USA)
- Adobe Photoshop 12.0 (Adobe Systems Inc, San Jose, CA)

3.2.1.7 Aufarbeitung des Gewebes

Das für diese Arbeit benötigte Pankreasgewebe wurde direkt nach Erhalt aus dem Operationssaal in 4% Paraformaldehyd für 24 Stunden fixiert. Nachdem es für weitere 24 Stunden in 70% Ethanol ausgewaschen wurde, wurde es im Gewebeeinfiltrationsautomat über Nacht durch eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert und paraffiniert. Anschließend folgte die Einbettung in Paraffin. Von diesen Gewebeblöcken wurden nun etwa 3µm dicke Schnitte mit dem Rotationsmikrotom angefertigt. Diese wurden auf Objektträger aufgezogen und für ungefähr 24 Stunden in den Wärmeschrank verbracht. Zu Beginn der Färbungen wurden die Paraffinschnitte jeweils in Roticlear entparaffinisiert und in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert. Die immunhistochemische Aufbereitung von α-SMA und Kollagen in den Gewebeschnitten wurden nach den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Es wurden zwei aufeinanderfolgende Schnitte einmal mit αSMA-Antikörper (DAKO Cytomation, Hamburg, Deutschland Verdünnung 1:1500) und einmal mit dem kollagenspezifischen Anilinblau des Masson Trichromfärbungen (ohne die

Anwendung von Hämatoxylin oder Biebrich scharlachroten Säure als Gegenfärbung) angefärbt. Nach Fixierung der Färbung erfolgte eine Dehydratation in aufsteigender Alkoholreihe. Die Objektträger wurden danach mit einem Scanner bei 4000 Pixel/ Inch eingescannt. Die digitalen Bilder wurden anschließend computerunterstützt mit Adobe Photoshop 12.0 (Adobe Systems Inc, San Jose, CA) analysiert (s. Abbildung 15).

3.2.1.8 Computergestützte Bildanalyse

Es wurde ein initiales Histogramm zur Quantifizierung der Fläche in Pixel angelegt. Zur Analyse des Histogramms wurde zunächst das jeweilige Bild in Monofarben umgewandelt. So wurde das α -SMA in Grau- und das Kollagen im Blautöne umgewandelt (s. Abbildung 16). Danach erfolgte die Markierung des Bildbereiches durch Hinzunahme der „Lasso“-Funktion (s. Abbildung 17 und 18). Die oberen und die unteren Eingangspegeln wurden überlappt, um schwarze oder weiße Bilder für α -SMA, oder blaue und weiße für Collagen, ohne eine Zwischenzone zu erstellen. Die ideale Empfindlichkeit wurde erreicht, wenn die Überlappungszone dem Scheitelpunkt der ersten exponentiellen Phase der Histogrammkurve entsprach (s. Abbildung 19 und 20). Die optimale Empfindlichkeit wurde während der gesamten Analyse konstant gehalten. Die Farbartefakte und die großen Arterien wurden in beiden Schnitten (passgenau) manuell von der Analyse ausgeschlossen. Nun wurde ein Pixelbereich angeklickt und die Auswahl auf das ganze Bild erweitert (s. Abbildung 21). Das endgültige Ergebnis konnte dann aus dem Histogramm abgelesen werden (s. Abbildung 22), wie bereits veröffentlicht durch Erkan et al ²⁶.

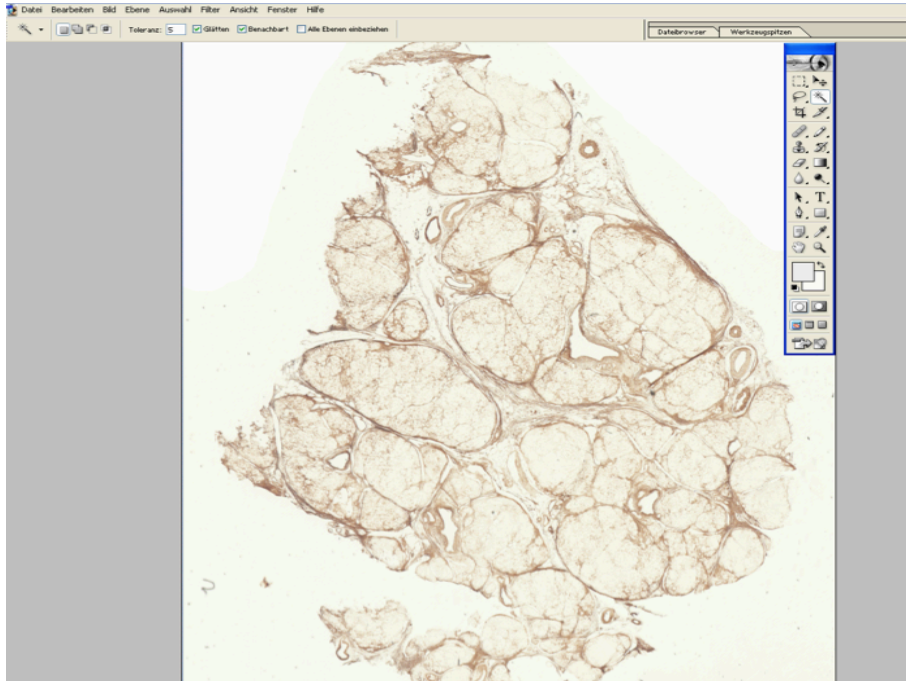


Abbildung 15 Eingesannter Schnitt

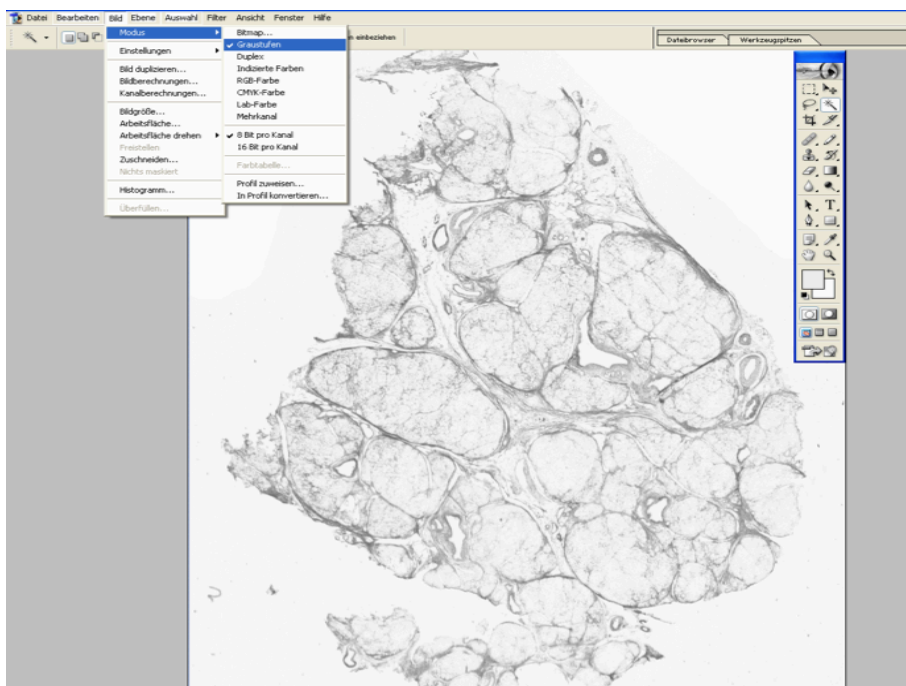


Abbildung 16 Umwandlung in Monofarben

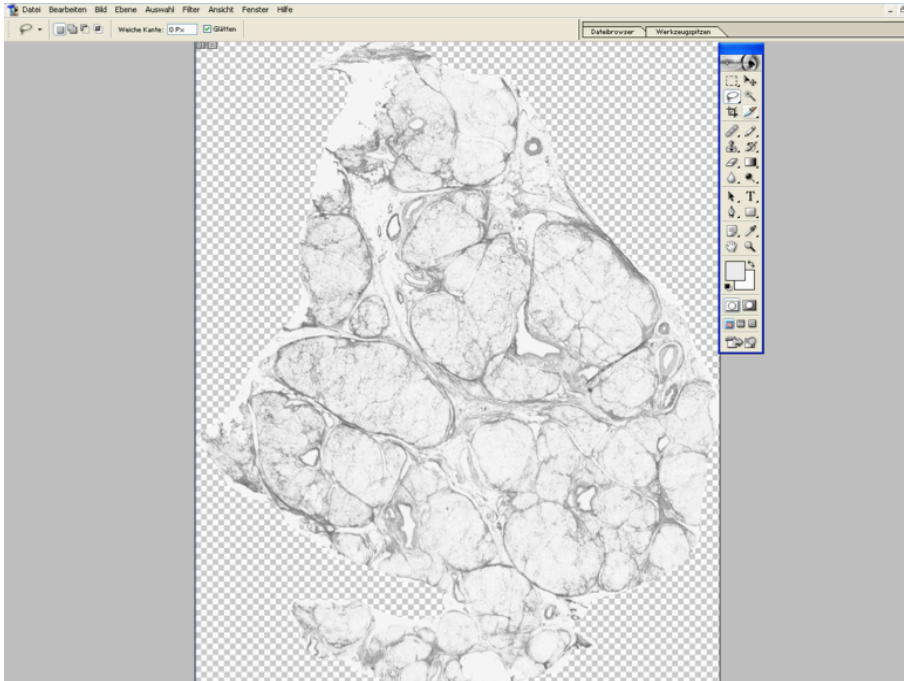


Abbildung 17 Auswahl des Bildausschnittes

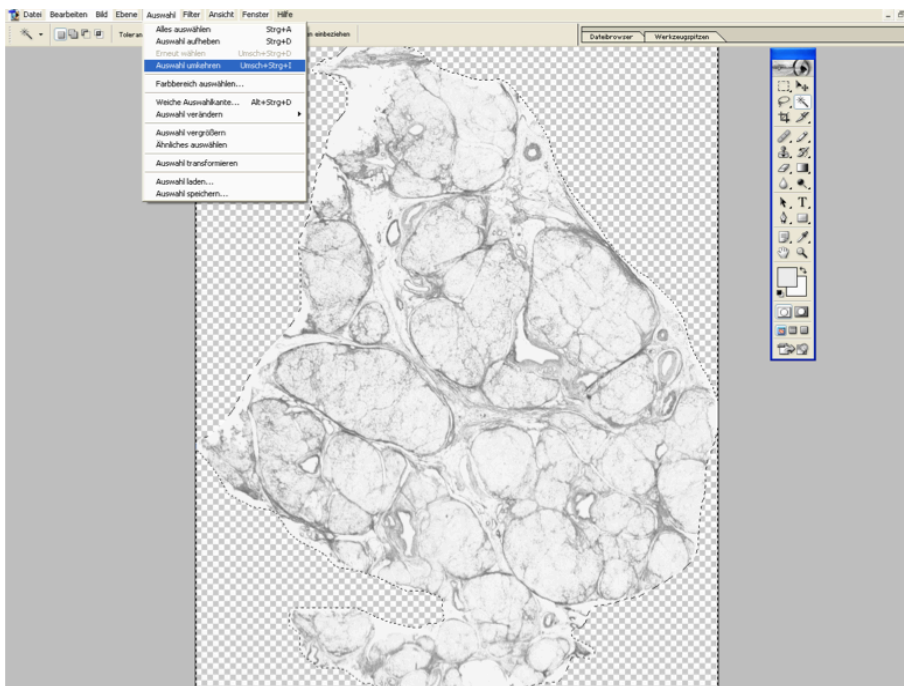


Abbildung 18 Auswahl des Gewebes

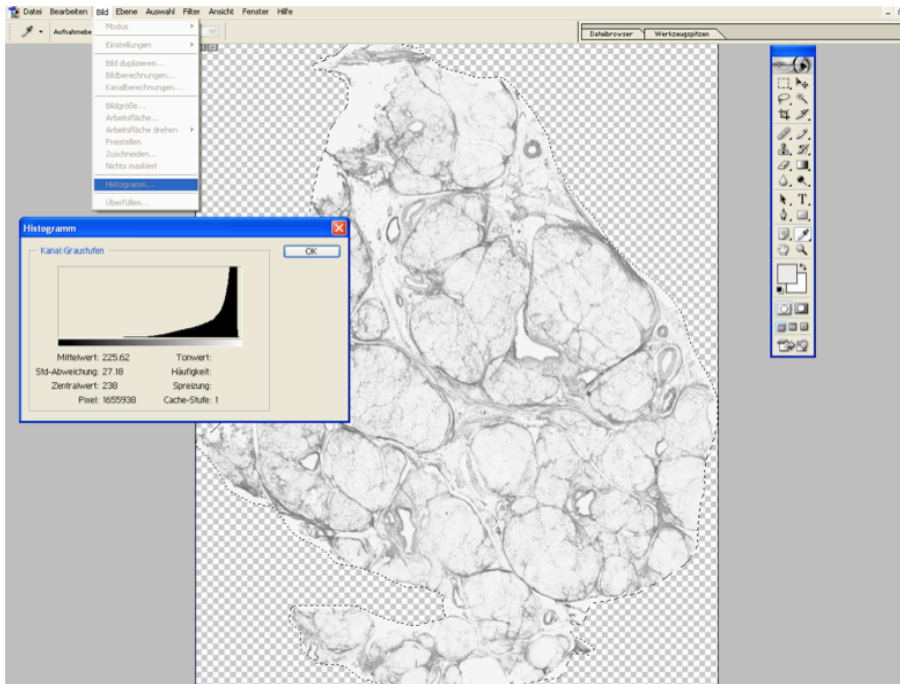


Abbildung 19 Histogramm

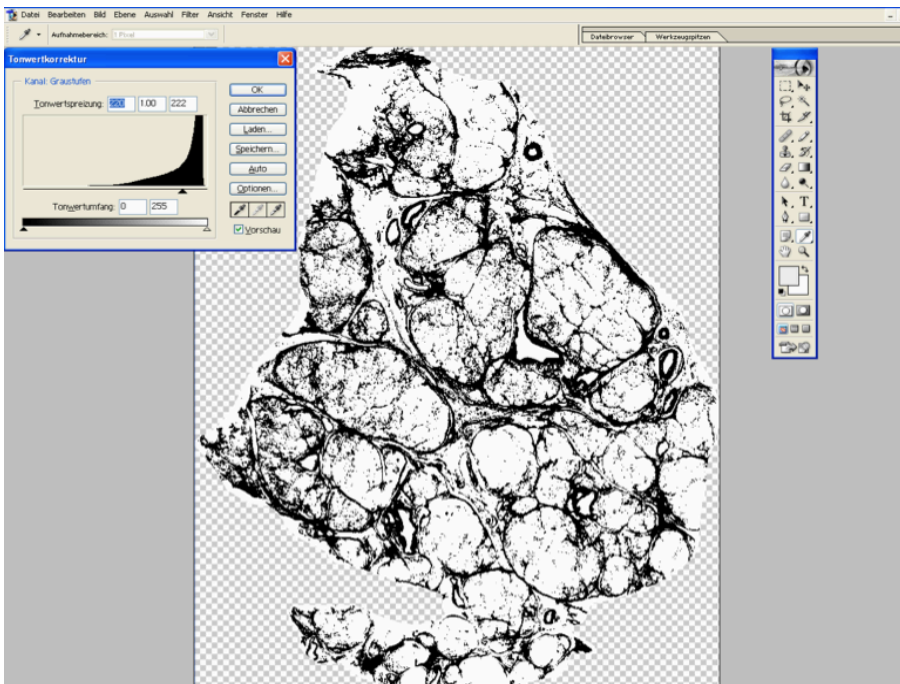


Abbildung 20 Auswahl der Eingangspegel

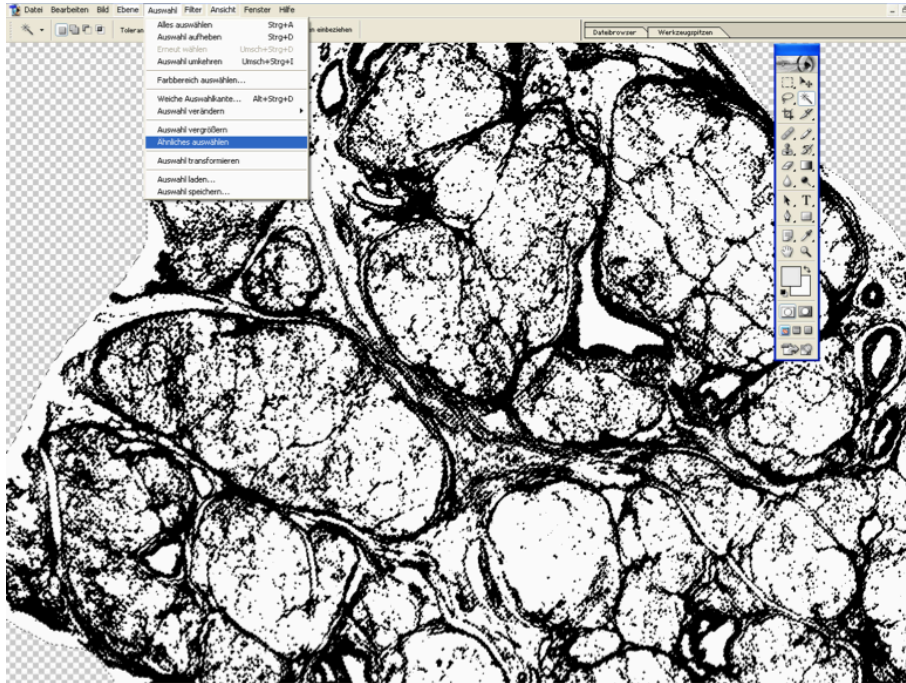


Abbildung 21 Auswahl des Analysegewebes

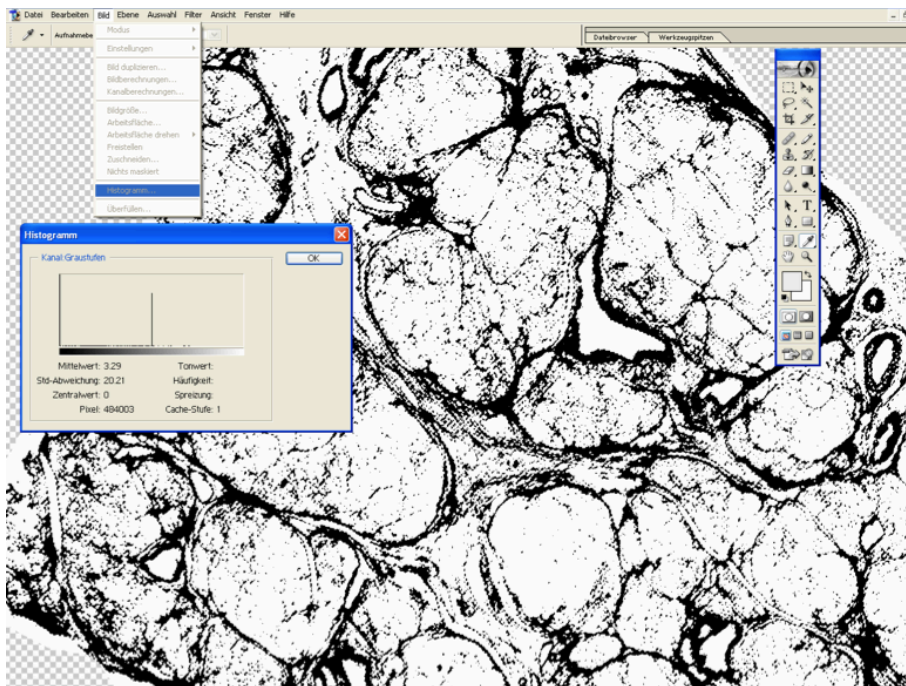


Abbildung 22 Anzeige des Ergebnisses im Histogramm

Effektivität und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse

Um die Genauigkeit und Effektivität dieser Methode der Farbanalyse zu bewerten, wurden die Ergebnisse mit den Ergebnissen der automatisierten Farbanalyse unter Verwendung eines Zeiss AxioCam 3.1-System bei 200-facher Vergrößerung mit integriertem KS300 3.0-Programm (Zeiss, Jena, Deutschland) in 10 Fällen verglichen. Die Abweichung war weniger als 0,6%. Die durchschnittliche Zeit für das Scannen und die Farbbeurteilung von einer Fläche von etwa einem Quadratcentimeter mit dieser Methode betrug etwa 3 Minuten. Das Zeiss System benötige für die gleiche Fläche mehr als eine Stunde.

Um eine gute Reproduzierbarkeit der Daten zu zeigen, wurden bei zehn zufällig ausgewählten Patienten an drei verschiedenen Stellen innerhalb des gleichen Gewebes, Schnitte in der oben beschriebenen Technik entnommen und bearbeitet. Trotz unterschiedlicher Anteile an nichtstromalen Komponenten (Azini, Gefäße etc) zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich des α SMA, Kollagen und des daraus resultierend ASI.

3.3 Statistische Auswertung

Zur Datenerfassung wurde das Programm Microsoft Excel für Mac 2011 verwendet. Die statistische Untersuchung erfolgte selbstständig mit Unterstützung von Carsten Jäger (Koordinator Pankreasforschungsgruppe, Chirurgische Klinik, Klinikum Rechts der Isar). Alle statistischen Analysen wurden mit dem Programm IBM SPSS Statistics, Version 23 für Mac (IBM Inc., USA) oder Prism 6 für Mac (GraphPad Software Inc., USA) durchgeführt. Um einen Vergleich zwischen Gruppen zu erzielen, wurde die Korrelation nach Pearson oder der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Die Ergebnisse wurden als Median angegeben \pm Interquartilbereich Q1-Q3. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen.

4. Ergebnisse

4.1 Charakterisierung der Patientenkohorte

Im Rahmen der DISPACT-Studie wurden die Daten von 352 Patienten ausgewertet. Für diese Arbeit standen von 221 Patienten die histomorphologischen Schnitte zur qualitativen und quantitativen Analyse zur Verfügung.

Die α SMA- und Kollagen-I-Werte wurde mit der oben beschriebenen Methode an den Schnitten von 221 Patienten bestimmt. In zwei Fällen konnte aufgrund der schlechten Qualität der Schnitte der α SMA-Wert nicht ermittelt werden. Die Bestimmung des Kollagens war in 14 Fällen, ebenfalls bei schlechter Schnittqualität, nicht möglich, so dass für die endgültige Auswertung die vollständigen Daten von 205 Patienten vorlagen. (s. Diagramm 3)

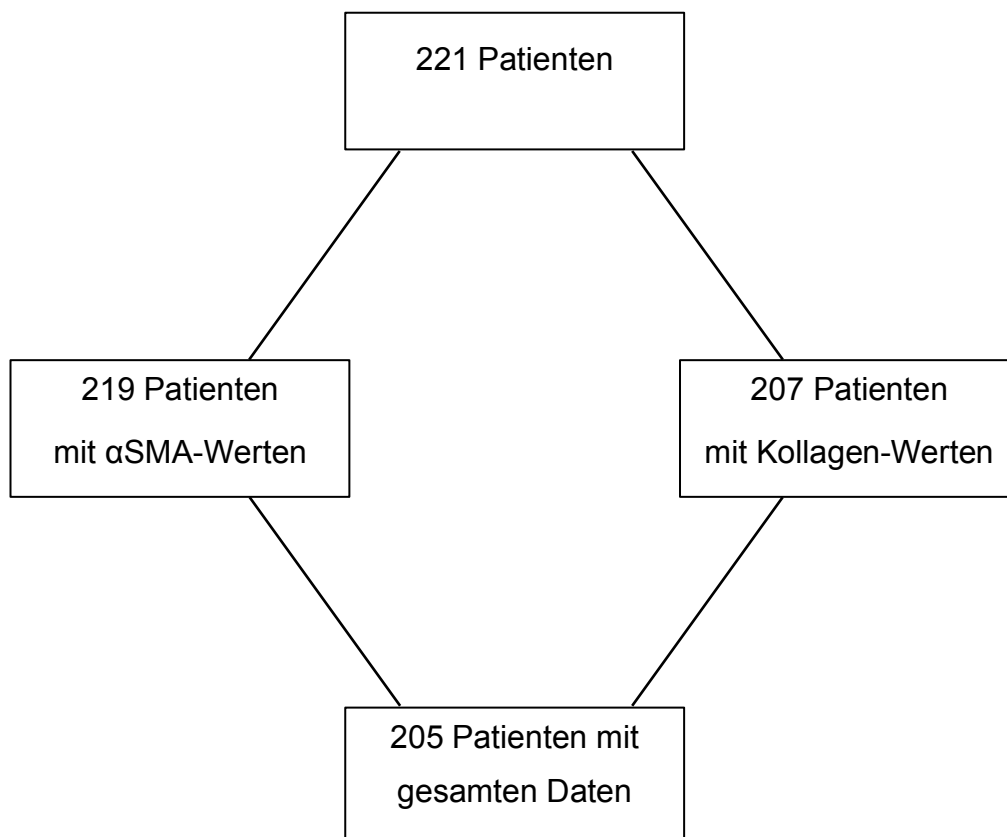


Diagramm 3 Patientenselektion

Die Patienten erhielten eine distale Pankreasresektion zwischen dem 16. November 2006 und dem 02. Juli 2009. Im untersuchten Patientenkollektiv erhielten 101 (49,3%) Patienten den Verschluss/Resektion nach einer distalen Pankreasresektion mittels Stapler und 104 (50,7%) Patienten mittels Handnaht (s. Tabelle 7). An einem malignen Tumor waren 111 (54,1%) Patienten, an einem benignen Tumor 70 (34,1%) Patienten, an einer chronischen Pankreatitis 18 (8,8%) und an einer Pseudozyste 6 (2,9 %) der Patienten erkrankt (s. Diagramm 4).

		Anzahl	Prozent
Verschlussstechnik	Stapler	104	50,7 %
	Handnaht	101	49,3 %
Operationsdiagnose	Maligne Tumore	111	54,1 %
	Benigne Tumore	70	34,1 %
	Chronische	18	8,8 %
	Pseudozysten	6	2,9 %

Tabelle 7 Patientenverteilung

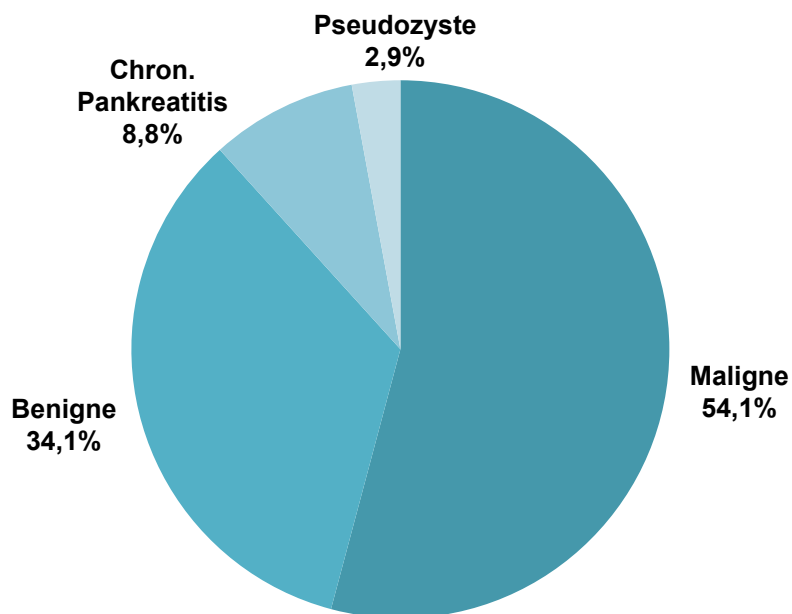


Diagramm 4 Erkrankungsverteilung

Die durchschnittliche Operationsdauer betrug 174,14 (\pm 79,16) Minuten. Hierbei reichte die Zeitspanne von 50 bis 518 Minuten (s. Diagramm 5). Wobei Patienten mit längerer Operationsdauer signifikant häufiger eine Fistel aufwiesen ($p=0,003$; s. Diagramm 6). Der Krankenhausaufenthalt betrug durchschnittlich 15,54 (\pm 15,98) Tage. Die kürzeste stationäre Behandlung lag bei 6 Tagen. Ein Patient musste mit 143 Tagen am längsten stationär behandelt werden (s. Diagramm 7). Patienten mit einer Pankreasfistel mussten signifikant länger im Krankenhaus verweilen ($p=0,0001$; s. Diagramm 8).

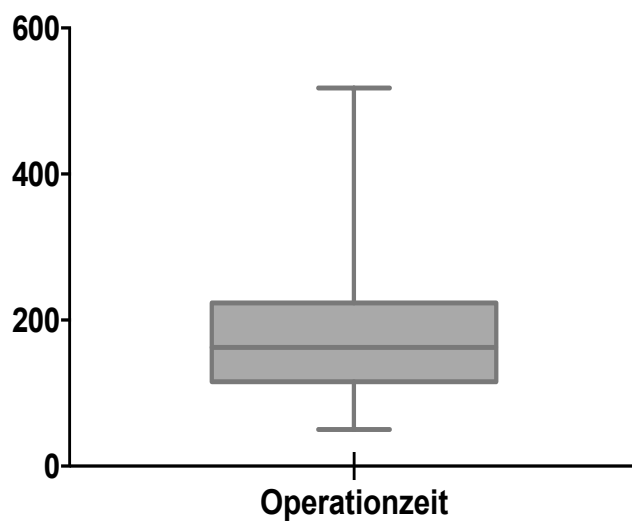


Diagramm 5 Die durchschnittliche Operationsdauer betrug 174,14 (\pm 79,16) Minuten

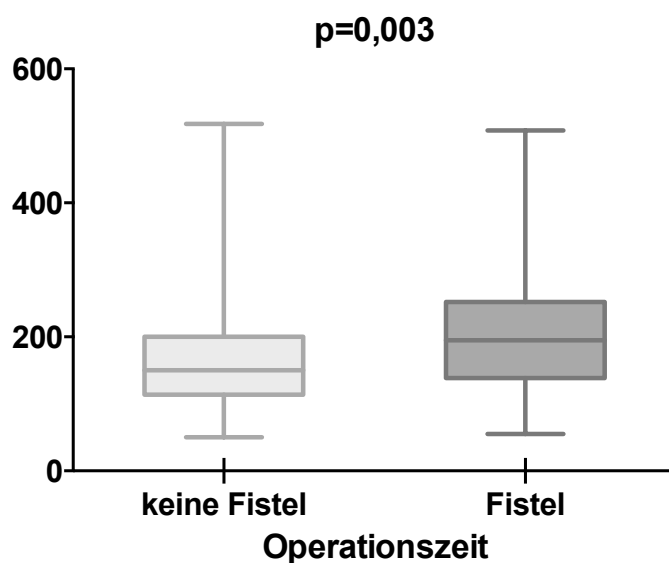


Diagramm 6 Patienten mit längerer Operationsdauer haben signifikant häufiger eine Fistel

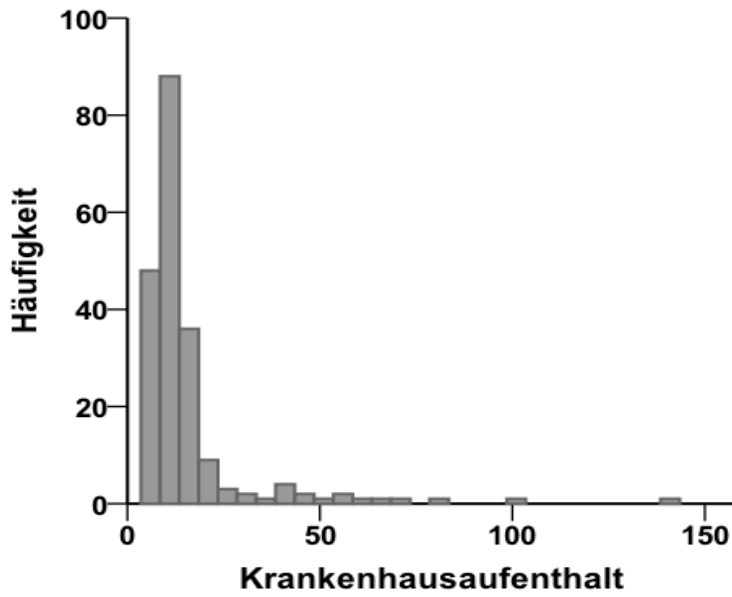


Diagramm 7 Der durchschnittliche Krankenhausaufenthalt betrug 15,54 ($\pm 15,98$) Tage

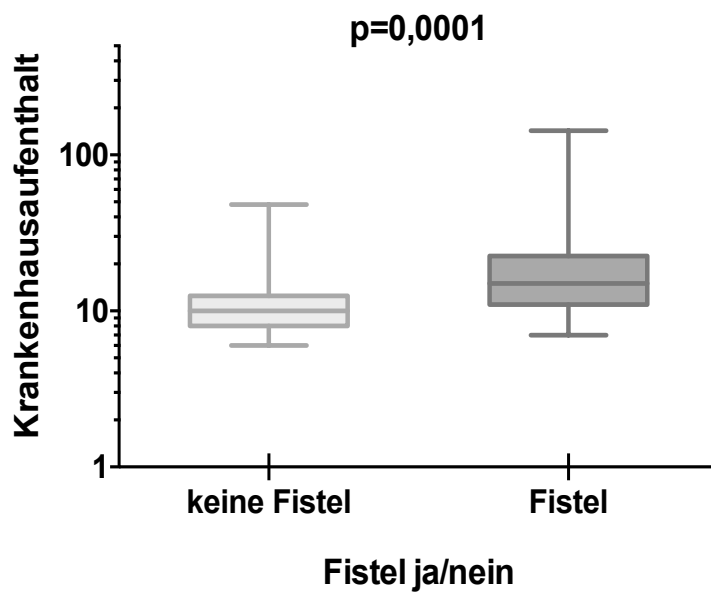


Diagramm 8 Patienten mit einer Fistel mussten signifikant länger im Krankenhaus verweilen

Unter Berücksichtigung der aktuellen Einteilung der postoperativen Pankreasfistel nach der ISGPF (s. 1.2.1) zeigte sich, dass 68 (33,7%) der untersuchten Patienten eine postoperative Pankreasfistel entwickelten. Diese teilten sich auf in Fistelgrad A mit 31 (15,1%) in den Fistelgrad B mit 21 (10,2%) und dem Fistelgrad C mit 16 (7,8%) Patienten (s. Tabelle 8 und Diagramm 7).

		Anzahl	Prozent
Keine Fistel		137	65,2 %
Fistel (gesamt)		68	33,7 %
Fistelgrad	A	31	15,1 %
	B	21	10,2 %
	C	16	7,8 %

Tabelle 8 Fistelverteilung

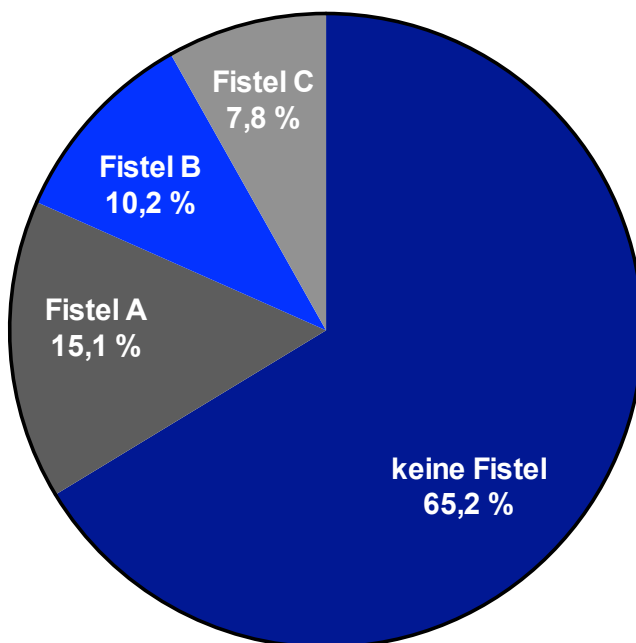


Diagramm 9 Fistelrate

4.2 Auswertung α SMA, Kollagen und ASI

4.2.1 Quantifizierung der Immunoreaktivität von α SMA & Kollagen-I

ASI

Der ASI wurde, wie oben beschrieben, als Quotient aus den Immunoreaktivität-Werten α SMA und Kollagen gebildet und anschließend für die weiteren Analysen gebraucht. Hierbei resultierte ein medianer ASI-Wert von 0,58 (Interquartile range/IQR: 0,02 - 77,4)

α SMA

In der Auswertung der immunhistochemischen Schnitte zeigte sich für α SMA eine mediane Immunoreaktivität von 7,68 (IQR: 0,56 - 49,34). Eine repräsentative Immunofärbung für das α SMA im Pankreaskarzinom und in der chronischen Pankreatitis finden Sie in den Abbildungen 23 und 24.

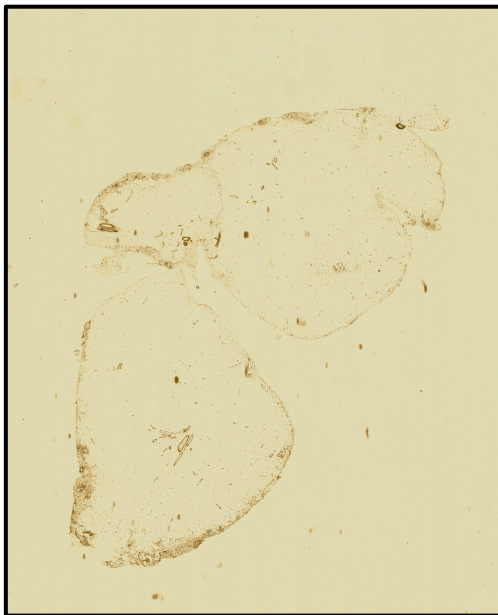


Abbildung 23 α SMA-Färbung Maligne Erkrankung

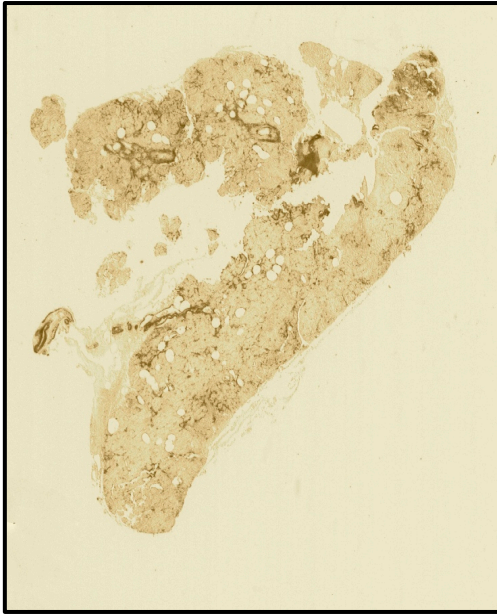


Abbildung 24 αSMA Färbung Chronische Pankreatitis

Kollagen-I

Beim Kollagen-I zeigt sich eine mediane Immunoreaktivität von 15,20 (IQR: 0,31 - 77,4). Eine repräsentative Immunofärbung für das Kollagen im Pankreaskarzinom und in der chronischen Pankreatitis finden Sie in den Abbildungen 25 und 26.



Abbildung 25 Kollagen-I-Färbung Maligne Erkrankung

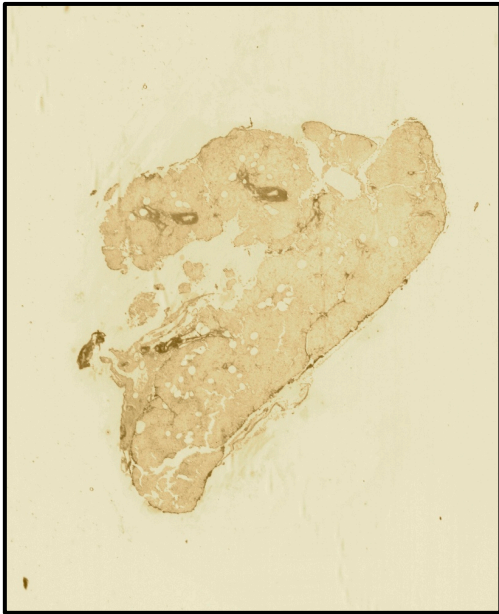


Abbildung 26 Kollagen-I-Färbung Chronische Pankreatitis

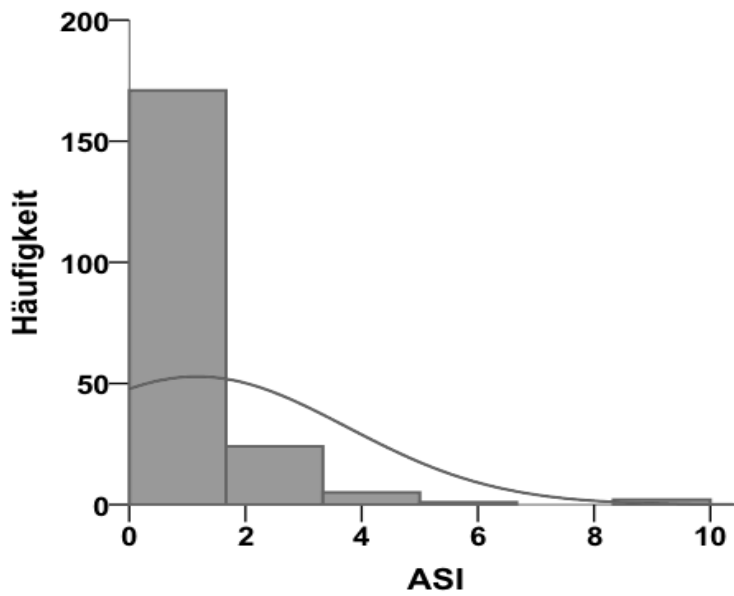


Diagramm 10 Verteilung der ASI-Werte mit Normalverteilungskurve

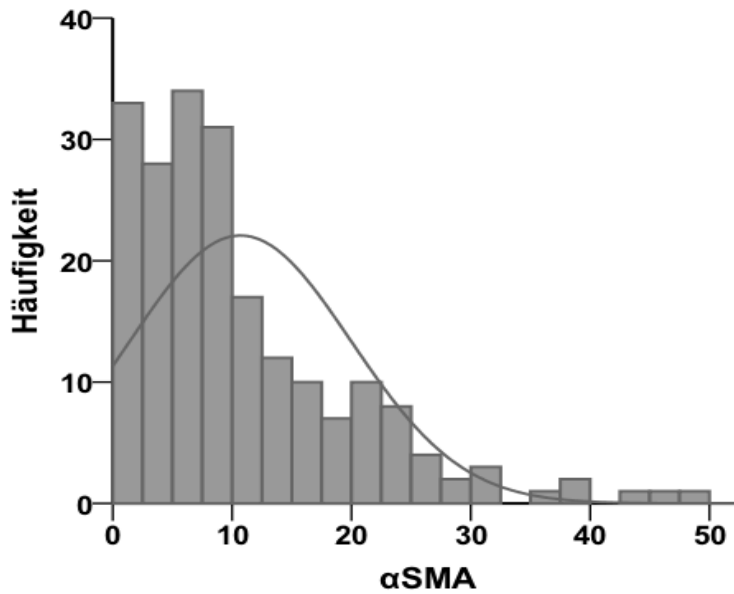


Diagramm 11 Verteilung der α SMA-Werte mit Normalverteilungskurve

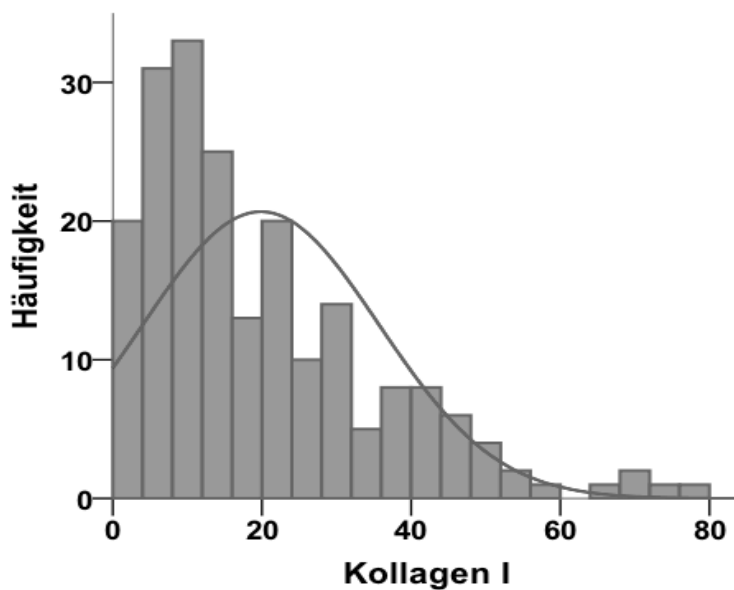


Diagramm 12 Verteilung der Kollagen-I-Werte mit Normalverteilungskurve

Wie in den oben dargestellten Diagrammen 10-12 ersichtlich, war die α -SMA und Kollagen-I Werte und der hieraus resultierende ASI nicht normalverteilt. Für eine später geplante Korrelations- und Regressionsanalyse war es jedoch wichtig, diese zu normalisieren. Damit die extremen Ausreißer nicht die Analyse beeinflussen, wurden alle Daten logarithmiert (s. Diagramm 13-15).

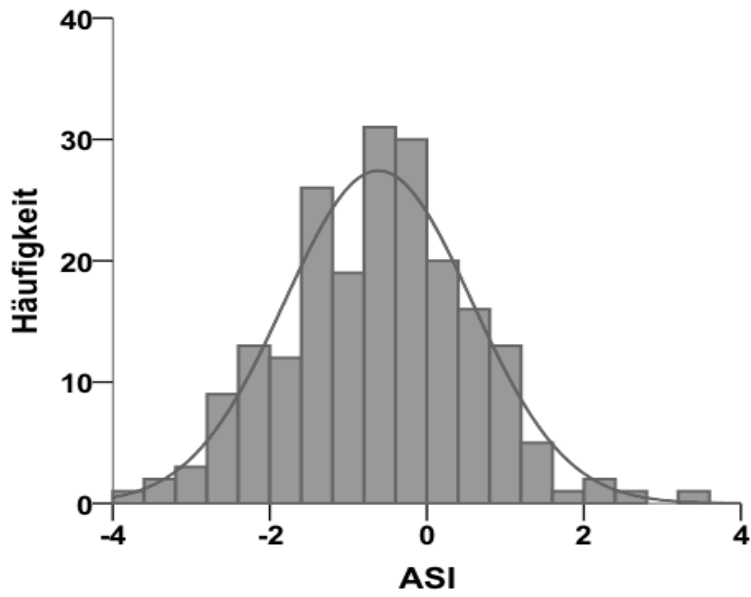


Diagramm 13 Verteilung der ASI-Werte mit Normalverteilungskurve nach dem Logarithmieren

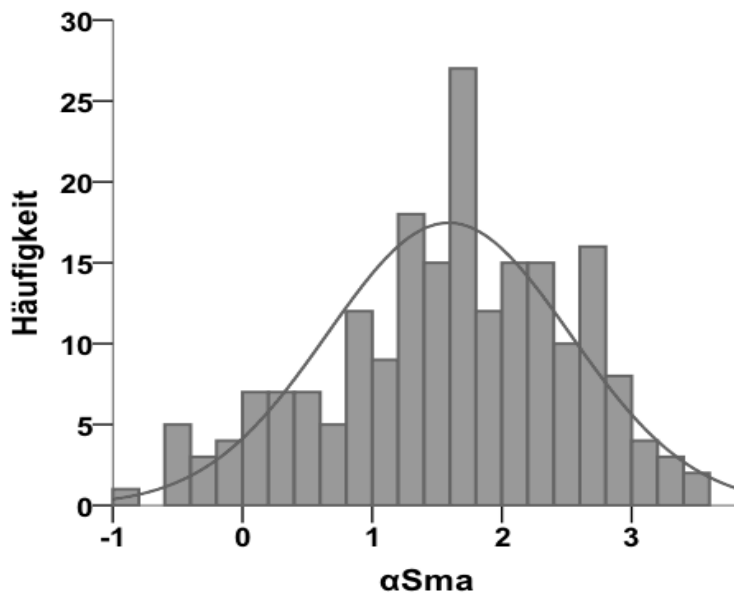


Diagramm 14 Verteilung alphaSma-Werte mit Normalverteilungskurve nach Logarithmieren

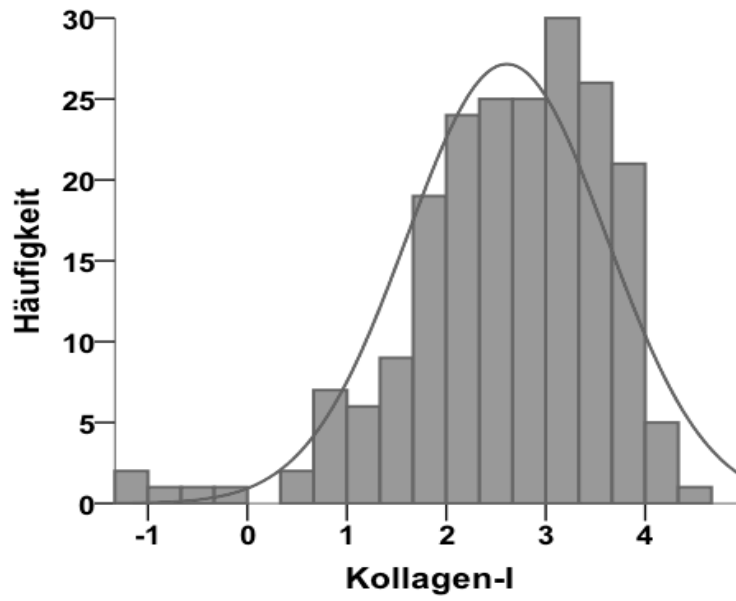


Diagramm 15 Verteilung der Kollagen-I-Werte mit Normalverteilungskurve nach dem Logarithmieren

4.2.2 Die Inzidenz der postoperativen Pankreasfistel korreliert nur mit der α SMA-Immunität

ASI

Um den potentiellen prädiktiven Wert des ASI zu untersuchen, wurden zunächst aus den ermittelten α SMA und Kollagen-I-Immunitäten die entsprechenden Indexes gebildet. In der direkten Analyse des ASI mit der Inzidenz einer postoperativen Pankreasfistel zeigte sich, dass Patienten mit einer Pankreasfistel einen ASI von -0,62 (IQR: -3,91 – 3,42) aufwiesen und Patienten ohne einer Fistel von -0,53 (IQR: -3,51 – 2,68; $p= 0,323$). Somit konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen mit dem ASI-score ermittelt werden (s. Diagramm 16).

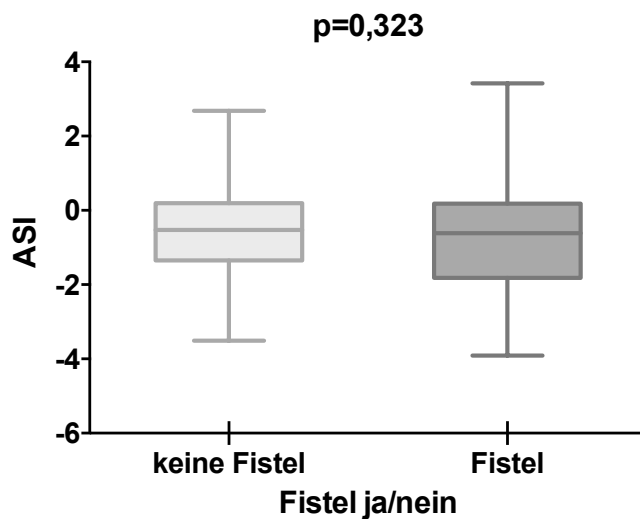


Diagramm 16 ASI-Werte sind für Patienten mit oder ohne Fistel nicht signifikant unterschiedlich

α SMA

Da der Activated Stroma Index/ASI nicht in der Lage war, eine postoperative Pankreasfistel vorauszusagen, stellte sich nun die Frage, ob die α SMA oder Kollagen-I-Immunoreaktivitäten in der Lage sind dies alleine zu tun. Hierfür wurden die α SMA-Werte zunächst im direkten Vergleich bei Patienten mit und ohne eine Pankreasfistel untersucht. Hier zeigte sich, dass Patienten mit einer postoperativen Pankreasfistel einen signifikant niedrigeren α SMA-Wert (1,74, IQR: -0,20 – 3,77) aufwiesen, als im direkten Vergleich zu Patienten ohne eine Pankreasfistel (2,14, IQR: -0,58 – 3,91; $p < 0,002$; s. Diagramm 17).

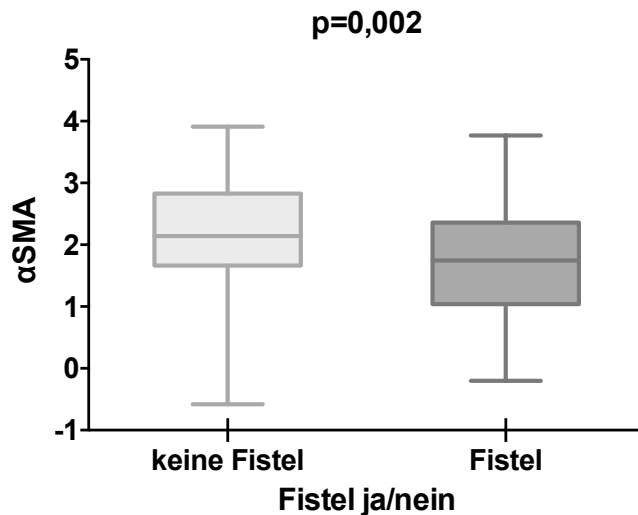


Diagramm 17 α SMA ist bei Patienten mit einer Pankreasfistel signifikant niedriger

Kollagen-I

Untersucht man nun auf gleiche Weise die Kollagen-I-Werte, so zeigt sich für Patienten mit einer Fistel einen Kollagen-I-Wert von 2,55 (IQR: -1,17 – 4,24) und bei Patienten ohne eine postoperative Fistel ein Median von 2,81 (IQR: -0,97 – 4,35; $p = 0,13$). Somit konnte auch mit dem Kollagen-I-Wert keine Patienten mit oder ohne eine Fistel signifikant unterschieden werden (s. Diagramm 18).

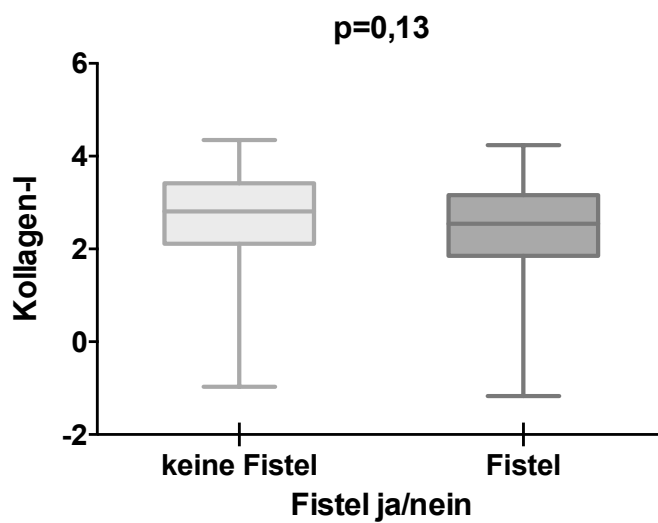


Diagramm 18 Kollagen-I-Werte sind nicht signifikant unterschiedlich bei Patienten mit oder ohne Fistel vs Fistel

4.2.3 Der Einfluss von α SMA, Kollagen und ASI auf die Fistel-Gradierung

Um herauszufinden, ob ggf. der ASI geeignet ist, um die unterschiedlichen Pankreasfistel-Klassen voraussagen zu können, wurde in einer weiteren Analyse der ASI-score in den drei Pankreasfistelgruppen (A, B und C) untersucht. Hierbei zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede ($p=0,597$). Patienten mit einer Pankreasfistel A zeigten einen ASI von $-0,56$ (IQR: $-3,0 - 2,16$), mit B $-0,8$ (IQR: $-3,91 - 3,42$) und mit C $-0,36$ (IQR: $-3,0 - 0,71$; s. Diagramm 19)

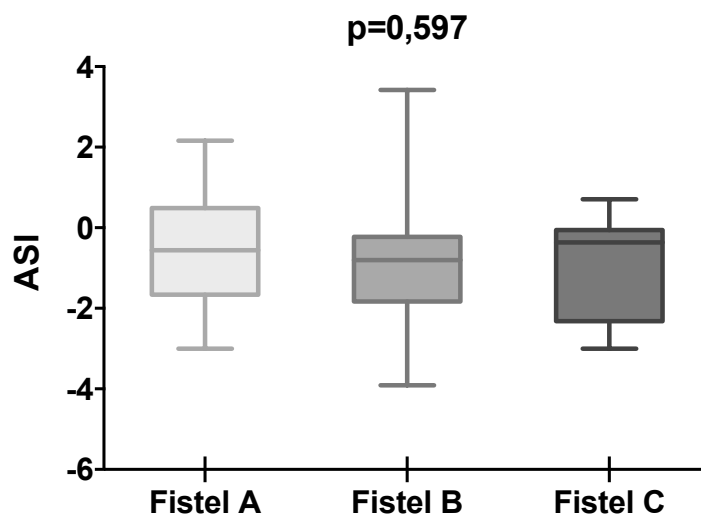


Diagramm 19 Der ASI-Werte kann auch zwischen den Fistelgraden nicht unterscheiden

Der α SMA-Wert konnte gut zwischen Patienten mit und ohne einer Pankreasfistel unterscheiden, erwies sich jedoch in den weiteren Untersuchungen als nicht hilfreich bei der Unterscheidung des Pankreasfistelgrades ($p= 0,25$). Hier zeigten Patienten mit einer A-Pankreasfistel einen α SMA Wert von $1,75$ (IQR: $0,05 - 3,33$), mit einer B-Fistel $1,82$ (IQR: $0,44 - 3,77$) und mit einer C-Fistel $1,55$ (IQR: $-0,20 - 3,31$; s. Diagramm 20).

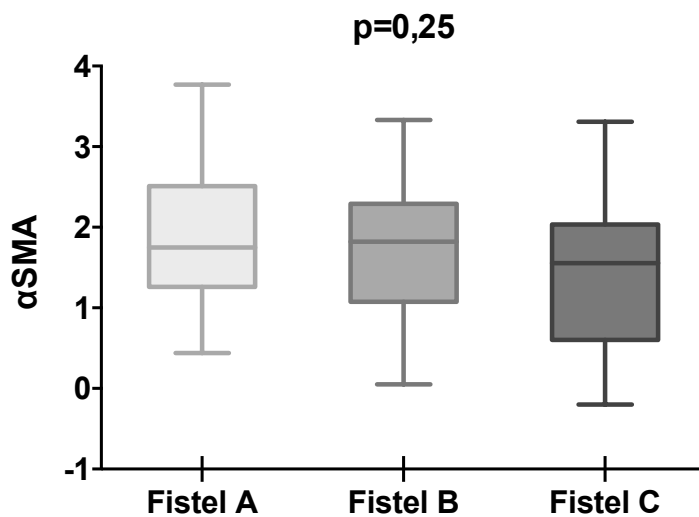


Diagramm 20 Die αSMA-Immunoreaktivitäten können eine Fistel anzeigen, jedoch nicht zwischen den Fistelgraden unterscheiden

Auch der Kollagen-I-Wert konnte die verschiedenen Fistelgrade nicht prädikieren. ($p= 0,459$). Hier zeigten Patienten mit einer A-Pankreasfistel einen Kollagen-I-Wert von 2,57 (IQR: -1,17 – 4,09), mit einer B-Fistel 2,85 (IQR: -1,14 – 4,24) und mit einer C-Fistel 2,30 (IQR: 0,94 – 4,00; s. Diagramm 21).

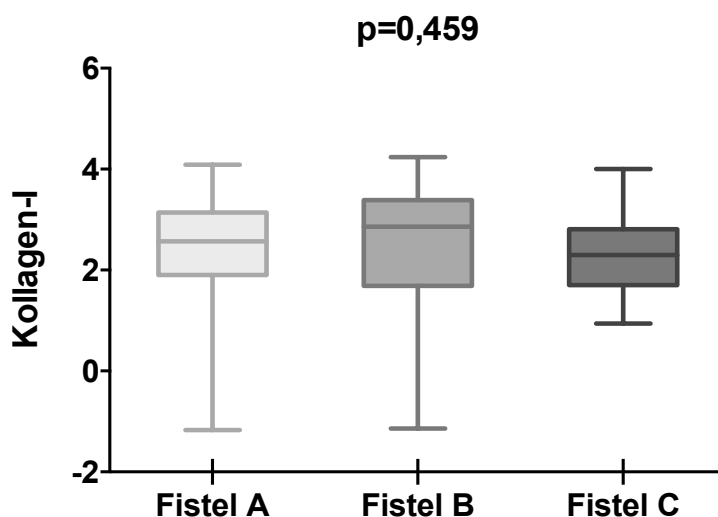


Diagramm 21 Die Kollagen-Immunoreaktivität kann nicht zwischen den Fistelgraden unterscheiden

4.2.4 Der Einfluss der Pankreaserkrankung auf die Entstehung einer Pankreasfistel

In der internationalen Literatur ist es anerkannt, dass Patienten mit einer chronischen Pankreatitis fibrosebedingt ein härteres Gewebe haben und somit weniger zur Fistelbildung neigen. Hierfür gibt es jedoch keinen objektiven Parameter.⁶⁶ Um dieser These nachzugehen, erfolgt die Untersuchung der vorhandenen Daten bezüglich der einzelnen Erkrankungen.

Patienten mit einer malignen Erkrankung (n=111) zeigten in 32,4% (n=36) der Fälle eine Fistel. Bei benignen Erkrankungen (n=70) zeigte sich sogar eine noch höhere Fistelrate von 37,1% (n=26). Patienten mit chronischer Pankreatitis (n=18) oder Pseudozysten (n=6) neigten zu einer niedrigeren Fistelrate mit 27,8% (n=5) bzw. 16,7% (n=1) (s Tabelle 9, Diagramm 22). Ein signifikanter Unterschied zwischen der Fistelrate und den Erkrankungen konnte jedoch nicht detektiert werden (p=0,682; Diagramm 21). Vergleicht man jedoch nur die Patienten mit einer malignen Grunderkrankung gegen Patienten mit chronischer Pankreatitis zeigte sich, dass Patienten mit maligner Erkrankung signifikant häufiger zu Fistel neigten als Patienten mit einer chronischen Pankreatitis (p=0,035; Diagramm 22).

	Maligne		Benigne		Chron. Pankreatitis		Pseudozyste	
	Pat.	Prozent	Pat.	Prozent	Pat.	Prozent	Pat.	Prozent
Gesamtzahl	111		70		18		6	
Fistel	36	32,4%	26	37,1%	5	27,8%	1	16,7%
davon								
Fistelgrad A	14	38,8%	15	57,7%	2	40%	0	0%
Fistelgrad B	11	30,5%	7	26,9%	2	40%	1	100%
Fistelgrad C	11	30,5%	4	15,4%	1	20%	0	0%

Tabelle 9 Inzidenz einer postoperativen Pankreasfistel nach Tumorätiologie

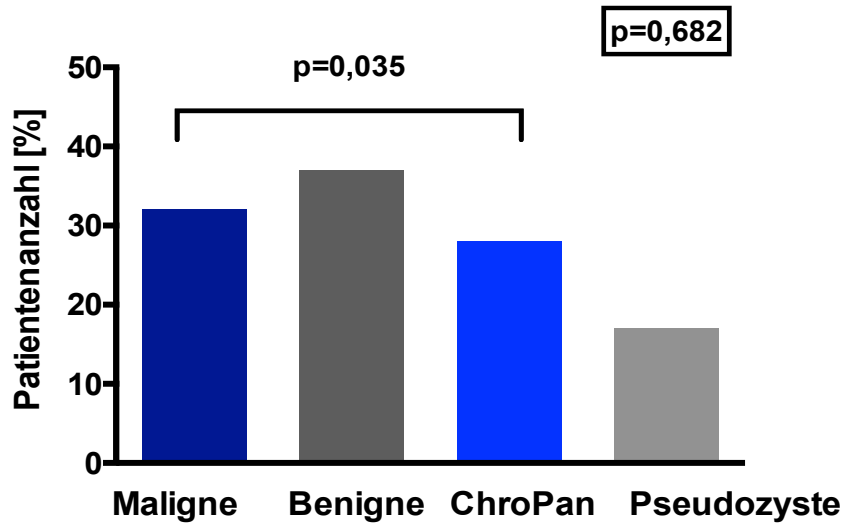


Diagramm 22 Inzidenz einer postoperativen Pankreasfistel nach aller Tumorätiologie ist nicht signifikant unterschiedlich ($p=0,682$). Vergleicht man jedoch die Patienten mit malignen Erkrankungen vs. Patienten mit chronischer Pankreatitis zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,035$). Pat mit maligner Erkrankung haben häufiger eine Pankreasfistel.

Maligne Erkrankungen

In der Untersuchung der Patienten mit einer malignen Erkrankung (n=111) zeigte sich weiterhin nur für α SMA-Werte ein signifikanter Unterschied. Patienten mit einer Fistel hatten signifikant niedrige α SMA-Werte als Patienten ohne eine Fistel (α SMA-Fistel = 1,55; IQR: -0,20 – 3,77 vs. α SMA-ohne Fistel= 2,03; IQR -0,58 – 3,91; p=0,043; s. Diagramm 24). Sowohl der ASI (-0,77; IQR:-0,53 – 3,91 vs. ASI-ohne Fistel = -0,53; IQR -3,22 – 2,68; p=0,332; s. Diagramm 23), als auch der Kollagengehalt alleine (1,581; IQR: -1,17 – 4,09 vs. Kollagen-I-ohne Fistel= 2,72; IQR:-0,97 – 4,23; p=0,438; Diagramm 25) konnten nicht zwischen Fistel und keine Fistel unterscheiden.

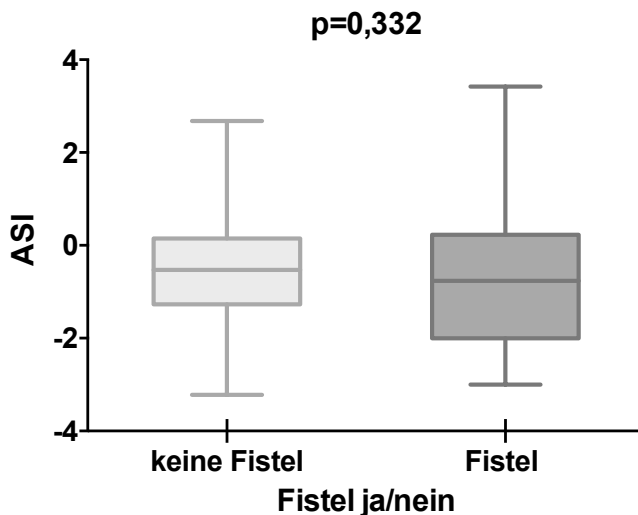


Diagramm 23 Auch in der Untersuchung von Patienten mit malignen Erkrankungen zeigt sich keine signifikanter Unterschied bezgl. der ASI-Werte bei Pat. mit oder ohne Fistel.

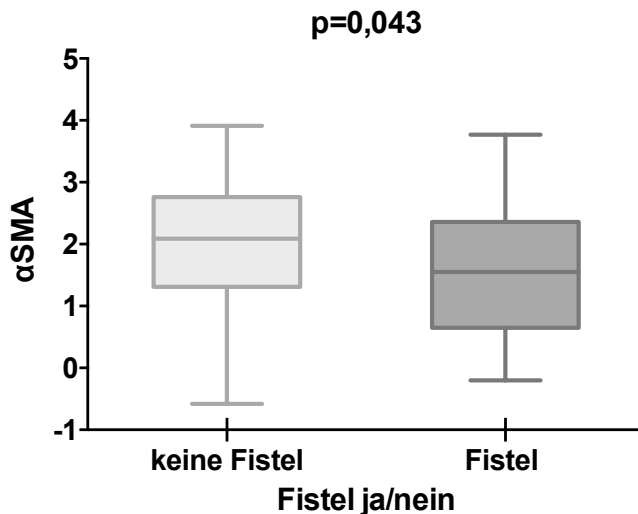


Diagramm 24 Bei Patienten mit malignen Erkrankungen und einer Fistel haben auch einen signifikante niedrigeren α SMA-Wert als Patienten mit einer Fistel

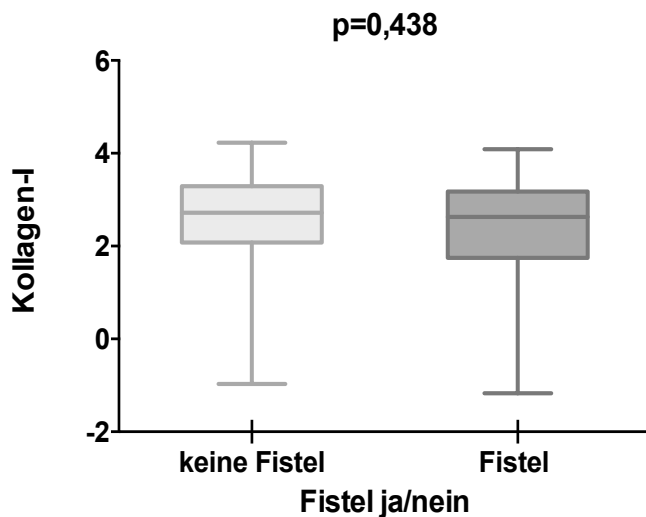


Diagramm 25 Patienten mit malignen Erkrankungen zeigen keinen signifikanten Unterschied in ihren Kollagen-I-Werten bzgl. der Fistel

Betrachtet man nun in der Gruppe der Patienten mit einem Malignom die Fistelgraduierung, so lässt sich auch in dieser Subgruppenanalyse keine Abhängigkeit zwischen ASI, α SMA oder Kollagen-I mit dem Fistelgrad zeigen (s. Diagramm 26)

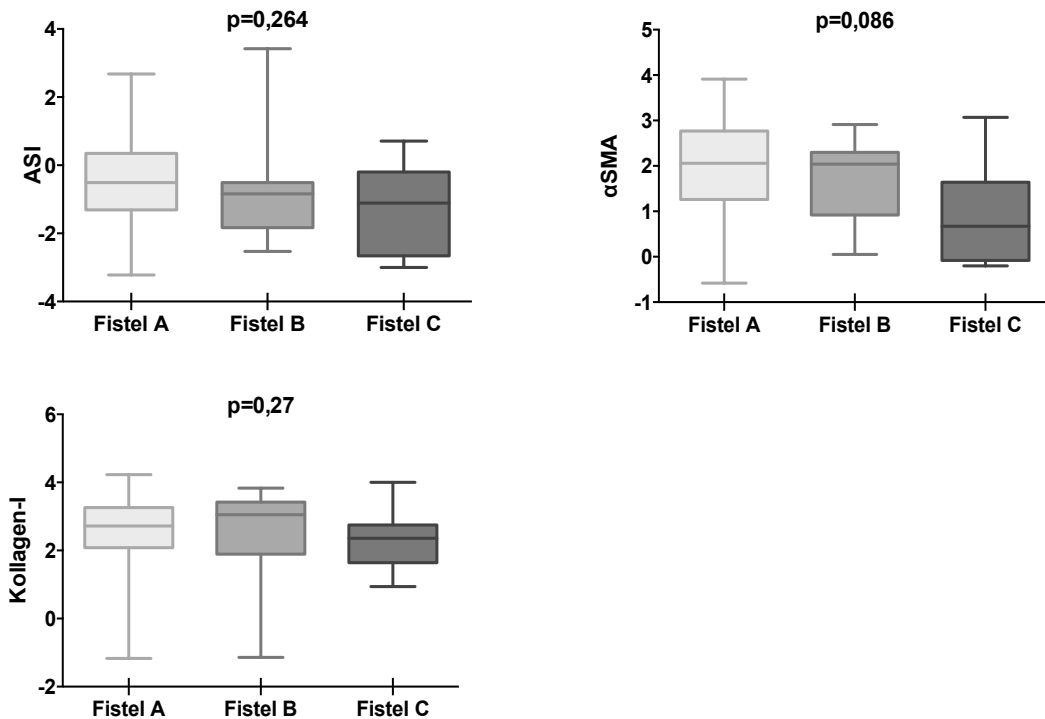


Diagramm 26 Es gibt kein Zusammenhang zwischen ASI, SMA oder Kollagen-I mit der Fistelgraduierung in der Subgruppe der Patienten mit Malignomen

Benigne Erkrankungen

Betrachtet man Patienten mit einer benignen Erkrankung (n=70) näher sieht man, dass für keinen der Werte ein signifikanter Zusammenhang besteht. (α SMA-Fistel = 1,82; IQR: 0,69 – 3,33 vs. α SMA-ohneFistel = 2,13; IQR: 0,15 – 3,84; p=0,082; s. Diagramm 27; ASI-Fistel = -0,47; IQR: -2,41 – 1,75 vs. ASI-ohne Fistel = -0,70; IQR: -3,51 – 1,13; p= 0,711; s. Diagramm 28; Kollagen-I-Fistel = 2,34; IQR: 0,88 – 3,89 vs. Kollagen-I-ohne Fistel =3,11; IQR: 0,39 – 4,35; p= 0,084; s. Diagramm 29) .

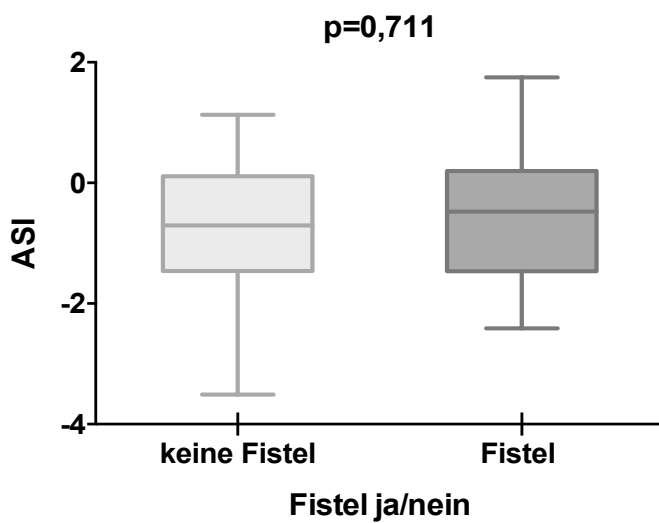


Diagramm 27 Patienten mit einem benignen Tumor zeigen keine signifikanten Unterschied in ASI bezgl der Pankreasfistel.

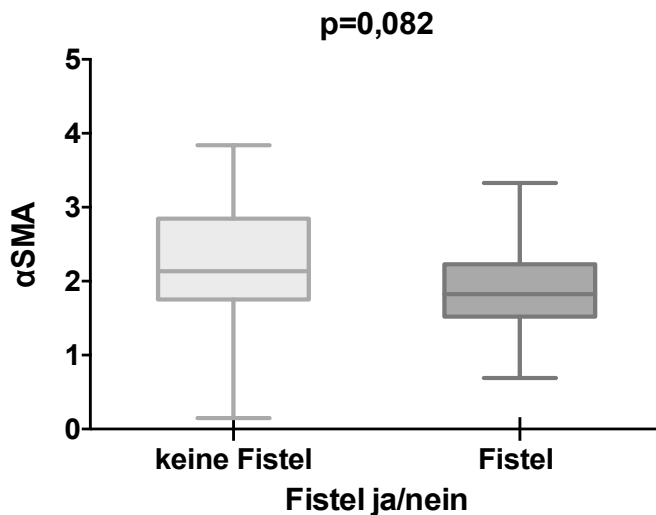


Diagramm 28 Die α SMA- Werte können bei Patienten mit einem benignen Tumor keine Pankreasfistel voraussagen

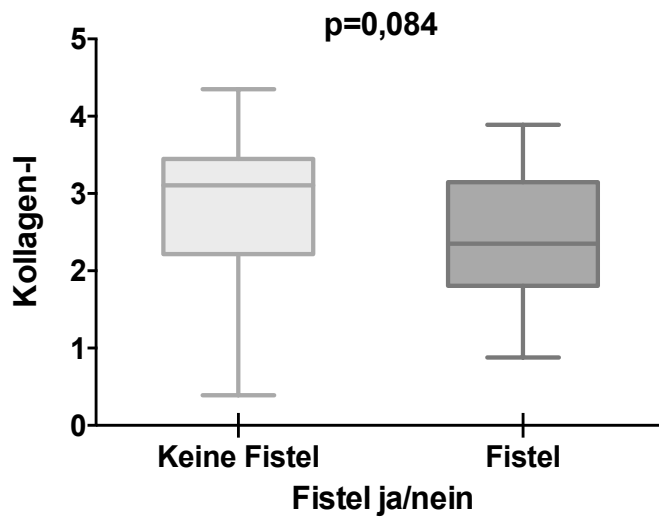


Diagramm 29 Auch die Kollagen-I-Werte sind nicht in der Lage bei Patienten mit einem benignen Tumor eine Pankreasfistel zu detektieren.

Bei den Patienten mit einer benignen Erkrankung kann kein Zusammenhang zwischen den einzelnen Parametern (ASI, α SMA, Kollagen-I) und der Fistelgraduierung gezeigt werden (s. Diagramm 30).

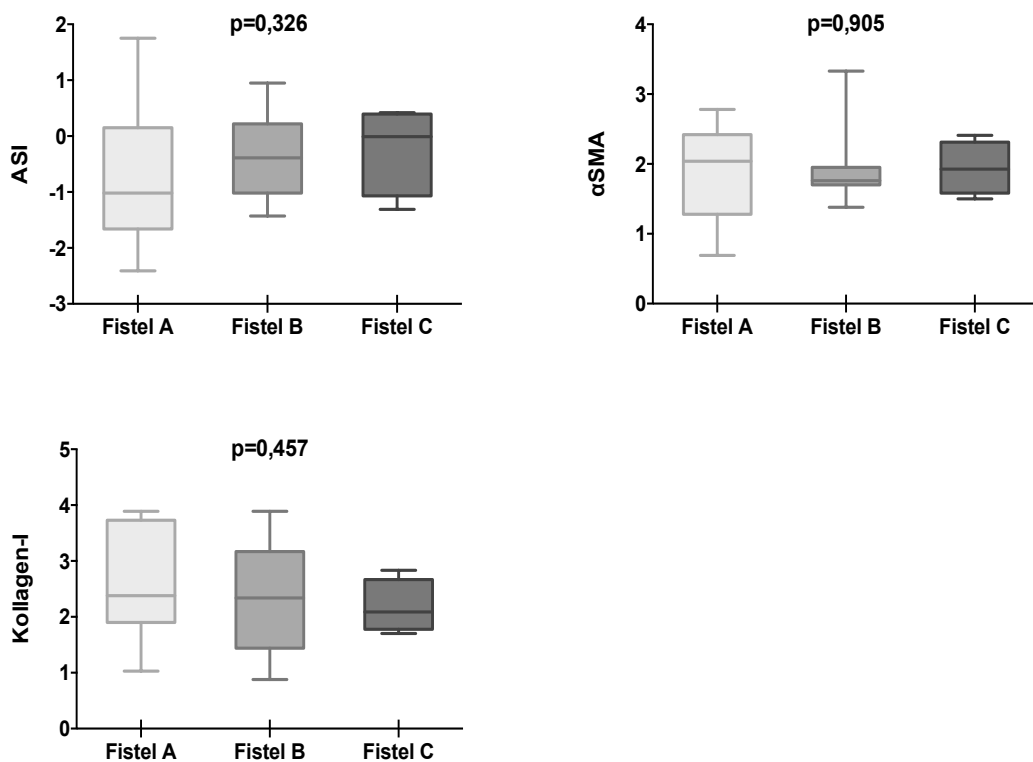


Diagramm 30 Keiner der Parameter kann zwischen den Fistelgraden bei Patienten mit einer benignen Erkrankung unterscheiden.

Chronische Pankreatitis

In der Betrachtung der Patienten (n=18) mit einer chronischen Pankreatitis zeigte sich für alle Werte kein signifikanter Unterschied. Auch in dieser kleinen Kohorte konnte die α SMA-Werte (α SMA-Fistel = 1,36; IQR: 0,31 – 3,31 vs. α SMA-ohne Fistel= 2,58; IQR 0,88 – 3,59; p=0,117; s. Diagramm 31) als auch der ASI (-1,08; IQR:-3,91 – 0,12 vs. ASI-ohne Fistel = -0,27; IQR -2,30 – 1,55; p=0,173; s. Diagramm 32), und die Kollagenwerte (2,86; IQR: 1,55 – 4,24 vs. Kollagen-I-ohne Fistel= 0,82; IQR:0,90 – 3,77; p=0,566; s. Diagramm 33) nicht signifikant zwischen einer Fistel oder keiner Fistel differenzieren.

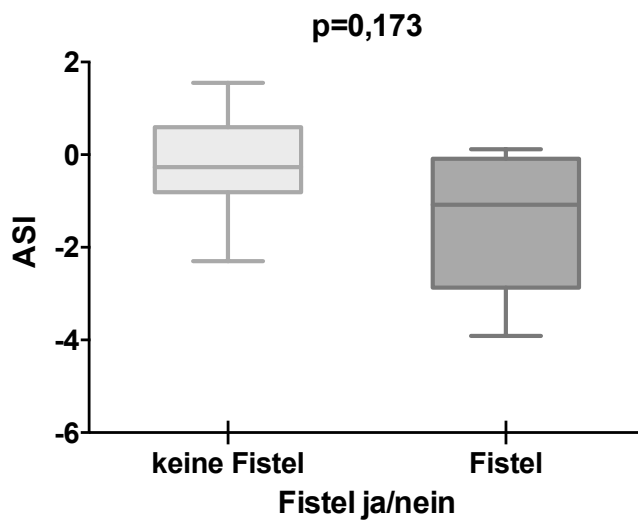


Diagramm 31 Patienten mit einer chronischen Pankreatitis zeigen im ASI-Wert keinen signifikanten Unterschied

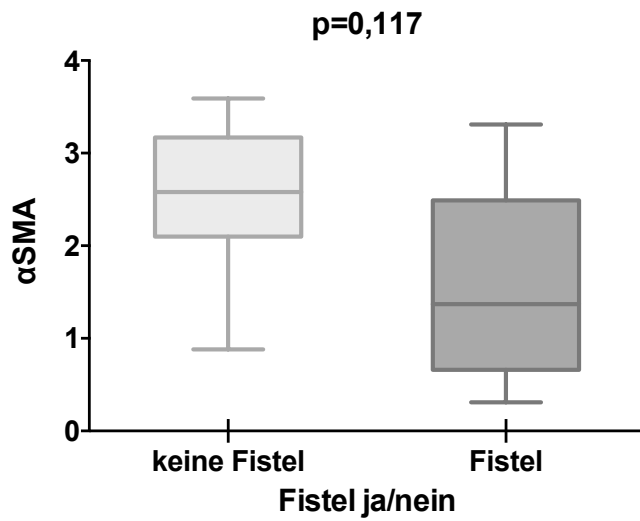


Diagramm 32 Die α SMA-Werte waren bei Patienten mit ein chronischer Pankreatitis bzgl. der Fistelrate nicht signifikanten unterschiedlich

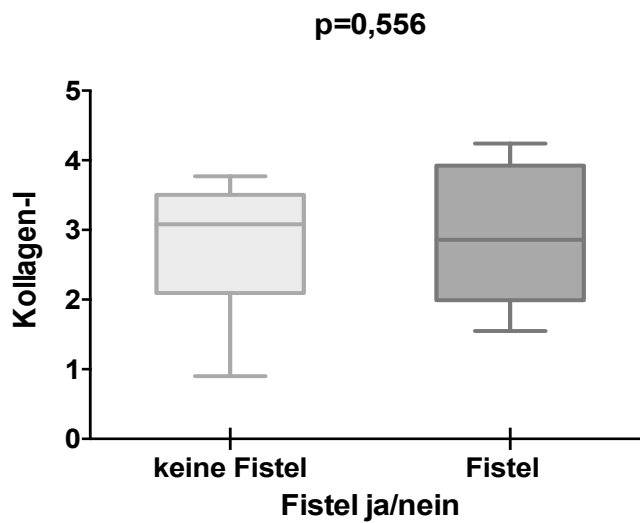


Diagramm 33 Auch die Kollagen-I-Werte waren bei Patienten mit ein chronischer Pankreatitis nicht in der Lage eine Fistel vorauszusagen

Bei den Patienten mit chronischer Pankreatitis lässt sich ebenfalls keine Abhängigkeit zwischen der Fistelgraduierung den einzelnen Werten zeigen.

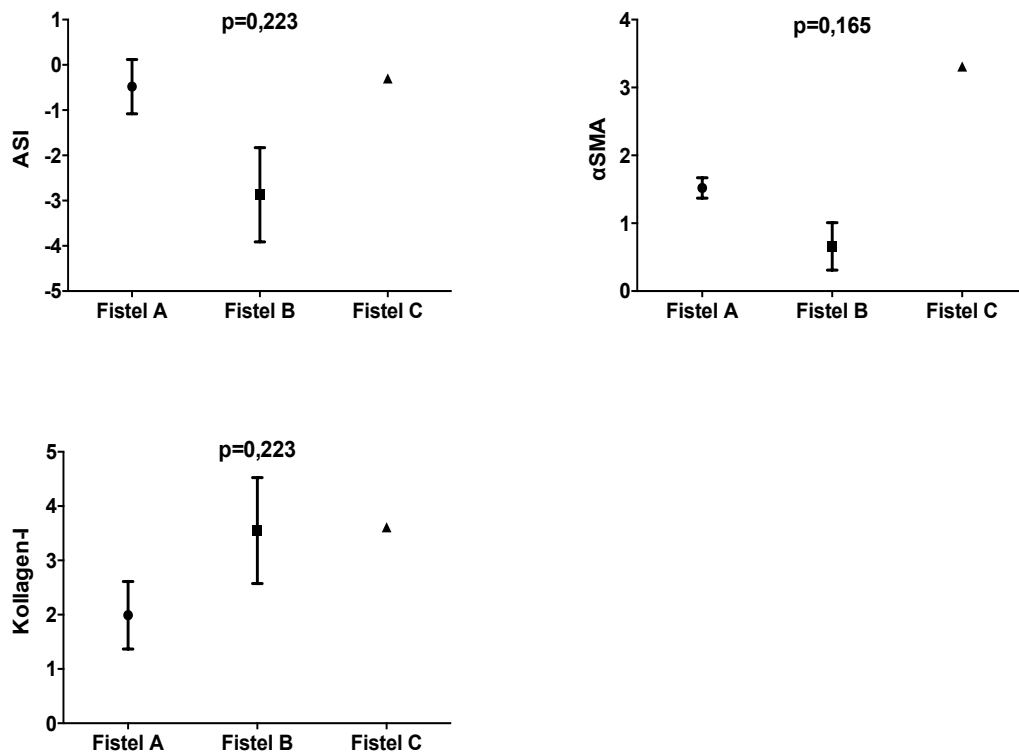


Diagramm 34 Auch in der Gruppe der Patienten mit einer chronische Pankreatitis lässt sich mit keinem der Messwerte eine Graduierung der Fistel festlegen.

Pseudozyste

Die Analyse der Patienten (n=6) mit einer Pseudozyste sieht man, dass die einzelnen Parameter weder eine Fistel voraussagen noch zwischen Fistelgraden unterscheiden können (s. Diagramm 35-27).

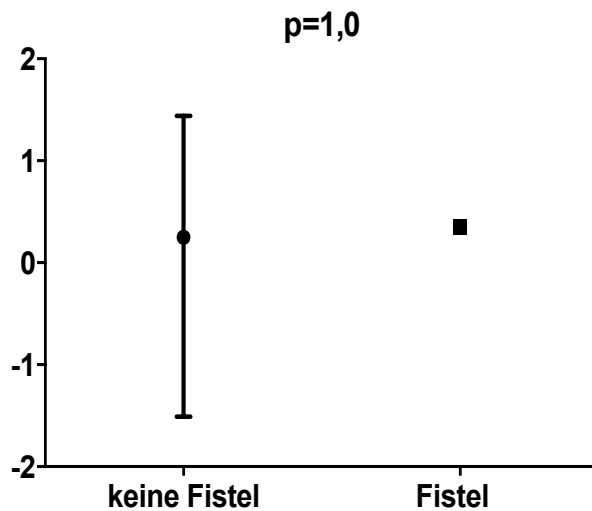


Diagramm 35 Die Subgruppenanalyse der Patienten mit einer Pseudozyste bestätigt, dass ASI keine Pankreasfistel voraussagen kann

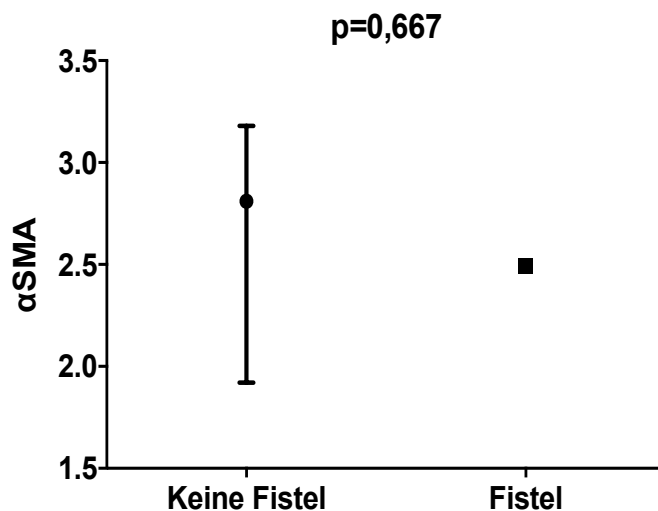


Diagramm 36 Auch der SMA-Wert kann in der Subgruppenanalyse der Patienten mit einer Pseudozyste keine Pankreasfistel nicht voraussagen

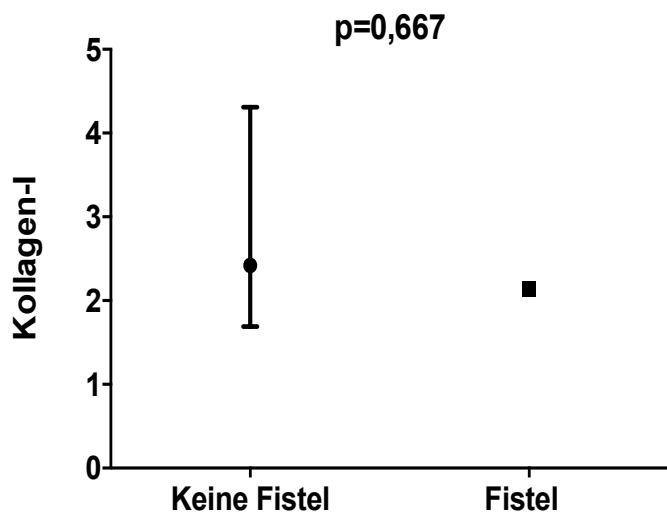


Diagramm 37 Auch in dieser Subgruppe ist Kollagen nicht geeignet eine Fistel erkennen.

Eine Untersuchung der Fistelgraduierung ist bei Fistel=1 nicht möglich.

Die klinisch relevanten Fisteln Grad B und C sind von der Pankreaserkrankung abhängig.

Betrachtet man die verschiedenen Entitäten im Hinblick auf die Entstehung der klinisch relevanten Fistel Grad B und C, konnte zwischen den unterschiedlichen Pankreaserkrankungen ein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,041$). 22 Patienten (19,8%) mit einer malignen Erkrankung, 11 (15,7%) mit einem benignen Tumor, 3 (16,7%) mit einer chronischen Pankreatitis und ein Erkrankter (16,7%) mit einer Pseudozyste zeigten eine klinisch relevante Fistel B oder C (s. Diagramm 29). Im direkten Vergleich von Patienten mit einer malignen Grunderkrankung gegen Patienten mit chronischer Pankreatitis zeigte sich weiterhin, dass Patienten mit einer malignen Grunderkrankung signifikant häufiger zu einer Fistel Grad B oder C neigten, als Patienten mit einer chronischen Pankreatitis ($p=0,033$; s. Diagramm 29).

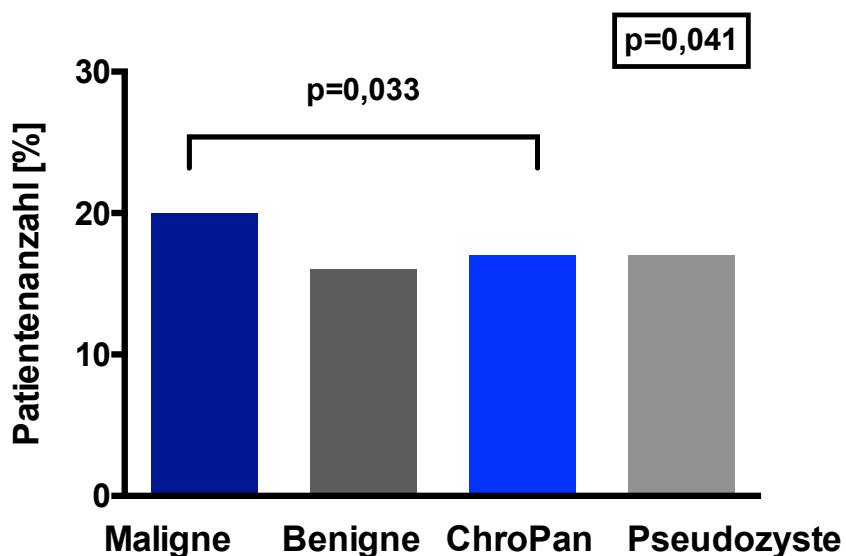


Diagramm 38 Patienten mit verschiedenen Erkrankungen haben signifikant unterschiedlich häufig eine klinisch relevante Fistel (Grad B oder C) $p=0,041$; Patienten mit einer malignen Erkrankung neigen signifikant häufiger zu einer klinisch relevanten Fistel (Grad B oder C) als Patienten mit einer chronischen Pankreatitis

4.2.5 Sensitivität und Spezifität der Werte

Um die potentiellen prädiktive Power der des ASI, α SMA, bzw. des InKollagen, zu ermitteln wurde eine ROC-Analyse (receiver operating characterisitc) durchgeführt, um die entsprechende Sensitivität und Spezifität der untersuchten Parameter zu ermitteln. So zeigt das α SMA als einziger Wert eine signifikante Sensitivität von 63,5 % und eine Spezifität von 60,3 % zur Ermittlung einer Pankreasfistel (area under the curve/AUC = 0,636 ($p=0,002$)). Die ASI- und Kollagen-I-Werte hatten hingegen keine signifikante Sensitivität oder Spezifität (s. Diagramm 31).

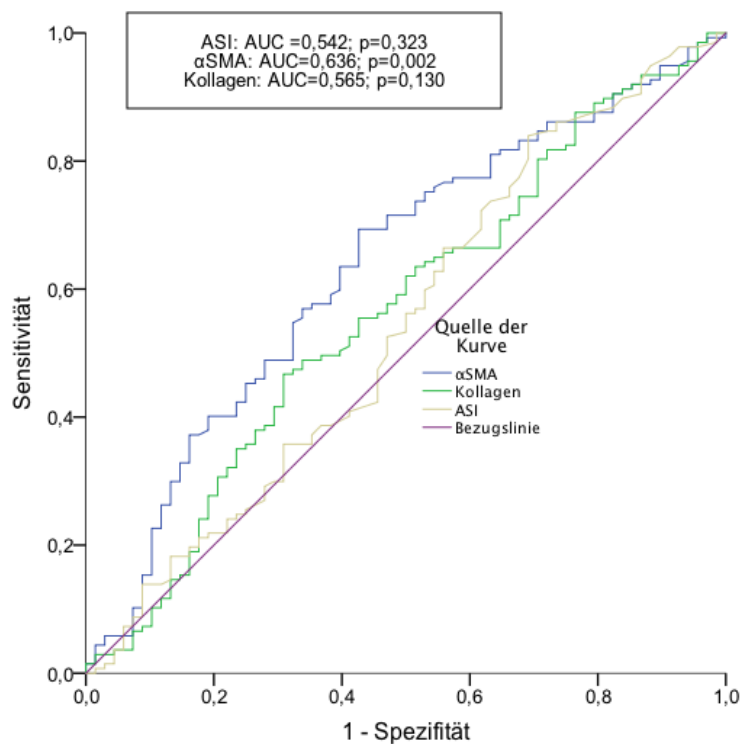


Diagramm 39 α SMA zeigt Signifikant mit einer Sensitivität von 63,5 % und eine Spezifität von 60,3 % eine Pankreasfistel an

4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zur Auswertung des potentiellen Einsatzes des Activated Stoma Index (ASI) bei der Detektion einer postoperativen Pankreasfistel wurden die histomorphologischen Schnitten von 221 Patienten nach einer Pankreaslinksresektion analysiert. 49,3% der Patienten (n=101) erhielten eine Pankreaslinksresektion mittels Stapler. In 50,7% der Fälle wurden die Pankreasstümpfe (n=104) mittels Handnaht verschlossen. Die Mehrzahl der Fälle hatten die Patienten eine maligne Grunderkrankung (54,1%, n=111), 34,1% (n=70) hatten einen benignen Tumor, 8,8% (n=18) litten an einer chronischen Pankreatitis und 2,9% (n=6) an einer Pseudozyste. Die durchschnittliche Operationsdauer betrug 174 ($\pm 79,16$) Minuten, wobei Patienten mit einer längeren Op-Zeit signifikant häufiger eine Pankreasfistel aufwiesen ($p=0,003$). Der durchschnittliche Krankenhausaufenthalt lag bei 15,54 ($\pm 15,98$) Tagen, wobei Patienten mit einer Pankreasfistel signifikant länger im Krankenhaus hospitalisiert waren ($p=0,0001$). In 33,7% (n=68) der untersuchten Patienten konnte eine postoperative Pankreasfistel nachgewiesen werden. Eine Fistel Grad A hatten hierbei 15,1% (n=31) der Patienten, 10,2% (n=21) Grad B und 7,8% (n=16) eine Fistel Grad C.

ASI

Die Korrelation der individuellen ASI-Werte ergab keine signifikanten Zusammenhang mit dem Auftreten einer postoperativen Pankreasfistel ($p=0,323$) und es konnte auch mit dem Einsatz des ASI-Werts die Entstehung einer Fistel nicht vorausgesagt werden ($p=0,597$). In der Subgruppenanalyse der unterschiedlichen Erkrankungsentitäten konnte auch kein Zusammenhang des ASI mit der Entstehung einer Pankreasfistel festgestellt werden.

α SMA

Allerdings konnte ein signifikanter Zusammenhang ($p= 0,002$) zwischen den individuell ermittelten α SMA-Werten und dem Auftreten einer Pankreasfistel nach einer Pankreaslinksresektion gezeigt werden, wobei Patienten mit niedrigeren α SMA-Werten vermehrt zu einer postoperativen Fistelbildung neigten. Dabei hatte α SMA eine signifikante Voraussagekraft mit einer Sensitivität von 63,5% und eine Spezifität von 60,3%. Jedoch konnte dabei

der α SMA die verschiedenen Fistelgraduierung nicht voneinander differenzieren ($p=0,25$).

Die unterschiedlichen Entitäten betrachtend, zeigte sich, dass Patienten mit einer malignen Grunderkrankung und einen niedrigen α SMA-Wert häufiger eine Fistel ausbildeten ($p=0,043$). Diese Beobachtung konnte sich in den anderen Subgruppen nicht bestätigen (benigne Erkrankungen: $p=0,082$; chronische Pankreatitis: $p=0,117$; Pseudozyste $p=0,667$). Weiterhin konnte der α SMA-Wert nicht zwischen den verschiedenen Fistelgraden (A, B und C) in den einzelnen Subgruppen unterscheiden.

Kollagen

Für die individuellen Kollagen-I-Werte bestand in allen Analysen und Subgruppenanalysen kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Pankreasfistel oder dessen Graduierung.

Erkrankungen und Fistelrate

Die Entität des Pankreastumors (maligne, benigne Tumore, chronische Pankreatitis, Pseudozyste) hatte interessanterweise keinen Einfluss auf die Entstehung einer Fistel. Lediglich im direkten Vergleich der Patienten mit einer chronischen Pankreatitis und Pankreaskarzinom, hatten letztere signifikant häufiger eine Pankreasfistel ($p=0,035$).

5. Diskussion

Der Pankreassaft ist ein höchst aggressives Sekret, welches eine breite Anhäufung von Verdauungsenzymen beinhaltet, das außerhalb des Darmlumens zu schweren Schäden in den benachbarten Organen führen kann. Tritt der Pankreassaft, zum Beispiel nach einer chirurgischen Pankreasresektion, unkontrolliert in die Bauchhöhle, so kann dies zur Entwicklung von lebensgefährlichen Blutungen (z.B. Arrosionsblutungen aus der A., V. lienalis) führen.²⁰ Diese verlaufen oft dramatisch mit zum Teil aktiven Blutungen, die zumeist lebensgefährlich sind und einer rascher Diagnostik, bzw. chirurgischer oder interventioneller (Angiographie) Therapie und intensivmedizinischer Betreuung bedürfen.²⁰ In diesem Zusammenhang spielt nicht nur der klinische Verlauf und die Genesung des Patienten, sondern auch die ebenso dramatische wirtschaftliche Belastung durch eine Fistel (vor allem Grad C Fistel) eine entscheidende Rolle. Die durchschnittliche Gesamtkrankenhaus-Verweildauer bei Patienten mit einer Fistel Grad C steigt von 8 Tagen auf 35 Tage an. Die Krankenhauskosten sind vier- bis achtmal höher als bei Patienten ohne eine Fistel, so dass auch aus medizinisch-ökonomischen Gründen die Vermeidung bzw. Früherkennung von postoperativen Pankreasfisteln elementar wichtig ist.⁶⁸

Aus diesen Gründen ist die Entstehung einer Pankreasfistel eine weitläufig gefürchtete Komplikation in der Pankreasschirurgie, die ständig im engen Fokus der chirurgischen Forschung steht. Hier gilt es Parameter zu identifizieren, die eine präventive Früherkennung möglich machen, um frühzeitig und gezielt intervenieren zu können. Daher wurde in der vorliegenden Dissertationsarbeit der klinische Einsatz des Activated Stoma Index (ASI) bei der Detektion einer postoperativen Pankreasfistel untersucht und überprüft.

In der großangelegten multizentrisch, randomisiert, kontrollierten DISPACT-Studie konnte eindeutig gezeigt werden, dass die Operationstechnik (Stapler vs. Handnaht) nicht der entscheidende Faktor ist, wenn es gilt die Entstehung einer postoperativen Pankreasfistel zu verhindern.²³ Daher erscheint es um so wichtiger die postoperativen Bedingungen zu verbessern bzw. zu

standardisieren, um eine drohende Pankreasfistel früh zu erkennen und entsprechend adäquat zu reagieren. Es wäre von erheblichem Vorteil Parameter zu entwickeln, die nach Operationen in der Lage sind suffizient und schnell die Pankreasfistelwahrscheinlichkeit voraussagen zu können, so dass folgende Therapiemaßnahmen ebenso schnell ergriffen werden können und somit ggf. eine Pankreasfistel verhindert, bzw. die Schäden durch die Pankreasfistel verringert werden können.

In der vorgelegten Dissertationsarbeit konnte eindeutig gezeigt werden, dass der Activated Stoma Index nicht die genügende Power besitzt, um zuverlässig die Entstehung einer Pankreasfistel vorauszusagen. Er konnte hierbei auch nicht zwischen den Entitäten als auch den unterschiedlichen Pankreasfistelgraden (A, B und C) unterscheiden. Die Ausbildung einer postoperativen Pankreasfistel nach Pankreaslinksresektionen konnte letztendlich nur durch patientenspezifischen α SMA-Aktivität und nicht die des Kollagen-1 zuverlässig prädiziert werden.

In der aktuellen Literatur wird diskutiert, ob der fibrotische bzw. desmoplastische Umbau des Pankreasgewebes im Rahmen der chronischen Pankreatitis und im Pankreaskarzinom durch aktivierte pankreatische Sternzellen (PSZ) bedingt ist. Hierbei scheint die α SMA-Immunoreaktivität das Ausmaß der PSZ-Aktivierung widerzuspiegeln. In diesem Zusammenhang aber, lässt sich nicht immer eine hohe Dichte an extrazellulärer Matrix (EZM) finden, wo die höchste stromale α SMA-Aktivität ist. Dies konnten bereits in der Arbeit von Erkan et al. gezeigt werden.²⁶ Die Forschung bezüglich der genauen Zusammenhänge zwischen PSZ und EZM im Pankreasgewebe ist noch in den Anfängen. Jedoch kann man sagen, dass ein ständiger interaktiver Umbau des Gewebes stattfindet. Die PSZ produzieren EZM-Proteine, sowie Enzyme, welche die EZM-Proteine Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) abbauen, aber auch Enzyme die MMPs inhibieren [Gewebeinhibitoren von Metalloproteinasen (TIMPs)].⁹² Die aktivierte PSZ erzeugen vermehrt ECM und es kommt zu einer Dysbalance, was letztendlich zu einer Fibrose führt.⁸⁷ Die genauen zeitlichen Zusammenhänge sind jedoch noch unklar.

Die Rolle der α SMA- und Kollagen-I Aktivität im Rahmen der postoperativen Pankreasfistelentstehung ist ein bislang nicht erforschtes Themengebiet.

In unseren präsentierten Daten konnten wir zeigen, dass niedrigere α SMA-Aktivitäten signifikant mit einer erhöhten Inzidenz von postoperativen Pankreasfisteln vergesellschaftet waren. Patienten mit einer hohen α SMA-Aktivität, also Patienten, die mit aktiven intrapankreatischen fibrotischen Umbauprozessen und einem harten Pankreas assoziiert sind, neigten dagegen signifikant weniger zu Pankreasfisteln. Dies konnte auch in der Arbeit von Sugimoto und Kollegen im Jahr 2014 bestätigt werden.⁸⁴ In der bislang einzigen Arbeit, die sich mit der individuellen α SMA-Aktivität und der Inzidenz der postoperativen Pankreasfistel beschäftigt, konnten die Autoren demonstrieren, dass eine erhöhte pankreatische Elastizität mit einem weichen Pankreas, als auch mit einer niedrigeren α SMA-Aktivität im Gewebe assoziiert war. Diese spezielle Subgruppe von Patienten zeigten signifikant häufiger das Auftreten von postoperativen Pankreasfisteln, wohingegen Patienten mit einer hohen α SMA-Aktivität, einer erniedrigten pankreatische Elastizität und einem harten Pankreas signifikant weniger eine Pankreasfistel entwickelten. Unsere Daten konnten diese Beobachtungen bestätigen und untermauern. Die α SMA-Aktivität ist ein spezifischer Marker in der Prädiktion von postoperativen Pankreasfisteln darstellt. Somit scheint die α SMA-Aktivität ein guter Parameter zur objektiven Einstufung der Pankreas-Konsistenz (Stiffness) zu sein.

Folgerichtig sollte die überschüssige Kollagen-I Produktion ebenfalls ein verlässlicher Parameter für die Stiffness des Pankreas sein. Bezüglich des Kollagen gibt es nur 12 publizierte Daten, die sich aber ausschließlich mit dem Einsatz von Kollagen-Flies Produkten beschäftigen, die nach der Resektion auf die Pankreasstümpfe aufgetragen werden, um die Entstehung der Pankreasfistel zu verringern bzw. zu vermeiden. Kausale Untersuchungen mit dem pankreatischen Gehalt an Kollagen-I bei unterschiedlichen Pankreastexturen, wie weicher oder harter Pankreas, sind bis zu der vorliegenden Arbeit nicht beschrieben. Eine ganz neue Arbeit von Drifka et al zeigte, dass sich das periduktale stromale Kollagen-I in seiner Topographie (Ausrichtung, Länge und Breite) bei Patienten mit duktalem Adenokarzinom

zu Patienten mit chronischer Pankreatitis unterscheidet²⁵. Welche Auswirkung dies hat und ob dadurch die Entstehung einer Pankreasfistel beeinflusst wird ist die Grundlage weitere Forschung. Die vorgelegten Ergebnisse dieser Arbeit zeigen jedoch eindeutig, dass dies nicht der Fall ist. Die Aktivität des Kollagen-I alleine lässt keine Aussage über die fibrotischen Umbauprozesse im Pankreas als auch über die Stiffness des Pankreas zu. Die neuesten Daten über die Zusammensetzung der ECM v.a. im Pankreaskarzinom zeigen, dass durch die Depletierung der Hyaluronsäure und nicht des Kollagens, es zu einer besseren Wirksamkeit der Chemotherapeutika kommt.⁷⁰ Welche Rolle die Hyaluronsäure im Rahmen der Pankreasstiffness spielt, ist noch unklar und sollte in zukünftigen Studien überprüft werden.

Erkan et al. zeigten 2009, dass Patienten mit fortgeschrittenen Pankreastumoren eine schlechtere Durchblutung des Pankreasgewebes haben, da weniger Blutgefäße vorhanden sind und diese durch die starken desmoplastischen Veränderungen verdrängt werden.²⁷ Diese Beobachtung ist deshalb von grossem Interesse, da wie auch durch Strasberg et al. gezeigt eine Minderdurchblutung durch Verminderung der Mikrovaskularisierung im Pankreasabsetzungsrand die Fistelentstehung positiv beeinflussen kann⁸¹ und sollte daher unbedingt Bestandteil zukünftiger Forschungsprojekte sein.

Im direkten Vergleich der Patienten mit maligner Erkrankung und chronischer Pankreatitis konnten wir die international anerkannte Theorie, dass Patienten mit einem Pankreaskarzinom signifikant häufiger zu einer Pankreasfistel neigen als Patienten mit chronischer Pankreatitis untermauern.⁶⁶ Geht man nun davon aus, dass Patienten mit Malignomen eine niedriger Anzahl an PSZ haben und dadurch bedingt eine geringere Fibrose und eine schlechtere Durchblutung haben, so würde dies sicherlich die Entstehung von Fisteln unterstützen. So hatten in dieser Arbeit 32,4% der Patienten mit einer malignen Erkrankung eine Fistel. Signifikant niedriger war hierbei die Fistelrate bei den Patienten mit chronischer Pankreatitis 27,8% ($p=0,035$).

Zur Diskussion der Subgruppenanalyse ist zu sagen, dass α SMA auch in der Patientengruppe mit malignen Erkrankungen die Fistel zuverlässig voraussagte, jedoch blieb diese Erkenntnis bei den anderen Erkrankungen aus. In diversen Untersuchungen konnte vor allem die Arbeitsgruppe um Apte et al. zeigen, dass die aktivierten PSZ und damit das α SMA besonders in den Karzinomen und der chronischen Pankreatitis vorkommen⁷. Eine Untersuchung der benignen Erkrankungen gibt es in der internationalen Literatur nicht. Aber der Theorie nach sind bei dieser Art der Erkrankung die PSZ geringer aktiviert, somit wird α SMA weniger exprimiert. Dadurch ist α SMA in der Gruppe der benignen Erkrankung (benigne Tumore und Pseudozyste) zur Voraussage einer Fistel unzuverlässig. Warum jedoch sich die Fistelentstehung in der Gruppe der Patienten mit einer chronischen Pankreatitis nicht voraussagen ließ, mag daran liegen, dass diese Gruppe sehr klein ist. Aufgrund der geringen Fallzahl (n = 18) sind die Aussagen in dieser Krankheitsgruppe mit Vorsicht zu betrachten.

Ein wichtiger weiterer Faktor der erwähnt werden muss, ist das die α SMA-Aktivität die postoperative Pankreasfistel nach Pankreaslinksresektionen zwar signifikant jedoch nur mit einer Sensitivität von 63,5 % und eine Spezifität von 60,3 % eine voraussagt.

Nimmt man nun dennoch an, dass die α SMA-Aktivität ein zuverlässiger Parameter ist, muss das Zeitmanagement zur Bestimmung des Parameters betrachtet werden. Die Herstellung der Schnitte, die immunhistochemische Aufbereitung der Präparate und letztendlich die computergestützte Analyse der eingescannten Bilder ist sehr zeitintensiv. Berechtigt stellt sich die Frage, ob noch ein klinisch relevanter Effekt nach etwa 5-7 Tagen, die zur Erhebung der Parameter leider notwendig ist, zu erwarten ist. Meist ist nach diesem Zeitraum die einliegende Drainage, die zur Therapie notwendig wäre gezogen und der Therapieeffekt der durch die Somatostatin-Analoga erreicht werden kann nur noch gering. Auch anders formuliert, nach 5-7 Tagen ist in der Regel ersichtlich, ob ein Patient eine postoperative Pankreasfistel bekommen hat oder nicht und die entsprechenden klinischen Schritte sind bereit

eingeschlagen. Zu diesem Zeitpunkt kommt dann die Information aus ASI bzw. dem scheinbar besseren Wert, der individuellen α SMA-Aktivität zu spät.

Die Entstehung von postoperativen Fisteln ist sicherlich ein komplexes Gebilde, das sich aus mehreren Komponenten zusammensetzt. Vielleicht kann in der Zukunft ein Index entwickelt werden, der alle, scheinbar wichtigen, Faktoren mit berücksichtigt. Sinnvoll wäre sicherlich ein Index, der die Stiffness (wobei hier zuvor geklärt werden muss, ob SMA, Kollagen-I oder doch die Hyaluronsäure ein besserer Parameter hierfür ist) mit der Weite des Pankreasganges kombiniert und die Resektionsart (z.B. Stapler vs. Handnaht) an den unterschiedlichen Erkrankungsarten (z.B. Pankreatitis vs. Pankreaskarzinom) vergleicht.

Der umfangreiche ASI-Test, der zur Bestimmung der Parameter notwendig ist, konnte als klinisches Tool nicht überzeugen. Der ASI hat somit keinen Stellenwert in der Detektion von Pankreasfisteln nach Pankreasresektionen. Jedoch kann mit dieser Arbeit der wissenschaftliche Wert von Pankreassternzellen betont werden, da deren Aktivität mit dem der α SMA-Aktivität einhergehen. Weitere Arbeiten, die diesen Stellenwert untersuchen, sollten folgen. Wir konnten mit der vorliegenden Arbeit zwar den ersten Schritt zur Entwicklung eines molekularbiologischen Markers zur Detektion der Pankreasstiffness einleiten, jedoch ist dieser weder ausreichend sensitiv noch spezifisch zur Vorhersage einer postoperativen Fistel geeignet.

6. Zusammenfassung

Hintergründe:

Die Pankreasfistel ist die gefürchtetste Komplikation nach Pankreaslinksresektionen. In der Internationalen Literatur wird die Rate der Fistel mit bis zu 49% beschrieben. Das Pankreassekret enthält höchst aggressive Enzyme, was nach peripankreatischen Paravasat zu lebensgefährlichen Komplikationen (z.B. Arrosionsblutungen) führen kann. Auch Ökonomisch ist die Pankreasfistel eine große Belastung für das Gesundheitssystem. Die Behandlungskosten für Patienten mit einer Grad-C-Fistel sind 4-8x höher als für Patienten ohne eine Fistel. Daher ist die Früherkennung der Pankreasfistel zur frühzeitigen und gezielten Intervention unerlässlich. In dieser Arbeit sollte herausgefunden werden ob der durch Erkan et al 2008 beschriebenen Activated Stoma Index (ASI = α SMA / Kollagen) die Stiffness des Pankreas widerspiegelt und somit eine Pankreasfistel vorausgesagt werden kann.

Material und Methoden:

Zur Auswertung standen die histomorphologischen Schnitten und Daten von 205 Patienten mit einer Pankreaslinksresektion, welche im Rahmen der DISPACT-Studie erfasst wurden, zur Verfügung. Die immunhistochemische Aufbereitung der Schnitte erfolgte mit α SMA-Antikörper (1:1500) und kollagenspezifischem Anilinblau der Masson Trichromfärbungen (ohne Gegenfärbung). Nach dem Einscannen der Objektträger mit 4000 Pixel/ Inch erfolgte die computerunterstützte Analyse der digitalen Bilder mit Adobe Photoshop 12.0. Nach Errechnung des ASI wurden die Daten mit SPSS und GraphPad Prism analysiert.

Ergebnisse:

Die Arbeit zeigte, dass ASI weder die Pankreasfistel ($p=0,323$) noch die Pankreasfistelgraduierung voraussagen ($p=0,597$) konnte. Auch in einer Subgruppenanalyse der unterschiedlichen Erkrankungsentitäten konnte kein

Zusammenhang des ASI mit der Entstehung einer Pankreasfistel festgestellt werden.

Allerdings konnte ein signifikanter Zusammenhang ($p=0,002$) zwischen den individuell ermittelten α SMA-Aktivitäten und dem Auftreten einer Pankreasfistel ermittelt werden. Patienten mit niedrigeren α SMA-Werten neigten vermehrt zu einer postoperativen Fistelbildung. Dabei hatte α SMA eine signifikante Voraussagekraft mit einer Sensitivität von 63,5% und eine Spezifität von 60,3%. Jedoch konnte dabei der α SMA die verschiedenen Fistelgraduierung nicht voneinander differenzieren ($p=0,25$).

Die unterschiedlichen Tumor-Entitäten betrachtend, zeigte sich, dass Patienten mit einer malignen Grunderkrankung und einer niedrigen α SMA-Aktivität häufiger eine Fistel ausbildeten ($p=0,043$). Diese Beobachtung konnte sich in den anderen Subgruppen nicht bestätigen (benigne Erkrankungen: $p=0,082$; chronische Pankreatitis: $p=0,117$; Pseudozyste $p=0,667$). Weiterhin konnte der α SMA-Wert nicht zwischen den verschiedenen Fistelgraden (A, B und C) in den einzelnen Subgruppen unterscheiden.

Die Entität des Pankreastumors (maligne, benigne Tumore, chronische Pankreatitis, Pseudozyste) hatte interessanterweise keinen Einfluss auf die Entstehung einer Fistel. Lediglich im direkten Vergleich der Patienten mit einer chronischen Pankreatitis und Pankreaskarzinom, hatten letztere signifikant häufiger eine Pankreasfistel ($p=0,035$).

Schlussfolgerung:

Der umfangreiche Test, der zur Bestimmung des Activated Stoma Index notwendig ist, konnte nicht als klinisches Tool überzeugen. Der ASI hat somit keinen Stellenwert in der Detektion von Pankreasfisteln, jedoch zeigt sich zum ersten Mal durch die vorgelegten Ergebnisse der α SMA-Aktivität die potentielle Rolle der pankreatischen Sternzellen in dieser klinischen Fragestellung.

.... DANKSAGUNG ...

Es ist geschafft: meine Dissertation!

Ich möchte mich als erstes beim meinem Betreuer und Mentor PD Dr. Ceyhan bedanken. Mit viel Geduld, Herzlichkeit und kompetentem Rat hat er mich in jeder Phase dieser Arbeit begleitet. Seine positive Energie und uneingeschränkte Bereitschaft mir sein großes wissenschaftliches Wissen weiterzugeben, hat wesentlich zum Erstellen der Arbeit beigetragen. Danke, dass ich einen so großartigen Mentor habe.

Herrn Prof. Dr. Kleeff und PD Dr. Erkan möchte ich für die freundliche Überlassung des hochinteressanten Themas und der Kontaktherstellung zur Forschungsgruppe in Heidelberg herzlich danken. Ich verdanke Ihnen darüber hinaus viele anregende Diskussionen zum Thema.

Den Kollegen aus Heidelberg, insbesondere Prof. Dr. Diener und PD Dr. Mihaljevic, möchte ich für zahlreiche konstruktive Ratschläge und die Bereitstellung Ihrer Datenbank und Präparate danken.

Für die große Unterstützung mit der mich Herr Carsten Jäger durch die Wirren der Datenbanken führte, danke ich sehr. Er hat mir geduldig die sinnvolle Verwendung der notwendigen technischen Mittel (Adobe, SPSS, EndNote...) gezeigt.

Frau Scholle danke ich für die kompetente Unterstützung bei der Erstellung, der in der Einleitung verwendeten, anatomischen Bilder.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Familie, die mir das Studium der Medizin ermöglichte und mir auch während der Anfertigung der Doktorarbeit immer unterstützend und liebevoll zur Seite stand.

Meinem Ehemann danke ich aus ganzem Herzen für alles!

Literaturverzeichnis

- 1 Allen, P. J., Gonen, M., Brennan, M. F., Bucknor, A. A., Robinson, L. M., Pappas, M. M., Carlucci, K. E., D'Angelica, M. I., DeMatteo, R. P., Kingham, T. P., Fong, Y. & Jarnagin, W. R. Pasireotide for postoperative pancreatic fistula. *N Engl J Med* **370**, 2014-2022, doi:10.1056/NEJMoa1313688 (2014).
- 2 Andoh, A., Takaya, H., Saotome, T., Shimada, M., Hata, K., Araki, Y., Nakamura, F., Shintani, Y., Fujiyama, Y. & Bamba, T. Cytokine regulation of chemokine (IL-8, MCP-1, and RANTES) gene expression in human pancreatic periacinar myofibroblasts. *Gastroenterology* **119**, 211-219 (2000).
- 3 Andren-Sandberg, A., Wagner, M., Tihanyi, T., Lofgren, P. & Friess, H. Technical aspects of left-sided pancreatic resection for cancer. *Dig Surg* **16**, 305-312, doi:18740 [pii] (1999).
- 4 Aoki, H., Ohnishi, H., Hama, K., Ishijima, T., Satoh, Y., Hanatsuka, K., Ohashi, A., Wada, S., Miyata, T., Kita, H., Yamamoto, H., Osawa, H., Sato, K., Tamada, K., Yasuda, H., Mashima, H. & Sugano, K. Autocrine loop between TGF-beta1 and IL-1beta through Smad3- and ERK-dependent pathways in rat pancreatic stellate cells. *American journal of physiology. Cell physiology* **290**, C1100-1108, doi:10.1152/ajpcell.00465.2005 (2006).
- 5 Apte, M., Pirola, R. & Wilson, J. The fibrosis of chronic pancreatitis: new insights into the role of pancreatic stellate cells. *Antioxidants & redox signaling* **15**, 2711-2722, doi:10.1089/ars.2011.4079 (2011).
- 6 Apte, M. V., Haber, P. S., Applegate, T. L., Norton, I. D., McCaughan, G. W., Korsten, M. A., Pirola, R. C. & Wilson, J. S. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut* **43**, 128-133 (1998).
- 7 Apte, M. V., Pirola, R. C. & Wilson, J. S. Pancreatic stellate cells: a starring role in normal and diseased pancreas. *Frontiers in physiology* **3**, 344, doi:10.3389/fphys.2012.00344 (2012).
- 8 Bachem, M. G., Schneider, E., Gross, H., Weidenbach, H., Schmid, R. M., Menke, A., Siech, M., Beger, H., Grunert, A. & Adler, G. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology* **115**, 421-432 (1998).

- 9 Baker, T. A., Aaron, J. M., Borge, M., Pierce, K., Shoup, M. & Aranha, G. V. Role of interventional radiology in the management of complications after pancreaticoduodenectomy. *Am J Surg* **195**, 386-390; discussion 390, doi:S0002-9610(07)00989-0 [pii]10.1016/j.amjsurg.2007.12.026 (2008).
- 10 Balzano, G., Zerbi, A., Cristallo, M. & Di Carlo, V. The unsolved problem of fistula after left pancreatectomy: the benefit of cautious drain management. *J Gastrointest Surg* **9**, 837-842, doi:S1091-255X(05)00322-7 [pii] 10.1016/j.gassur.2005.01.287 (2005).
- 11 Bartoli, F. G., Arnone, G. B., Ravera, G. & Bachi, V. Pancreatic fistula and relative mortality in malignant disease after pancreaticoduodenectomy. Review and statistical meta-analysis regarding 15 years of literature. *Anticancer research* **11**, 1831-1848 (1991).
- 12 Bassi, C., Falconi, M., Salvia, R., Mascetta, G., Molinari, E. & Pederzoli, P. Management of complications after pancreaticoduodenectomy in a high volume centre: results on 150 consecutive patients. *Dig Surg* **18**, 453-457; discussion 458, doi:dsu18453 [pii] (2001).
- 13 Bassi, C., Dervenis, C., Butturini, G., Fingerhut, A., Yeo, C., Izbicki, J., Neoptolemos, J., Sarr, M., Traverso, W. & Buchler, M. Postoperative pancreatic fistula: an international study group (ISGPF) definition. *Surgery* **138**, 8-13, doi:S0039606005002291 [pii]10.1016/j.surg.2005.05.001 (2005).
- 14 Beger, H. G., Schlosser, W., Siech, M. & Poch, B. The surgical management of chronic pancreatitis: duodenum-preserving pancreatectomy. *Adv Surg* **32**, 87-104 (1999).
- 15 Beger, H. G., Rau, B., Gansauge, F., Poch, B. & Link, K. H. Treatment of pancreatic cancer: challenge of the facts. *World J Surg* **27**, 1075-1084, doi:10.1007/s00268-003-7165-7 (2003).
- 16 Berberat, P. O., Friess, H., Kleeff, J., Uhl, W. & Buchler, M. W. Prevention and treatment of complications in pancreatic cancer surgery. *Dig Surg* **16**, 327-336, doi:18743 [pii] (1999).
- 17 Bilimoria, M. M., Cormier, J. N., Mun, Y., Lee, J. E., Evans, D. B. & Pisters, P. W. Pancreatic leak after left pancreatectomy is reduced following main pancreatic duct ligation. *Br J Surg* **90**, 190-196, doi:10.1002/bjs.4032 (2003).

- 18 Bramhall, S. R. & Neoptolemos, J. P. Adjuvant chemotherapy in pancreatic cancer. *Int J Pancreatol* **21**, 59-63, doi:10.1007/BF02785921 (1997).
- 19 Buchler, M., Friess, H., Schultheiss, K. H., Gebhardt, C., Kubel, R., Muhrer, K. H., Winkelmann, M., Wagener, T., Klapdor, R., Kaul, M. & et al. A randomized controlled trial of adjuvant immunotherapy (murine monoclonal antibody 494/32) in resectable pancreatic cancer. *Cancer* **68**, 1507-1512 (1991).
- 20 Buchler, M. W., Friess, H., Wagner, M., Kulli, C., Wagener, V. & Z'Graggen, K. Pancreatic fistula after pancreatic head resection. *Br J Surg* **87**, 883-889, doi:bjs1465 [pii]10.1046/j.1365-2168.2000.01465.x (2000).
- 21 Callery, M. P., Pratt, W. B. & Vollmer, C. M., Jr. Prevention and management of pancreatic fistula. *J Gastrointest Surg* **13**, 163-173, doi:10.1007/s11605-008-0534-7 (2009).
- 22 Casini, A., Galli, A., Pignalosa, P., Frulloni, L., Grappone, C., Milani, S., Pederzoli, P., Cavallini, G. & Surrenti, C. Collagen type I synthesized by pancreatic periacinar stellate cells (PSC) co-localizes with lipid peroxidation-derived aldehydes in chronic alcoholic pancreatitis. *The Journal of pathology* **192**, 81-89, doi:10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<:AID-PATH675>3.0.CO;2-N (2000).
- 23 Diener, M. K., Seiler, C. M., Rossion, I., Kleeff, J., Glanemann, M., Butturini, G., Tomazic, A., Bruns, C. J., Busch, O. R., Farkas, S., Belyaev, O., Neoptolemos, J. P., Halloran, C., Keck, T., Niedergethmann, M., Gellert, K., Witzigmann, H., Kollmar, O., Langer, P., Steger, U., Neudecker, J., Berrevoet, F., Ganzera, S., Heiss, M. M., Luntz, S. P., Bruckner, T., Kieser, M. & Buchler, M. W. Efficacy of stapler versus hand-sewn closure after distal pancreatectomy (DISPACT): a randomised, controlled multicentre trial. *Lancet* **377**, 1514-1522, doi:S0140-6736(11)60237-7 [pii]10.1016/S0140-6736(11)60237-7 (2011).
- 24 Dong, X., Zhang, B., Kang, M. X., Chen, Y., Guo, Q. Q. & Wu, Y. L. Analysis of pancreatic fistula according to the International Study Group on Pancreatic Fistula classification scheme for 294 patients who underwent pancreaticoduodenectomy in a single center. *Pancreas* **40**, 222-228, doi:10.1097/MPA.0b013e3181f82f3c (2011).

- 25 Drifka, C. R., Tod, J., Loeffler, A. G., Liu, Y., Thomas, G. J., Eliceiri, K. W. & Kao, W. J. Periductal stromal collagen topology of pancreatic ductal adenocarcinoma differs from that of normal and chronic pancreatitis. *Mod Pathol* **28**, 1470-1480, doi:10.1038/modpathol.2015.97 (2015).
- 26 Erkan, M., Michalski, C. W., Rieder, S., Reiser-Erkan, C., Abiatari, I., Kolb, A., Giese, N. A., Esposito, I., Friess, H. & Kleeff, J. The activated stroma index is a novel and independent prognostic marker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* **6**, 1155-1161, doi:S1542-3565(08)00498-9 [pii]10.1016/j.cgh.2008.05.006 (2008).
- 27 Erkan, M., Reiser-Erkan, C., Michalski, C. W., Deucker, S., Sauliunaite, D., Streit, S., Esposito, I., Friess, H. & Kleeff, J. Cancer-stellate cell interactions perpetuate the hypoxia-fibrosis cycle in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Neoplasia* **11**, 497-508 (2009).
- 28 Erkan, M., Adler, G., Apte, M. V., Bachem, M. G., Buchholz, M., Detlefsen, S., Esposito, I., Friess, H., Gress, T. M., Habisch, H. J., Hwang, R. F., Jaster, R., Kleeff, J., Kloppel, G., Kordes, C., Logsdon, C. D., Masamune, A., Michalski, C. W., Oh, J., Phillips, P. A., Pinzani, M., Reiser-Erkan, C., Tsukamoto, H. & Wilson, J. StellaTUM: current consensus and discussion on pancreatic stellate cell research. *Gut* **61**, 172-178, doi:10.1136/gutjnl-2011-301220 (2012).
- 29 Erkan, M., Hausmann, S., Michalski, C. W., Schlitter, A. M., Fingerle, A. A., Dobritz, M., Friess, H. & Kleeff, J. How fibrosis influences imaging and surgical decisions in pancreatic cancer. *Frontiers in physiology* **3**, 389, doi:10.3389/fphys.2012.00389 (2012).
- 30 Fahy, B. N., Frey, C. F., Ho, H. S., Beckett, L. & Bold, R. J. Morbidity, mortality, and technical factors of distal pancreatectomy. *Am J Surg* **183**, 237-241, doi:S0002961002007900 [pii] (2002).
- 31 Frey, C. F. The surgical management of chronic pancreatitis: the Frey procedure. *Adv Surg* **32**, 41-85 (1999).
- 32 Friess, H., Beger, H. G., Sulkowski, U., Becker, H., Hofbauer, B., Dennler, H. J. & Buchler, M. W. Randomized controlled multicentre study of the prevention of complications by octreotide in patients undergoing surgery for chronic pancreatitis. *Br J Surg* **82**, 1270-1273 (1995).

- 33 Friess, H. & Buchler, M. W. Efficacy of somatostatin and its analogues in pancreatic surgery and pancreatic disorders. *Digestion* **57 Suppl 1**, 97-102 (1996).
- 34 Gans, S. L., van Westreenen, H. L., Kiewiet, J. J., Rauws, E. A., Gouma, D. J. & Boermeester, M. A. Systematic review and meta-analysis of somatostatin analogues for the treatment of pancreatic fistula. *Br J Surg* **99**, 754-760, doi:10.1002/bjs.8709 (2012).
- 35 Guidelines, A. G. A. <http://www.gastro.org/practice/medical-position-statements>.
- 36 Hackert, T., Werner, J. & Buchler, M. W. Postoperative pancreatic fistula. *Surgeon* **9**, 211-217, doi:S1479-666X(10)00273-8 [pii]10.1016/j.surge.2010.10.011 (2011).
- 37 Halloran, C. M., Ghaneh, P., Bosonnet, L., Hartley, M. N., Sutton, R. & Neoptolemos, J. P. Complications of pancreatic cancer resection. *Dig Surg* **19**, 138-146, doi:52029 [pii] (2002).
- 38 Hamilton, N. A., Porembka, M. R., Johnston, F. M., Gao, F., Strasberg, S. M., Linehan, D. C. & Hawkins, W. G. Mesh reinforcement of pancreatic transection decreases incidence of pancreatic occlusion failure for left pancreatectomy: a single-blinded, randomized controlled trial. *Ann Surg* **255**, 1037-1042, doi:10.1097/SLA.0b013e31825659ef (2012).
- 39 Heinrich S, B. M. in *Hepatobiliäre und Pankreastumoren* (ed Ittel Brith, Pereira) 6-8 (Springer, 2010).
- 40 Ho, C. K., Kleeff, J., Friess, H. & Buchler, M. W. Complications of pancreatic surgery. *HPB (Oxford)* **7**, 99-108, doi:10.1080/13651820510028936 (2005).
- 41 Howard, J. M., Hess, W. *The Early Surgeon - Anatomists*. (Kluwer Academic / Plenum 2002).
- 42 <http://www.surgicalstaplermuseum.com/>.
- 43 Ikejiri, N. The vitamin A-storing cells in the human and rat pancreas. *The Kurume medical journal* **37**, 67-81 (1990).
- 44 Jalleh, R. P., Aslam, M. & Williamson, R. C. Pancreatic tissue and ductal pressures in chronic pancreatitis. *Br J Surg* **78**, 1235-1237 (1991).
- 45 Kadowaki, S., Miura, F., Amano, H., Toyota, N., Wada, K., Shibuya, M., Maeno, S., Takada, T. & Sano, K. Whereabouts of an internal short stent placed across the pancreaticojejunostomy following pancreatoduodenectomy. *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences* **19**, 566-577, doi:10.1007/s00534-012-0533-7 (2012).

- 46 Kajiyama, Y., Tsurumaru, M., Udagawa, H., Tsutsumi, K., Kinoshita, Y. & Akiyama, H. Quick and simple distal pancreatectomy using the GIA stapler: report of 35 cases. *Br J Surg* **83**, 1711 (1996).
- 47 Karger, A., Fitzner, B., Brock, P., Sparmann, G., Emmrich, J., Liebe, S. & Jaster, R. Molecular insights into connective tissue growth factor action in rat pancreatic stellate cells. *Cellular signalling* **20**, 1865-1872, doi:10.1016/j.cellsig.2008.06.016 (2008).
- 48 Kawai, M., Tani, M., Okada, K., Hirono, S., Miyazawa, M., Shimizu, A., Kitahata, Y. & Yamaue, H. Stump closure of a thick pancreas using stapler closure increases pancreatic fistula after distal pancreatectomy. *Am J Surg* **206**, 352-359, doi:10.1016/j.amjsurg.2012.11.023 (2013).
- 49 Kleeff, J., Diener, M. K., Z'Graggen, K., Hinz, U., Wagner, M., Bachmann, J., Zehetner, J., Muller, M. W., Friess, H. & Buchler, M. W. Distal pancreatectomy: risk factors for surgical failure in 302 consecutive cases. *Ann Surg* **245**, 573-582, doi:10.1097/01.sla.0000251438.43135.fb 00000658-200704000-00013 [pii] (2007).
- 50 Kleitsch, W. P. Anatomy of the pancreas; a study with special reference to the duct system. *AMA Arch Surg* **71**, 795-802 (1955).
- 51 Klempa, I., Schwedes, U. & Usadel, K. H. [Prevention of postoperative pancreatic complications following duodenopancreatectomy using somatostatin]. *Chirurg* **50**, 427-431 (1979).
- 52 Knaebel, H. P., Diener, M. K., Wente, M. N., Buchler, M. W. & Seiler, C. M. Systematic review and meta-analysis of technique for closure of the pancreatic remnant after distal pancreatectomy. *Br J Surg* **92**, 539-546, doi:10.1002/bjs.5000 (2005).
- 53 Koti, R. S., Gurusamy, K. S., Fusai, G. & Davidson, B. R. Meta-analysis of randomized controlled trials on the effectiveness of somatostatin analogues for pancreatic surgery: a Cochrane review. *HPB (Oxford)* **12**, 155-165, doi:HPB157 [pii]10.1111/j.1477-2574.2010.00157.x (2010).
- 54 Kozuschek W, D. H. in *Pankreas Diagnostik, Therapie* (ed Paquet K.J. Kozuschek W) 25-49 (Karger, 1992).
- 55 Liehn, M.-N., Steinmüller, Döhler. *OP- Handbuch Grundlagen, Instrumentarium, OP-Ablauf. 7. Auflage*, 689 (2007).

- 56 Lillemoe, K. D., Kaushal, S., Cameron, J. L., Sohn, T. A., Pitt, H. A. & Yeo, C. J. Distal pancreatectomy: indications and outcomes in 235 patients. *Ann Surg* **229**, 693-698; discussion 698-700 (1999).
- 57 Lin, J. W., Cameron, J. L., Yeo, C. J., Riall, T. S. & Lillemoe, K. D. Risk factors and outcomes in postpancreaticoduodenectomy pancreaticocutaneous fistula. *J Gastrointest Surg* **8**, 951-959, doi:10.1016/j.gassur.2004.09.044 (2004).
- 58 Meniconi, R. L., Caronna, R., Borreca, D., Schiratti, M. & Chirletti, P. Pancreato-jejunostomy versus hand-sewn closure of the pancreatic stump to prevent pancreatic fistula after distal pancreatectomy: a retrospective analysis. *BMC surgery* **13**, 23, doi:10.1186/1471-2482-13-23 (2013).
- 59 Mews, P., Phillips, P., Fahmy, R., Korsten, M., Pirola, R., Wilson, J. & Apte, M. Pancreatic stellate cells respond to inflammatory cytokines: potential role in chronic pancreatitis. *Gut* **50**, 535-541 (2002).
- 60 Moriura, S., Kimura, A., Ikeda, S., Iwatsuka, Y., Ikezawa, T. & Naiki, K. Closure of the distal pancreatic stump with a seromuscular flap. *Surg Today* **25**, 992-994 (1995).
- 61 Nishimura, Y., Hosotani, R., Shibamoto, Y., Kokubo, M., Kanamori, S., Sasai, K., Hiraoka, M., Ohshio, G., Imamura, M., Takahashi, M. & Abe, M. External and intraoperative radiotherapy for resectable and unresectable pancreatic cancer: analysis of survival rates and complications. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **39**, 39-49, doi:S0360301697002952 [pii] (1997).
- 62 Ohwada, S., Ogawa, T., Tanahashi, Y., Nakamura, S., Takeyoshi, I., Ohya, T., Ikeya, T., Kawashima, K., Kawashima, Y. & Morishita, Y. Fibrin glue sandwich prevents pancreatic fistula following distal pancreatectomy. *World J Surg* **22**, 494-498 (1998).
- 63 Okano, K., Oshima, M., Kakinoki, K., Yamamoto, N., Akamoto, S., Yachida, S., Hagiike, M., Kamada, H., Masaki, T. & Suzuki, Y. Pancreatic thickness as a predictive factor for postoperative pancreatic fistula after distal pancreatectomy using an endopath stapler. *Surg Today* **43**, 141-147, doi:10.1007/s00595-012-0235-4 (2013).
- 64 Olah, A., Issekutz, A., Belagyi, T., Hajdu, N. & Romics, L., Jr. Randomized clinical trial of techniques for closure of the pancreatic remnant following distal pancreatectomy. *Br J Surg* **96**, 602-607, doi:10.1002/bjs.6620 (2009).

- 65 Oneil Machado, N. Pancreatic fistula after pancreatectomy: definitions, risk factors, preventive measures, and management-review. *International journal of surgical oncology* **2012**, 602478, doi:10.1155/2012/602478 (2012).
- 66 Pereira, F. L., Vasques, F. T., Moricz, A., Campos, T., Pacheco, A. M., Jr. & Silva, R. A. Correlation analysis between post-pancreatoduodenectomy pancreatic fistula and pancreatic histology. *Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes* **39**, 41-47 (2012).
- 67 Phillips, P. A., Yang, L., Shulkes, A., Vonlaufen, A., Poljak, A., Bustamante, S., Warren, A., Xu, Z., Guilhaus, M., Pirola, R., Apte, M. V. & Wilson, J. S. Pancreatic stellate cells produce acetylcholine and may play a role in pancreatic exocrine secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**, 17397-17402, doi:10.1073/pnas.1000359107 (2010).
- 68 Pratt, W. B., Maithel, S. K., Vanounou, T., Huang, Z. S., Callery, M. P. & Vollmer, C. M., Jr. Clinical and economic validation of the International Study Group of Pancreatic Fistula (ISGPF) classification scheme. *Ann Surg* **245**, 443-451, doi:10.1097/01.sla.0000251708.70219.d200000658-200703000-00016 [pii] (2007).
- 69 Pratt, W. B., Callery, M. P. & Vollmer, C. M., Jr. Risk prediction for development of pancreatic fistula using the ISGPF classification scheme. *World J Surg* **32**, 419-428, doi:10.1007/s00268-007-9388-5 (2008).
- 70 Provenzano, P. P., Cuevas, C., Chang, A. E., Goel, V. K., Von Hoff, D. D. & Hingorani, S. R. Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer cell* **21**, 418-429, doi:10.1016/j.ccr.2012.01.007 (2012).
- 71 Sachs, T. E., Pratt, W. B., Kent, T. S., Callery, M. P. & Vollmer, C. M., Jr. The pancreaticojejunal anastomotic stent: friend or foe? *Surgery* **153**, 651-662, doi:10.1016/j.surg.2012.11.007 (2013).
- 72 Sarr, M. G. The potent somatostatin analogue vapreotide does not decrease pancreas-specific complications after elective pancreatectomy: a prospective, multicenter, double-blinded, randomized, placebo-controlled trial. *J Am Coll Surg* **196**, 556-564; discussion 564-555; author reply 565, doi:S1072-7515(03)00104-2 [pii]10.1016/S1072-7515(03)00104-2 (2003).

- 73 Sato, N., Yamaguchi, K., Chijiwa, K. & Tanaka, M. Risk analysis of pancreatic fistula after pancreatic head resection. *Arch Surg* **133**, 1094-1098 (1998).
- 74 Schafer, M., Mullhaupt, B. & Clavien, P. A. Evidence-based pancreatic head resection for pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *Ann Surg* **236**, 137-148, doi:10.1097/01.SLA.0000022024.90584.E9 (2002).
- 75 Seifert. *Handwörterbuch für Gesellschaft Deutschlands*. Vol. 2. erweiterte und aktualisierte Auflage (Schäfer&Zapf, 2001).
- 76 Sheehan, M. K., Beck, K., Creech, S., Pickleman, J. & Aranha, G. V. Distal pancreatectomy: does the method of closure influence fistula formation? *Am Surg* **68**, 264-267; discussion 267-268 (2002).
- 77 Shek, F. W., Benyon, R. C., Walker, F. M., McCrudden, P. R., Pender, S. L., Williams, E. J., Johnson, P. A., Johnson, C. D., Bateman, A. C., Fine, D. R. & Iredale, J. P. Expression of transforming growth factor-beta 1 by pancreatic stellate cells and its implications for matrix secretion and turnover in chronic pancreatitis. *The American journal of pathology* **160**, 1787-1798 (2002).
- 78 Shrikhande, S. V. & D'Souza, M. A. Pancreatic fistula after pancreatectomy: evolving definitions, preventive strategies and modern management. *World journal of gastroenterology : WJG* **14**, 5789-5796 (2008).
- 79 Sohn, T. A., Yeo, C. J., Cameron, J. L., Geschwind, J. F., Mitchell, S. E., Venbrux, A. C. & Lillemoe, K. D. Pancreaticoduodenectomy: role of interventional radiologists in managing patients and complications. *J Gastrointest Surg* **7**, 209-219, doi:S1091255X02001932 [pii] (2003).
- 80 Stojadinovic, A., Brooks, A., Hoos, A., Jaques, D. P., Conlon, K. C. & Brennan, M. F. An evidence-based approach to the surgical management of resectable pancreatic adenocarcinoma. *J Am Coll Surg* **196**, 954-964, doi:S1072-7515(03)00010-3 [pii]10.1016/S1072-7515(03)00010-3 (2003).
- 81 Strasberg, S. M., Drebin, J. A., Mokadam, N. A., Green, D. W., Jones, K. L., Ehlers, J. P. & Linehan, D. Prospective trial of a blood supply-based technique of pancreaticojejunostomy: effect on anastomotic failure in the Whipple procedure. *J Am Coll Surg* **194**,

- 746-758; discussion 759-760, doi:S1072-7515(02)01202-4 [pii] (2002).
- 82 Su, A. P., Cao, S. S., Zhang, Y., Fu, L., Zhang, Z. D., Hu, W. M., Li, Q. S. & Tian, B. L. Does internal stenting for pancreaticojejunostomy decrease the rate of pancreatic fistula following pancreatic resections? A meta-analysis. *Hepato-gastroenterology* **60**, 191-196, doi:10.5754/hge12327 (2013).
- 83 Suc, B., Msika, S., Piccinini, M., Fourtanier, G., Hay, J. M., Flamant, Y., Fingerhut, A., Fagniez, P. L. & Chipponi, J. Octreotide in the prevention of intra-abdominal complications following elective pancreatic resection: a prospective, multicenter randomized controlled trial. *Arch Surg* **139**, 288-294; discussion 295, doi:10.1001/archsurg.139.3.288 139/3/288 [pii] (2004).
- 84 Sugimoto, M., Takahashi, S., Kojima, M., Gotohda, N., Kato, Y., Kawano, S., Ochiai, A. & Konishi, M. What is the nature of pancreatic consistency? Assessment of the elastic modulus of the pancreas and comparison with tactile sensation, histology, and occurrence of postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. *Surgery* **156**, 1204-1211, doi:10.1016/j.surg.2014.05.015 (2014).
- 85 Suzuki, Y., Kuroda, Y., Morita, A., Fujino, Y., Tanioka, Y., Kawamura, T. & Saitoh, Y. Fibrin glue sealing for the prevention of pancreatic fistulas following distal pancreatectomy. *Arch Surg* **130**, 952-955 (1995).
- 86 Suzuki, Y., Fujino, Y., Tanioka, Y., Hori, Y., Ueda, T., Takeyama, Y., Tominaga, M., Ku, Y., Yamamoto, Y. M. & Kuroda, Y. Randomized clinical trial of ultrasonic dissector or conventional division in distal pancreatectomy for non-fibrotic pancreas. *Br J Surg* **86**, 608-611, doi:10.1046/j.1365-2168.1999.01120.x (1999).
- 87 Tahara, J., Shimizu, K. & Shiratori, K. Engulfment of necrotic acinar cells by pancreatic stellate cells inhibits pancreatic fibrogenesis. *Pancreas* **37**, 69-74, doi:10.1097/MPA.0b013e318160a5cb (2008).
- 88 Uden, S., Bilton, D., Nathan, L., Hunt, L. P., Main, C. & Braganza, J. M. Antioxidant therapy for recurrent pancreatitis: placebo-controlled trial. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **4**, 357-371 (1990).
- 89 van Berge Henegouwen, M. I., De Wit, L. T., Van Gulik, T. M., Obertop, H. & Gouma, D. J. Incidence, risk factors, and treatment of pancreatic leakage after pancreaticoduodenectomy: drainage

- versus resection of the pancreatic remnant. *J Am Coll Surg* **185**, 18-24 (1997).
- 90 Vonlaufen, A., Apte, M. V., Imhof, B. A. & Frossard, J. L. The role of inflammatory and parenchymal cells in acute pancreatitis. *The Journal of pathology* **213**, 239-248, doi:10.1002/path.2231 (2007).
- 91 Watari, N., Hotta, Y. & Mabuchi, Y. Morphological studies on a vitamin A-storing cell and its complex with macrophage observed in mouse pancreatic tissues following excess vitamin A administration. *Okajimas folia anatomica Japonica* **58**, 837-858 (1982).
- 92 Wilson, J. S., Pirola, R. C. & Apte, M. V. Stars and stripes in pancreatic cancer: role of stellate cells and stroma in cancer progression. *Frontiers in physiology* **5**, 52, doi:10.3389/fphys.2014.00052 (2014).
- 93 Yang, Y. M., Tian, X. D., Zhuang, Y., Wang, W. M., Wan, Y. L. & Huang, Y. T. Risk factors of pancreatic leakage after pancreaticoduodenectomy. *World journal of gastroenterology : WJG* **11**, 2456-2461 (2005).
- 94 Yeo, C. J., Cameron, J. L., Lillemoe, K. D., Sauter, P. K., Coleman, J., Sohn, T. A., Campbell, K. A. & Choti, M. A. Does prophylactic octreotide decrease the rates of pancreatic fistula and other complications after pancreaticoduodenectomy? Results of a prospective randomized placebo-controlled trial. *Ann Surg* **232**, 419-429 (2000).
- 95 Zhou, Y., Zhou, Q., Li, Z. & Chen, R. Internal pancreatic duct stent does not decrease pancreatic fistula rate after pancreatic resection: a meta-analysis. *Am J Surg* **205**, 718-725, doi:10.1016/j.amjsurg.2012.07.039 (2013).