



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di laurea in medicina e chirurgia

**RUOLO DELLA BIOPSIA LIQUIDA NEL MONITORAGGIO
DEI PAZIENTI CON CARCINOMA DEL PANCREAS IN
STADIO AVANZATO IN TRATTAMENTO
CHEMIOTERAPICO DI PRIMA LINEA**

Relatore: Chiar.ma

Prof.ssa ROSSANA BERARDI

tesi di laurea di:

SIMONE ROTA

Correlatore:

Prof. RICCARDO GIAMPIERI

A.A 2019/2020

INDICE

Riassunto.....	3
Capitolo 1 Introduzione.....	4-22
1.1 Epidemiologia.....	4-5
1.1.1 Incidenza.....	4
1.1.2 Mortalità.....	5
1.1.3 Prevalenza.....	5
1.2 Fattori di rischio.....	5-6
1.3 Anatomia patologica e biologia molecolare.....	6-11
1.3.1 Istologia.....	6-8
1.3.2 Grading.....	8-9
1.3.3 Neoplasie pancreatiche intraepiteliali.....	9
1.3.4 Genetica e biologia molecolare.....	10-11
1.4 Inquadramento diagnostico.....	12-14
1.4.1 Iter diagnostico.....	12
1.4.2 Classificazione secondo sistema TNM e stadiazione.....	12-14
1.5 Terapia.....	15-21
1.5.1 Trattamento chirurgico della malattia localizzata.....	15-16
1.5.2 Terapia adiuvante.....	16-17
1.5.3 Terapia neoadiuvante nei pazienti con malattia resecabile	18
1.5.4 Terapia della malattia borderline resecable	18
1.5.5 Terapia della malattia sistemica	19-20
1.5.6 Terapia di seconda linea.....	21
1.6 Biopsia liquida.....	21
1.7 MicroRna.....	22
1.8 Obbiettivi dello studio.....	22
Capitolo 2 Pazienti e metodi.....	23
Capitolo 3 Risultati.....	24-28
Capitolo 4 Discussione.....	29-30
Bibliografia	31-37

RIASSUNTO

Il carcinoma del pancreas rappresenta la quarta causa di morte per neoplasia nei Paesi occidentali con una mortalità elevatissima che raggiunge quasi la sua incidenza.

La chirurgia rappresenta l'unico trattamento potenzialmente curativo e la radicalità della resezione costituisce un importante fattore prognostico con un vantaggio in termini di sopravvivenza globale a favore dei pazienti con margini di resezione negativi (R0).

Purtroppo, solo il 10-20% dei pazienti presenta una malattia resecabile alla diagnosi mentre un ulteriore 30-40% è caratterizzato da un quadro localmente avanzato o a resecabilità borderline in base all'infiltrazione di segmenti di vasi venosi (in particolare vena porta o vena mesenterica superiore) o arteriosi (arteria mesenterica superiore o rami del tripode celiaco).

Negli ultimi anni il trattamento medico del carcinoma del pancreas ha subito notevoli miglioramenti grazie all'utilizzo di regimi polichemioterapici (nab-paclitael + gemcitabina/FOLFIRINOX) che hanno dimostrato una maggiore attività ed efficacia rispetto al tradizionale trattamento con gemcitabina.

La proteina Caveolina regola la formazione di caveole (invaginazioni della membrana) da cui poi si creano delle vescicole per processi di pinocitosi ed internalizzazione di molecole extracellulari.

Abbiamo dati clinici contrastanti sul ruolo della caveolina nel tumore del pancreas: in particolare, secondo alcuni il fatto che l'espressione di caveolina determini un aumento dell'endocitosi e del movimento vescicolare a livello cellulare dovrebbe determinare un "aumento" dell'attività metabolica cellulare e pertanto un maggiore potenziale di aggressività, proliferazione ed interazione con lo stroma tumorale (pertanto dovrebbe essere prognosticamente sfavorevole).

Abbiamo quindi eseguito su campioni di sangue di 8 pazienti con carcinoma del pancreas metastatico trattati nella clinica di oncologia con Gemcitabina+Nab-paclitaxel negli ultimi 2 anni il dosaggio dei livelli circolanti di Caveolina.

Dall'analisi sulla caveolina circolante sono emerse una serie di evidenze:

- Si conferma che avere alti valori di caveolina circolante (iperespresso) è prognosticamente sfavorevole sia in termini di sopravvivenza libera da progressione che di OS (pertanto esattamente uguale al dato su tessuto).
- Non ci sono grandi variazioni dei livelli circolanti di caveolina tra tempo 0 (prima dell'inizio della chemioterapia) e tempo 3(dopo tre mesi dall'inizio).
(Stranamente quindi sembra costante il livello circolante di caveolina indipendentemente dall'outcome dei pazienti, come se i livelli fossero "regolati".)
- Unendo insieme entrambi i dati si può ipotizzare (da esplorare in studi futuri) un ruolo della caveolina come "driver" della proliferazione cellulare e pertanto come utile bersaglio per terapie mirate.

INTRODUZIONE

1.1 Epidemiologia

1.1.1 Incidenza

Il carcinoma del pancreas è caratteristico dell'adulto-anziano, visto che l'80% dei casi insorge in pazienti tra i 60 ed 80 anni.⁽¹⁾

Nel 2019 in Italia sono stimati 13.500 nuovi casi (6.800 negli uomini e 6.700 nelle donne), circa il 3% di tutti i tumori incidenti tra maschi e femmine.⁽²⁾

L'andamento temporale dell'incidenza di questo tipo di neoplasia è in crescita importante negli ultimi anni, soprattutto tra gli uomini.

C'è anche un chiaro gradiente Nord-Sud: rispetto alle regioni del Nord il Centro ha incidenza pari a -20% negli uomini e -18% delle donne, il Sud pari a -25% e -28% rispettivamente.⁽³⁾

La possibilità di sviluppare un tumore del pancreas nell'arco della vita è pari a 1/54 negli uomini e 1/71 nelle donne.⁽²⁾

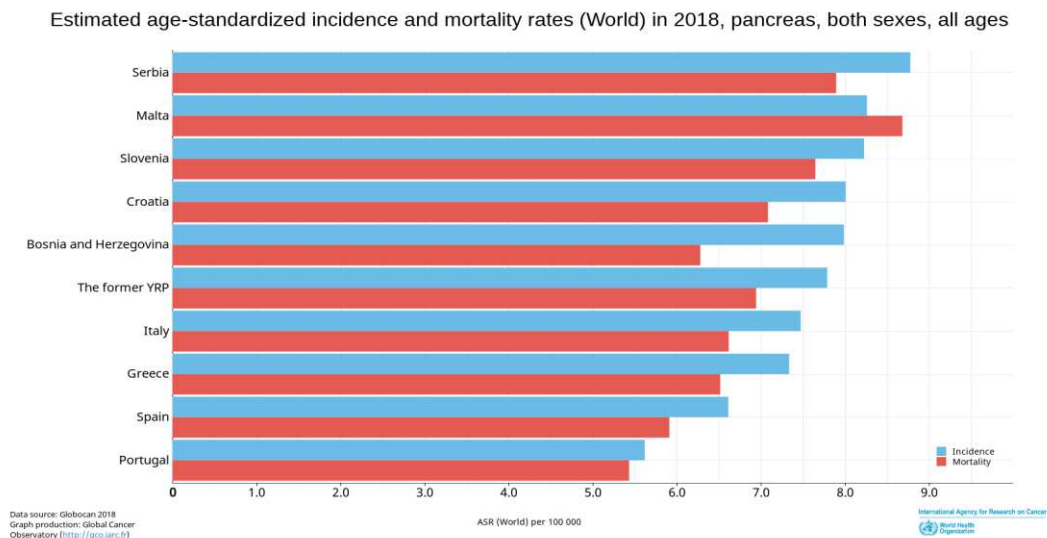


Figura 1.1.1 Tassi standardizzati nel mondo di mortalità ed incidenza in varie regioni europee. Da: Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. Ca Cancer J Clin. 2018;0:1-31.

1.1.2 Mortalità

Il tumore al pancreas è una delle neoplasie più aggressive e con più alta mortalità in assoluto.

Rappresenta la quarta causa di morte nel sesso femminile (7%) e la sesta nel sesso maschile (5%).

Nelle età centrali della vita occupa il quarto posto tra i maschi (7%) e tra le femmine (7%).

Il carcinoma del pancreas rimane una delle neoplasie a prognosi più infausta, con una sopravvivenza a 5 anni dell' 8,1%, mentre a 10 anni solo del 3%.⁽³⁾

La possibilità di morire a causa di un tumore del pancreas in Italia è pari a 1/54 negli uomini e 1/72 nelle donne.

La mortalità per tumore del pancreas in Italia, negli uomini è -22% al Centro e -27% al Sud, nelle donne è -11% al Centro e -27% al Sud.

In Italia, secondo i dati ISTAT, nel 2016 (ultimo anno disponibile) si sono verificati 12.049 decessi per tumore del pancreas (5.834 tra gli uomini e 6.215 tra le donne),⁽²⁾ e 12.660 nel 2018.⁽⁴⁾

1.1.3 Prevalenza

In Italia sono circa 22.800 le persone con pregressa diagnosi di tumore del pancreas.

Il numero ristretto di persone affette da questa patologia (circa 22.000, pari a meno dell'1% di tutti i pazienti oncologici, il 55% tra i maschi) è correlabile all'aggressività di questa neoplasia, e di conseguenza alla breve sopravvivenza.

Il 58% dei pazienti si trova infatti entro i due anni dalla diagnosi e solo il 26% oltre i 5 anni.

Oltre i 75 anni di età sono complessivamente 69/100.000 abitanti le persone affette da questa patologia (52 entro i 60-74 e 18 tra i 45 e i 59 anni).

Anche per quanto riguarda la mortalità è presente un gradiente Nord-Sud: 24 ogni 100.000 le persone al Nord Ovest e al Nord Est, 20 al Centro e 14 al Sud.⁽²⁾

1.2 Fattori di rischio

Il fumo di sigaretta, anche passivo, è il primo fattore di rischio associato alla probabilità di sviluppare un carcinoma pancreatico: i fumatori infatti presentano un rischio di incidenza più elevato (da doppio a triplo) rispetto ai non fumatori.

È stata infatti identificata una relazione dose-risposta ed è inoltre ben documentata la diminuzione del rischio in rapporto alla cessazione del fumo.⁽⁵⁾

La percentuale di carcinomi pancreatici attribuibili al fumo è dell'ordine del 20-30% nei maschi e del 10% nelle femmine.

Ci sono numerosi fattori di rischio che sono chiamati in causa per la frazione dei tumori non spiegabili dalla diffusione del fumo e di altre modalità di assunzione del tabacco: in particolar modo i fattori dietetici.

L'obesità, la ridotta attività fisica, l'alto consumo di grassi saturi e la scarsa assunzione di verdure e frutta fresca sono correlati a un più alto rischio di insorgenza della neoplasia.⁽⁶⁾⁽⁷⁾

È presente, ma meno marcata, l'associazione con il consumo di alcol, mentre il rischio da consumo di caffè, proposto da alcuni studi del passato, non è stato confermato.

Anche tra le patologie d'organo sono presenti fattori di rischio, in particolare la pancreatite cronica è considerata una condizione di rischio per questi tumori (fino a 10 volte e più rispetto alla popolazione generale), così come anche il diabete mellito (1,5-2 volte) e la pregressa gastrectomia (3-5 volte).⁽⁸⁾

Esiste anche un 10% di pazienti con tumori pancreatici che evidenzia una storia familiare, e che in alcuni casi è possibile spiegare nel contesto di sindromi note: la sindrome di Peutz-Jeghers (rischio di oltre 100 volte),⁽⁹⁾ la sindrome familiare con nevi atipici multipli e melanoma (20-30 volte),⁽¹⁰⁾ la mutazione germline del gene BRCA 2 (3-10 volte),⁽¹¹⁾ la pancreatite ereditaria (10 volte),⁽¹²⁾ e la sindrome di Lynch.

Infine, anche la presenza di varianti dei loci genomici dei gruppi sanguigni ABO (in particolare nei gruppi non 0) ha mostrato una maggiore tendenza a sviluppare tumori pancreatici.⁽²⁾

1.3 Anatomia patologica

1.3.1 Istologia

La patologia tumorale del pancreas può originare sia dalla componente endocrina che da quella esocrina, ma la maggior parte delle neoplasie originano da quest'ultima.

La componente esocrina del pancreas costituisce circa l'80-85% dell'organo.

L'unità funzionale del pancreas esocrino è composta da un acino e dal canalicolo che lo drena.

Il canalicolo drena nei dotti interlobulari che a loro volta sboccano nel sistema duttale pancreatico principale.

Gli acini pancreatici rappresentano pertanto le aree anatomiche deputate alla secrezione esocrina; al loro interno troviamo particolari cellule, dette acinose, che producono enzimi digestivi in forma inattiva, per poi riversarli, sotto l'influenza di determinati stimoli fisiologici, nel duodeno.

I carcinomi sono in gran parte adenocarcinomi duttali, che originano dai dotti pancreatici.

Sono solitamente lesioni moderatamente o scarsamente differenziate che formano strutture tubulari abortive o nidi solidi con pattern di crescita aggressivo e diffusamente infiltrante.⁽¹⁾

I tumori del pancreas sono correttamente classificati secondo quanto indicato dall'organizzazione mondiale della sanità (OMS),⁽¹³⁾ considerando:

- 1) aspetto macroscopico (solido, cistico, intraduttale)
- 2) linea di differenziazione cellulare (duttale, acinare, endocrino)

- 3) criterio immunofenotipico nei casi in cui la differenziazione fenotipica non risulti evidente dall'aspetto istologico.

Le eventuali varianti dei vari fenotipi non hanno comunque uno specifico peso prognostico o fattori predittivi di risposta a terapie.

Entità nosografica	%
Adenocarcinoma duttale "comune"	80
Varianti	5
Cistoadenoma sieroso	1
Neoplasia mucinosa cistica	1
Neoplasia intraduttale papillare mucinosa	5
Carcinoma a cellule acinari	1
Pancreatoblastoma	1
Neoplasia solida-pseudopapillare	1
Neoplasie Neuroendocrine	5

Tabella 1.3.1 Classificazione semplificata delle neoplasie epiteliali del pancreas

L'adenocarcinoma (nelle sue varianti duttale e non, come il carcinoma adenosquamoso) è sicuramente l'istologia più diffusa, rappresentando oltre il 90% di tutte le forme pancreatiche.

Le neoplasie cistiche del pancreas hanno un'aggressività molto variabile, che va dalle forme benigne (cistoadenoma sieroso e mucinoso), a quelle borderline (neoplasia mucinosa cistica e neoplasia mucinosa intraduttale papillare, IPMN), fino alle maligne (come il carcinoma mucinoso cistico, carcinoma sieroso cistico, carcinoma mucinoso papillare e carcinoma solido pseudopapillare) in base alla loro differenziazione cellulare (da lieve atipie cellulari con iperplasia mucinosa ad adenocarcinomi invasivi).^{(14) (15) (16) (17)}

Il carcinoma a cellule acinari si presenta soprattutto negli adulti intorno alla sesta decade ed è composto da cellule epiteliali maligne in grado di produrre enzimi pancreatici.

Molti pazienti presentano sintomi aspecifici legati alla presenza di una massa pancreatica, ma un 15% circa manifesta una sindrome caratterizzata da necrosi del grasso sottocutaneo, eosinofilia e poliartralgie, causata dall'aumentato rilascio di lipasi in circolo.⁽¹⁸⁾

Il pancreatoblastoma è una neoplasia piuttosto rara ma che colpisce soprattutto bambini di età compresa tra 1 e 15 anni, con aspetto istologico caratteristico formato da isole squamose miste a cellule indifferenziate.

Geneticamente il pancreatoblastoma presenta spesso la perdita di eterozigosi del braccio corto del cromosoma 11.⁽¹⁹⁾

Si tratta di forme altamente maligne, un terzo dei pazienti presenta metastasi alla diagnosi, la prognosi è leggermente migliore nei bambini.

Le neoplasie solide pseudopapillari colpiscono prevalentemente giovani donne⁽²⁰⁾ e sono costituite da aree solide miste ad aree cistiche con zone di emorragia e necrosi, mentre in alcune aree le cellule neoplastiche formano pseudopapille intorno a piccoli vasi sanguigni.

Queste neoplasie molto spesso causano disturbi addominali per le loro grandi dimensioni, e guariscono con la semplice resezione chirurgica.

In queste forme neoplastiche il pathway β -catenina/APC è quasi sempre alterato.

Le neoplasie neuroendocrine pancreatiche (pNETs) sono rare forme oncologiche caratterizzate da una grande variabilità in termini di aggressività che va dalle forme più benigne (tumori neuroendocrini ben differenziati, una volta classificati come carcinoidi), alle forme bordenline (carcinomi neuroendocrini ben/moderatamente differenziati), fino alle forme maligne (carcinomi neuroendocrini scarsamente differenziati).⁽⁸⁾

1.3.2 Grading

Nel caso di neoplasie maligne, l'esame istologico deve necessariamente riportare il grado di differenziazione tumorale (grading), in quanto esso rappresenta un importante fattore indipendente di prognosi.

I criteri WHO riconoscono tre gradi di differenziazione (tabella 1.3.2) che considerano l'entità del differenziamento in senso tubulare, la capacità di produrre mucina, il numero di mitosi per campo microscopico (pcm) ed il grado di atipia nucleare.⁽²¹⁾⁽²²⁾⁽²³⁾

<i>Grado tumorale</i>	<i>Differenziazione ghiandolare</i>	<i>Produzione di mucina</i>	<i>Mitosi (pcm)</i>	<i>Atipie nucleari</i>
Grado 1	Ben differenziato	intensa	5	Lieve polimorfismo, riarrangiamento polare
Grado 2	Strutture tubulari e duttali moderatamente differenziate	irregolare	6-10	Polimorfismo moderato
Grado 3	Strutture ghiandolari	assente	>10	Polimorfismo, marcato aumento

	scarsamente differenziate			delle dimensioni nucleari
--	------------------------------	--	--	------------------------------

Tabella 1.3.2 Grading istologico dei carcinomi del pancreas

1.3.3 Neoplasie pancreatiche intraepiteliali.

I tumori pancreatici sono spesso associati ad alterazioni microscopiche preneoplastiche a livello dei dotti, chiamate “neoplasie pancreatiche intraepiteliali” (Pancreatic Intraepithelial Neoplasias, PanIN).

Queste lesioni sono solitamente situate vicino alla sede del carcinoma e vengono classificate in base al grado di atipia cito-architettonica come segue:

- PanIN-1A: lesioni caratterizzate da epitelio colonnare con nucleo basale, privo di evidente atipia, ed abbondante citoplasma produttore mucina. I nuclei delle cellule sono piccoli e di forma arrotondata od ovale.
- PanIN-1B: lesioni simili a quelle descritte in PanIN-1A, ma caratterizzate da un’architettura papillare, micropapillare o pseudostratificata.
- PanIN-2: caratterizzate da una proliferazione epiteliale piatta o micropapillare, in cui le lesioni sono legate a diverse anomalie nucleari, tra cui l’accrescimento del nucleo, la pseudostratificazione nucleare e l’ipercromatismo. L’atipia citologica si mantiene di grado moderato e le mitosi sono rare.
- PanIN-3: caratterizzata da proliferazione frequentemente micropapillare (raramente piatta) cribiforme, con necrosi intraluminale, atipia citologica di alto grado e con frequenti mitosi.⁽²⁴⁾

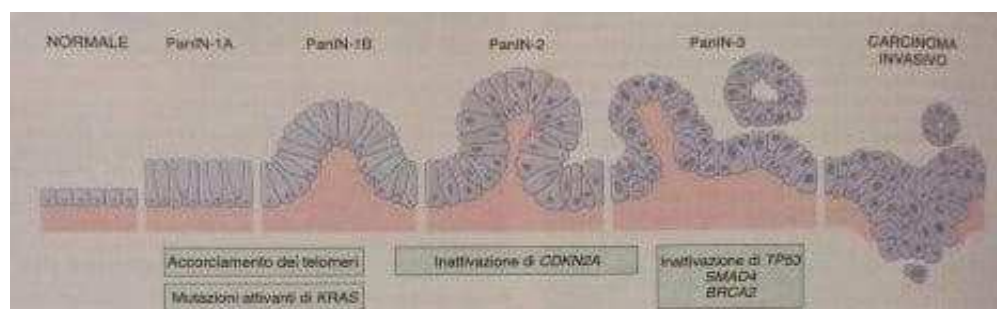


figura 1.3.3: Modello di progressione tumore pancreatico (cotran e robbins, Le basi patologiche delle malattie, nona edizione 2015).

1.3.4 Genetica e biologia molecolare

Le cellule pancreatiche neoplastiche presentano diverse alterazioni che coinvolgono oncogeni, geni oncosoppressori e fattori di crescita che spiegano in parte l'aggressività biologica di questa malattia, in particolare:

- KRAS: è l'oncogene più frequentemente alterato nel carcinoma del pancreas, con mutazioni puntiformi attivanti, presenti nel 90-95% dei casi.

Queste mutazioni puntiformi provocano l'attivazione costitutiva di KRAS, che è una piccola proteina legante GTP che normalmente partecipa agli eventi di signaling a valle dei recettori di crescita con attività intrinseca tirosin-chinasica.

Questo signaling attiva a valle diverse vie molecolari che aumentano la crescita e la sopravvivenza delle cellule, soprattutto le vie MAPK/PI3K/AKT.⁽¹⁾

- CDKN2A: questo gene è inattivato nel 95% dei carcinomi pancreatici, rappresentando quindi il gene oncosoppressore più frequentemente inattivato in questi tumori.

Questo locus genico codifica per due proteine che fungono da oncosoppressori: p16/INK4a, un inibitore ciclina-dipendente della chinasi che antagonizza la progressione del ciclo cellulare, e ARF, una proteina che aumenta la funzione della proteina p53, che agisce da oncosoppressore.⁽¹⁾

- SMAD4 :è un gene oncosoppressore che risulta inattivato nel 55% dei carcinomi del pancreas.

SMAD4 codifica per una proteina che riveste un ruolo importante nella trasduzione del segnale dei recettori di membrana della famiglia del TGFβ.

È raramente inattivato in altri tipi di neoplasie.⁽¹⁾

- TP53: è un gene oncosoppressore che codifica per p53, proteina nucleare capace di legare il DNA e che può reagire alla presenza di DNA danneggiato, causando arresto della crescita cellulare, apoptosi, o sviluppo della senescenza cellulare.

È inattivato nel 70/75% dei casi di carcinoma del pancreas.⁽¹⁾

- Il recettore per il fattore di crescita endoteliale (Endothelial Growth Factor Receptor, EGFR o Her-1), codificato dal proto-oncogene c-erb-B1, è un recettore tirosin-kinasico di membrana che si attiva tramite il legame extracellulare con diversi ligandi quali l'EGF, l'anfiregulina, l'epiregulina, il TGF-α, la betacellulina e l'HB-EGF.

L'attivazione di EGFR comporta la trascrizione di un segnale intracellulare attraverso diverse vie che coinvolgono le cascate di RAS-RAF-MAPK, PI3K-AKT, fosfolipasi C, SRC chinasi, STAT.

In questo modo vengono inviati segnali che controllano la crescita, l'apoptosi, la proliferazione, la migrazione cellulare e l'angiogenesi, ovvero tutti meccanismi chiave nel conferire un fenotipo maligno alla cellula.⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾⁽²⁷⁾

Pur essendo una mutazione molto frequente, presente in circa il 70% dei tumori pancreatici, il ruolo prognostico di EGFR non è ancora chiaro.⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾

Nel 2007, lo studio di Moore e Coll.⁽³⁰⁾ ha dimostrato l'attività e l'efficacia in termini di sopravvivenza globale di una molecola (erlotinib, Tarceva®), il cui bersaglio molecolare è EGFR.

I risultati di tale trial hanno portato all'approvazione da parte della Food and Drug Administration (FDA) di erlotinib in associazione a gemcitabina come trattamento chemioterapico di I linea in pazienti con diagnosi di carcinoma pancreatico avanzato/metastatico.

L'Agenzia Italiana di Farmacovigilanza (AIFA) non ha riconosciuto la rimborsabilità di erlotinib a livello italiano per il limitato vantaggio dimostrato dalla studio (circa 10 giorni di sopravvivenza in più per i pazienti in terapia con gemcitabina in associazione ad erlotinib versus la sola gemcitabina).

- Il legame tra il recettore di membrana del fattore di crescita dell'endotelio vascolare (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor, VEGFR) con uno dei suoi quattro ligandi (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C e VEGF-D), determina l'attivazione della sua tirosino chinasi con l'avvio di diverse cascate di segnale.

In particolare VEGF-A (solitamente chiamato semplicemente VEGF) media le proprietà pro-angiogeniche chiave del recettore stimolando la proliferazione e migrazione di cellule endoteliali e aumentando la permeabilità vascolare⁽³¹⁾⁽³²⁾;

VEGF-C e VEGF-D sarebbero invece implicati nel processo di linfangiogenesi⁽³³⁾, mentre la funzione di VEGF-B non è ancora completamente chiara⁽³⁴⁾.

Il ruolo della angiogenesi nella progressione di malattia nel tumore del pancreas e la potenziale efficacia di un trattamento antiangiogenico in questo setting di pazienti non è del tutto chiaro⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾.

I tumori pancreatici non sono neoplasie con una abbondante vascolarizzazione; sono piuttosto caratterizzati da una reazione densa stromale che è poi alla base dell'aggressività locale della neoplasia⁽³⁷⁾.

Nonostante ciò, presentano una forte iperespressione di molecole angiogeniche e, come emerso da un recente report, livelli circolanti di alcune citochine angiogeniche (VEGF, PDGF-AA, Ang-1 e EGF) correlano con la prognosi dei pazienti dopo la resezione chirurgica⁽³⁸⁾, così come l'iperespressione immunoistochimica di VEGF è indicativa di prognosi sfavorevole in pazienti con tumore del pancreas resecato⁽²⁸⁾.

1.4 Inquadramento diagnostico

Ad oggi non esistono metodiche per la diagnosi precoce di carcinoma del pancreas, soprattutto per via del fatto che la malattia è per lungo tempo asintomatica: questo è il motivo per cui solo il 7% di neoplasie pancreatiche è diagnosticato allo stadio iniziale.⁽²⁾

1.4.1 Iter diagnostico

Essendo una neoplasia che tendenzialmente insorge a livello della testa del pancreas (circa il 60%), l'esordio tipico di questa malattia è un ittero ingravescente, ma a questo punto spesso la malattia è già estesa.

Nel sospetto di neoplasia pancreatica trova sempre indicazione l'imaging tramite TC (che ha un range di sensibilità e specificità dal 70% al 100 %).⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁵⁾

Spesso però le lesioni <2 cm sono isodense(27%) e quindi non ben identificabili tramite TC.⁽⁴⁶⁾

La identificabilità degli adenocarcinomi pancreatici è risultata superiore per la Risonanza Magnetica (RM) rispetto alla TC.

Nei tumori di piccole dimensioni le sequenze per lo studio della diffusione in RM possono giocare un ruolo nella identificazione lesionale e dovrebbero essere sempre incluse nel protocollo di studio⁽⁴⁷⁾.

L'esame finale che conferma la diagnosi è l'endoscopia con prelievo citologico (più spesso) o istologico della lesione.

L'esame cito/istologico deve comunque essere effettuato prima dell'inizio di terapia oncologica, sia essa neoadiuvante o di malattia avanzata.⁽⁴⁸⁾

Se il tumore è resecabile, la diagnosi cito/istologica non è indispensabile ma solo preferibile, soprattutto se il sospetto clinico di malignità è elevato,⁽⁴⁹⁾ in quanto l'incidenza di neoplasia benigna si attesta solo tra il 5 e il 13% dei casi operati senza istologia.

I pazienti che sviluppano un adenocarcinoma pancreatico hanno frequentemente un innalzamento dei valori di CEA e di Ca 19.9.

Essi possono suggerire un sospetto di malignità ma sono utilizzati per lo più nel follow up.

1.4.2 Classificazione secondo sistema TNM e stadiazione

Recentemente sono state apportate modifiche al sistema stadiativo, in particolare per il parametro T, che negli stadi non localmente avanzati (T1-T3) è definito dalla dimensione maggiore del tumore misurata microscopicamente.⁽³⁾

Gli stadi localmente avanzati (T4) invece sono prevalentemente non resecabili, e pertanto la loro valutazione dimensionale è per lo più radiologica.⁽³⁾

Il parametro T dunque è il criterio più oggettivo per permettere una stratificazione prognostica accurata.⁽⁵⁰⁾

TNM OTTAVA EDIZIONE

ESTENSIONE TUMORE PRIMITIVO (T)
Tx: Il tumore primitivo non può essere definito
T0: Il tumore primitivo non è evidenziabile
Tis: carcinoma in situ, incluso PanIN-3
T1: Tumore limitato al pancreas < 2 cm nel diametro maggiore: T1a:<0,5 cm T1b: >0,5 e <1 cm T1c:>1 e <=2 cm
T2:Tumore limitato al pancreas, compreso tra 2 e 4 cm nel diametro maggiore
T3: Tumore di oltre 4 cm nel diametro maggiore
T4: Tumore che interessa l'asse celiaco o l'arteria mesenterica e/o l'arteria epatica comune

LINFONODI REGIONALI (da valutare almeno 12 linfonodi).
Nx: Lo stato dei linfonodi regionali non può essere stabilito.
N0: Non ci sono metastasi ai linfonodi regionali.
N1: Presenza di metastasi da 1 a 3 linfonodi regionali.
N2: Presenza di metastasi in 4 o più linfonodi regionali.

METASTASI A DISTANZA
Mx: La presenza di metastasi a distanza non può essere definita
M0: Assenza di metastasi a distanza
M1: Presenza di metastasi a distanza

STADIO
0: Tis N0 M0
IA: T1 N0 M0
IB: T2 N0 M0
IIA:T3 N0 M0
IIB:T1-T3 N1 M0
III:T1-T3 N2 M0 / T4 ogni N M0
IV: ogni T ogni N M1

Tabelle 1.4.2 Per uniformità del linguaggio bisogna riferirsi ai sistemi classificativo e stadiativo riportato nel manuale stadiativo AJCC/TNM 2017, ottava edizione. (dati presi da linee guida AIOM ed.2019).

Per la stadiazione sono utilizzate diverse indagini:

- TC: è attualmente l'esame di scelta non solo per la diagnosi ma anche la stadiazione.⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾

La fase contrastografica precoce (dinamica) o arteriosa consente generalmente di identificare il tumore poiché in tale fase si realizza la massima differenza di contrasto tra il parenchima sano iperdenso ed il tessuto neoplastico ipodenso.

In tale fase, inoltre, si ottiene la migliore valutazione dei rapporti del tumore con i vasi arteriosi venendo impiegato il minimo spessore di fetta (2 mm).

In fase venosa sono utilizzate fette di maggior spessore (2 mm), consentendo l'esplorazione dei quadranti addominali medi e superiori con la possibile evidenziazione di focolai peritoneali e di metastasi.^{(53) (54)(55)}

Nella fase di stadiazione sia della malattia resecabile che avanzata è raccomandabile estendere la TC anche al torace, per la possibile presenza di micronoduli polmonari non rilevabili alla radiografia standard, in alcuni casi (5%) anche in assenza di metastasi addominali⁽⁵⁶⁾.

- Ecografia addominale: metodica di imaging di primo impiego, soprattutto quando la malattia esordisce con ittero ostruttivo per la necessità di avvalersi di una diagnosi differenziale.

- Ecoendoscopia: metodica invasiva, che utilizza un endoscopio munito di una sonda ecografica a frequenza più elevata di quelle usate per l'ecografia addominale, e consente di eseguire un'ecografia ad elevata definizione della parete gastro-duodenale e delle strutture, quali pancreas e vie biliari extraepatiche, che si trovano a stretto contatto con lo stomaco o il duodeno.

È al giorno d'oggi complementare alla TC e alla RMN nella stadiazione, dando informazioni aggiuntive riguardo il coinvolgimento di vasi o linfonodi, qualora le precedenti metodiche non avessero risolto il quesito.⁽⁵⁷⁾

- RMN: metodica equivalente se non superiore per esprimere un giudizio sulla resecabilità e l'infiltrazione della neoplasia.

La valutazione dell'infiltrazione peripancreatica, in virtù dell'elevata risoluzione di contrasto tra la ghiandola ed il tessuto adiposo circostante, appare meglio definibile con RMN che con altre metodiche.⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾

- Laparoscopia esplorativa: ha un ruolo per la stadiazione nei pazienti candidati alla resezione radicale ma con valori di Ca19.9 molto elevati.⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾

1.5 Terapia

Meno del 20% dei pazienti è candidabile per una chirurgia con intento “curativo”, e in questo caso la sopravvivenza a 5 anni è di circa il 20%, mentre il restante 80% non candidabile a chirurgia non sopravvive a 5 anni.⁽⁶²⁾⁽⁶³⁾

1.5.1 Trattamento chirurgico della malattia localizzata

La chirurgia è l'unico trattamento potenzialmente curativo per l'adenocarcinoma pancreatico.⁽⁶⁴⁾⁽⁶⁵⁾

L'obiettivo primario è la completa asportazione del tumore, ma per il giudizio di resecabilità non esistono criteri universalmente accettabili.

È auspicabile che tale decisione coinvolga un team multidisciplinare con la partecipazione del radiologo per valutare l'estensione di malattia.⁽⁶⁶⁾

Esistono però dei criteri accettati per definire lo stato di “non resecabilità”:

- 1) Presenza di metastasi a distanza.
- 2) Presenza di metastasi linfonodali lontane dal campo chirurgico.
- 3) Infiltrazione di visceri extrapancreatici all'infuori di vie biliari e duodeno.

Anche in presenza di metastasi epatica singola, o metastasi ai linfonodi interaortocavali (in situazioni di resecabilità), non vi sono benefici della resezione in termini di sopravvivenza.⁽⁶⁷⁾

Per quanto invece riguarda l'infiltrazione vascolare sono identificate tre situazioni di resecabilità.⁽⁶⁸⁾

1) *Malattia resecabile*: assenza di adesione/infiltrazione a carico dell'asse venoso spleno/porto/mesenterico e dei vasi arteriosi (tripode celiaco, arteria epatica, arteria mesenterica superiore).

2) *Malattia “borderline resectable”*: o adesione/infiltrazione <180° dell'asse venoso spleno/porto/mesenterico con possibilità di resezione tangenziale o a pieno canale con ricostruzione del vaso; o infiltrazione dell'arteria gastroduodenale fino all'origine dell'arteria epatica.

3) *Malattia localmente avanzata*: o adesione/infiltrazione >180° o occlusione dell'asse venoso spleno/porto/mesenterico e trombosi portale; o infiltrazione del tripode celiaco, arteria mesenterica superiore, arteria epatica, aorta, vena cava inferiore.

Le resezioni curative devono essere “oncologicamente radicali” con adeguata linfadenectomia.⁽⁶⁹⁾

Per quanto riguarda le lesioni della testa e del processo uncinato del pancreas, l'intervento di scelta è una *duodenocefalopancreasectomia*, che consiste nell'asportazione “en bloc” di testa del pancreas/processo uncinato, duodeno, via biliare principale, colecisti e prima ansa digiunale.

Può essere eventualmente associata con antrectomia (intervento di whipple) in caso di infiltrazione neoplastica del bulbo duodenale/piloro.⁽⁷⁰⁾⁽⁷¹⁾⁽⁷²⁾

Una volta completato il tempo demolitivo deve essere effettuato l'esame intraoperatorio dei margini di resezione biliare e pancreatico.

In caso di positività, la resezione va allargata nel tentativo di ottenere margini chirurgici "negativi", considerando anche un eventuale intervento di pancreatectomia totale.

Per le lesioni del corpo/coda del pancreas, l'intervento di scelta è una *splenopancreatectomia sinistra*, associata ad una splenectomia e linfadenectomia delle stazioni peripancreatiche, dell'arteria splenica fino all'origine del tripode celiaco e dei linfonodi perisplenici,⁽⁷³⁾⁽⁷⁴⁾ così da garantire una resezione oncologicamente radicale.

Anche in questo caso è necessario l'esame istologico intraoperatorio della trancia di resezione pancreatica.⁽⁷⁵⁾⁽⁷⁶⁾

La *pancreatectomia totale* consiste nella rimozione di tutto il pancreas insieme a duodeno, via biliare, colecisti, prima ansa digiunale e milza.

Si ricorre a questa procedura nell'evenienza infrequente in cui ci siano molteplici margini di resezione pancreatici positivi.⁽⁷⁷⁾⁽⁷⁸⁾

1.5.2 Terapia adiuvante

La sopravvivenza mediana dei pazienti in cui si è ottenuta una chirurgia radicale è compresa tra i 15 e i 25 mesi.

La maggior parte delle recidive dopo intervento chirurgico radicale ha luogo a livello epatico e linfonodale.

La terapia adiuvante standard consiste in un ciclo più o meno lungo di gemcitabina.

Tuttavia, sono emersi numerosi studi secondo cui l'utilizzo di una polichemioterapia sia maggiormente efficace rispetto ad una monoterapia con gemcitabina.

Difatti, lo studio ESPAC-4⁽⁷⁹⁾ ha randomizzato 732 pazienti a ricevere con proporzione terapia adiuvante con gemcitabina associata a capecitabina verso sola gemcitabina.

L'end-point primario dello studio era l'OS.

Quello che risulta è che nei pazienti affetti da adenocarcinoma duttale del pancreas in stadio Ia-III resecati in modo macroscopicamente radicale (R0-R1) con Karnofsky di almeno 50 può essere considerata una chemioterapia di combinazione con gemcitabina e capecitabina.

Pur essendo però tali numeri incoraggianti a favore della terapia di combinazione, essi non possono essere considerati conclusivi per la formulazione di una raccomandazione, in quanto il follow-up immaturo non consente di considerare i risultati sufficientemente precisi e affidabili.

Inoltre, non era previsto come criterio di inclusione un limite massimo del valore di CA19.9 e non era necessario eseguire un restaging postoperatorio.

Questo comporta l'aver verosimilmente arruolato un'ampia quota di pazienti potenzialmente metastatici che avrebbero beneficiato di più di una doppietta rispetto alla monoterapia.

Ed infatti, da analisi retrospettive, il beneficio della combinazione sembra confermato solo nella popolazione con CA19.9 postoperatorio elevato.

Altri studi mettono in luce come la chemioradioterapia può essere considerata nei pazienti affetti da adenocarcinoma duttale del pancreas stadio Ia-III resecato in modo macroscopicamente radicale (R0-R1) con Karnofsky di almeno 50 sia dopo chirurgia R0 sia dopo chirurgia R1, con una dose di radioterapia di almeno 50 Gy (frazionamento convenzionale e con le moderne tecniche di radioterapia conformazionale) in associazione a gemcitabina o a fluoropirimidina.⁽⁸⁰⁾⁽⁸¹⁾⁽⁸²⁾⁽⁸³⁾⁽⁸⁴⁾⁽⁸⁵⁾

Lo standard della terapia adiuvante sarà comunque rappresentato dallo schema FOLFIRINOX, usato anche per la malattia metastatica, presentato all'ASCO 2018.

Lo studio francese PRODIGE24/ACCORD⁽⁸⁶⁾ di fase III randomizzato recentemente pubblicato da Conroy et al. ha randomizzato 493 pazienti radicalmente operati per adenocarcinoma pancreatico (R0/R1) con un PS (secondo ECOG) tra 0 e 1 ed età compresa tra 18 e 79 anni a ricevere un trattamento adiuvante secondo schema FOLFIRINOX modificato (5 fluorouracile, irinotecan, oxaliplatino) vs gemcitabina in monoterapia.

L'endpoint primario era la sopravvivenza libera da malattia (DFS), mentre endpoint secondari erano la sopravvivenza globale (OS), la sopravvivenza libera da metastasi (MFS) e il profilo di tossicità.

Il vantaggio del trattamento con FOLFIRINOX in termini di OS e DFS è stato mantenuto in quasi tutti i sottogruppi di pazienti analizzati.

In particolare, il beneficio del regime sperimentale vs gemcitabina era simile tra i pazienti di età < 65 anni e quelli con età > 65 anni.

Nei 101 pazienti con età maggiore o uguale di 70 anni, tuttavia, il vantaggio in termini di DFS di FOLFIRINOX rispetto a gemcitabina non ha raggiunto la significatività (HR 0.86; IC 95%: da 0,53- 1.39).

Lo studio dimostra quindi come nei pazienti affetti da adenocarcinoma del pancreas operato con un PS ECOG 0-1 ed età < 70 anni, accuratamente selezionati (pazienti fit, in buone condizioni generali, per lo più giovani e senza serie co-morbidità) un trattamento chemioterapico adiuvante con mFOLFIRINOX per 6 mesi dovrebbe essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione in alternativa alla monoterapia con gemcitabina.

1.5.3 Terapia neoadiuvante nei pazienti con malattia resecabile

Come terapia neoadiuvante è indicato per lo più un trattamento chemioterapico con gemcitabina o FOLFIRINOX.

In particolare si è tentato una CHT-RT in combinazione perioperatoria, che però ha portato un modestissimo vantaggio in termini di sopravvivenza e soprattutto sono stati usati schemi di chemioterapia meno attivi rispetto a quelli abitualmente impiegati nella malattia metastatica.

Inoltre alcuni studi hanno utilizzato un trattamento finalizzato unicamente a migliorare il controllo locale della malattia, dimenticando che il problema principale del carcinoma pancreatico sono le metastasi occulte.⁽⁸⁷⁾

Recentemente Reni et al.⁽⁸⁸⁾ hanno pubblicato i risultati di un altro lavoro di fase 2 randomizzato condotto in nove centri italiani. Sono stati arruolati 88 pazienti con malattia resecabile istologicamente accertata suddivisi in 3 gruppi: 26 sottoposti a chirurgia seguita da chemioterapia adiuvante con gemcitabina 1000 mg/m² nei giorni 1, 8, 15 ogni 4 settimane per sei cicli (Gruppo A);

30 pazienti hanno ricevuto chirurgia seguita da sei cicli di chemioterapia adiuvante secondo lo schema PEXG (cisplatino 30 mg/m², epirubicina 30 mg/m² e gemcitabina 800 mg/m² nei giorni 1 e 15 ogni 4 settimane e capecitabina 1250 mg/m² nei giorni 1-28, gruppo B);

32 pazienti hanno ricevuto tre cicli di PEXG prima e tre cicli dopo l'intervento (gruppo C).

L'obiettivo principale dello studio è stato la percentuale di pazienti senza eventi a 1 anno, laddove per eventi si intende progressione, recidiva, nuova comparsa di tumore, metastasi a distanza o morte.

Questo studio di fase 2 randomizzato, fornisce evidenza dell'efficacia della chemioterapia neoadiuvante nell'adenocarcinoma duttale pancreatico resecabile.

Anche se è necessario uno studio di fase 3 confermatório, un trattamento peroperatorio con PEXG potrebbe migliorare gli outcome chirurgici ed oncologici.

1.5.4 Terapia della malattia borderline resectable

Il significato prognostico della malattia borderline resectable non è stato ancora validato.

In generale è una condizione rara che si caratterizza per un elevato rischio di resezione non radicale in caso di intervento chirurgico e di recidiva precoce dopo di esso.⁽⁸⁹⁾⁽⁹⁰⁾⁽⁹¹⁾

Dai vari studi analizzati, ciò che ne risulta è che nei pazienti con adenocarcinoma del pancreas borderline resectable (potenzialmente resecabile), un trattamento preoperatorio dovrebbe essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione in alternativa ad una resezione chirurgica immediata.⁽⁹²⁾⁽⁹³⁾

1.5.5 Terapia della malattia sistemica

Nei pazienti affetti da carcinoma del pancreas metastatico è molto importante il performance status (Karnofsky o ECOG), infatti la scelta della terapia di prima linea si basa soprattutto sul suo valore e sull'età del paziente.

In particolar modo, se il KPS è sopra il 70 e il paziente ha meno di 70 anni è indicato un trattamento chemioterapico di prima linea con 3 o 4 farmaci in associazione che deve essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione in alternativa alla monoterapia con gemcitabina.⁽⁹⁴⁾⁽⁹⁵⁾

In particolare sono due gli studi da cui deriva questa indicazione terapeutica.

Il primo è un trial clinico di fase III condotto da Reni et al.⁽⁹⁴⁾ pubblicato nel 2005 che ha valutato 99 pazienti con adenocarcinoma del pancreas metastatico, KPS > 70 ed età ≤ 70 anni in cui è stato osservato un vantaggio statisticamente e clinicamente significativo in termini di PFS e OS correlato all'impiego di uno schema con quattro farmaci (cisplatino, epirubicina, gemcitabina e 5FU) rispetto alla gemcitabina in monoterapia.

Il secondo è uno studio francese di fase II-III randomizzato pubblicato da Conroy et al. nel 2011⁽⁹⁵⁾ che ha valutato 342 pazienti affetti da adenocarcinoma del pancreas avanzato non precedentemente trattati ed età compresa tra i 18 ed i 75 anni e con un PS (secondo ECOG) tra 0 e 1 randomizzati a ricevere FOLFIRINOX (5 fluorouracile, irinotecan, oxaliplatino) vs gemcitabina in monoterapia.

Lo schema a più farmaci ha consentito di ottenere un vantaggio significativo, rispetto alla sola gemcitabina, in termini di PFS (6.4 mesi vs 3.3 mesi; HR 0.47 [0.37-0.59]; p<0.0001) ed OS (11.1 mesi vs 6.8 mesi; HR 0.57 [0.45-0.73]; p=0.001 - 1-y OS 48.4% vs 20.6%).

Devono però inoltre essere considerati il profilo di tossicità extra-ematologica G3-G4 (astenia 23%; vomito 15%; diarrea 13%; neuropatia periferica 9%) non completamente accettabile per il trattamento palliativo di questa neoplasia e l'importante impegno per il paziente (4 accessi ospedalieri al mese, salvo complicazioni; necessità di impiantare un catetere venoso centrale per la somministrazione del 5FU; utilizzo pressoché sistematico dei fattori di crescita).

Tuttavia, dopo 6 mesi, il 31% dei pazienti nel gruppo FOLFIRINOX ha avuto una diminuzione definitiva dei punteggi sullo stato di salute globale e sulla qualità della vita rispetto al 66% nel gruppo gemcitabina (hazard ratio, 0,47, IC 95%, da 0,30 a 0,70 ; P <0,001).

Un'altra opzione terapeutica nel trattamento chemioterapico di prima linea dell'adenocarcinoma duttale del pancreas è lo schema gemcitabina/nab-paclitaxel.⁽⁹⁶⁾

Questo è indicato nei pazienti con KPS>70 ed età>18 anni, e dovrebbe essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione in termini di incremento di PFS e OS.

Questo è emerso da uno studio multicentrico di fase III pubblicato da Von Hoff et al. Nel 2013⁽⁹⁶⁾ che ha valutato 861 pazienti con adenocarcinoma del pancreas metastatico, di età superiore ai 18 anni e Karnofsky

PS $\geq$ 70, randomizzati a ricevere un trattamento di chemioterapia di I linea con sola gemcitabina (430 pazienti) vs gemcitabina + nab-paclitaxel (431 pazienti).

Lo studio ha dimostrato che il regime di combinazione si associa ad un incremento sia della PFS (5.5 mesi vs 3.7 mesi; HR 0.69 [0.62-0.83]; $p < 0.0001$) sia della OS (8.5 mesi vs 6.7 mesi; HR 0.72 [0.62-0.83]; $p < 0.0001$).

In questo studio è stata anche osservata una sopravvivenza a 3 anni del 4% nel braccio trattato con terapia di combinazione rispetto all'assenza di lungo sopravvissuti tra i pazienti trattati con sola gemcitabina.

L'incidenza di tossicità di grado ≥ 3 è stata superiore nel braccio di combinazione (neutropenia 38% vs 27%, affaticamento 17% vs 7% e neuropatia 17% vs 1%; la mortalità è stata pari al 4%)

La neuropatia è risultata rapidamente reversibile consentendo la ripresa del trattamento nel 44% dei casi.

Il beneficio visto in termini di outcome di sopravvivenza e la stessa sopravvivenza a lungo termine, fanno sì che questa combinazione superi i rischi di un possibile danno, data la reversibilità degli effetti collaterali in particolar modo della neuropatia.

Un altro studio randomizzato di fase II ha valutato dell'efficacia in pazienti con PS $\geq$ 70 ed età > 18 anni di un trattamento chemioterapico di I linea secondo lo schema PAXG, che dovrebbe essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione in alternativa in termini di incremento di PFS e OS.⁽⁹⁷⁾

Se il paziente è in condizioni generali più deteriorate, in cui il KPS fosse tra 50-70, dove quindi viene escluso un trattamento di combinazione, la gemcitabina somministrata settimanalmente può essere presa in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione.⁽⁹⁸⁾

Questo è infatti confermato in uno studio di fase III pubblicato da Burris et al. nel 1997 i pazienti affetti da adenocarcinoma del pancreas venivano randomizzati a ricevere gemcitabina o 5FU.⁽⁹⁸⁾

Complessivamente, 87 pazienti, con malattia in stadio III o IV, avevano un KPS compreso tra 50 e 70.

I risultati relativi all'intera popolazione oggetto dello studio sono stati i seguenti:

- beneficio clinico (endpoint primario) in 23.8 % dei pazienti trattati con gemcitabina rispetto al 4.8% trattati con 5-FU ($p = 0.0022$);
- sopravvivenza mediana pari a 5.6 e 4.4 mesi rispettivamente nei bracci trattati con gemcitabina e 5-FU ($p = 0.0025$);
- sopravvivenza a 12 mesi pari al 18% nel braccio con gemcitabina e 2% nel braccio con 5-FU.

I principali effetti collaterali di grado 3/4 della gemcitabina erano neutropenia (25.9%), piastrinopenia (9.7%), nausea/vomito (12.8%) e stipsi (3.2%), relativamente inferiori nel braccio del 5-FU con dati non statisticamente significativi.

La possibilità di eseguire una monoterapia nei pazienti con un KPS 50-70 deve essere presa in considerazione, dato il favorevole rapporto rischio-beneficio associato all'uso della gemcitabina.

I dati riportati sono relativi a tutta la popolazione e non alla sottopopolazione indicata, sebbene gli 87 pazienti con KPS ≤ 70 siano ben distribuiti (44 nel gruppo gemcitabina, 43 nel gruppo 5-FU).

1.5.6 Terapia di seconda linea

Diversi studi indicano positivamente l'utilizzo in pazienti affetti da adenocarcinoma pancreatico avanzato in progressione dopo una prima linea di trattamento sistemico con regimi contenenti Gemcitabina e con PS conservato, di un trattamento chemioterapico di seconda linea con Oxaliplatino/5-FU/AF o Irinotecano/FP.⁽⁹⁹⁾⁽¹⁰⁰⁾⁽¹⁰¹⁾

Purtroppo, complessivamente, la qualità delle evidenze che supportano l'utilizzo di regimi di combinazione a base di fluoropirimidine come trattamento di II linea in pazienti pretrattati con gemcitabina/nab-paclitaxel è estremamente bassa, soprattutto a causa dei risultati contrastanti dei due studi randomizzati che hanno valutato l'aggiunta di oxaliplatino a regimi di FF e della mancanza di studi di fase III che abbiano valutato l'impatto dell'aggiunta di irinotecano.

Pertanto, l'inclusione di pazienti progressivi dopo una prima linea di trattamento con gemcitabina/nab-paclitaxel in studi clinici dovrebbe essere considerata come l'opzione di prima scelta;

Tuttavia, in assenza di alternative terapeutiche, la combinazione di oxaliplatino o irinotecano e fluoropirimidine può essere presa in considerazione.

1.6 Biopsia liquida

La biopsia liquida consiste nell'effettuare analisi su materiale di origine tumorale (cellule, proteine, DNA, RNA) che può essere ottenuto da un liquido corporeo (generalmente un prelievo di sangue).

È una procedura che differentemente rispetto ad una biopsia tradizionale non permette di effettuare la diagnosi di cancro, che invece viene fatta sul tessuto tumorale.

Può invece essere utilizzata per l'identificazione di fattori prognostici o predittivi.

Le analisi attualmente utilizzate sono rivolte allo studio delle cellule tumorali circolanti o di RNA e DNA circolante.

Le prime sono cellule tumorali che si staccano dal tessuto tumorale per migrare nei vasi sanguigni.

Queste possono essere identificate ed isolate nel prelievo di sangue di una frazione di pazienti affetti da tumore, ma sono presenti in numero estremamente esiguo.

Essendo quindi molto difficile isolare queste cellule e molto costosa la metodica nel complesso, è una pratica molto limitata.

Maggiormente utilizzata è invece la ricerca del DNA/RNA tumorale circolante, che viene rilasciato dalle cellule neoplastiche che muoiono, il cui impiego è entrato in pratica clinica.

Una volta isolato dal sangue questo è sottoposto ad analisi molecolari, come la presenza o assenza di mutazioni in specifici del tumore, che possono rendere la malattia sensibile o resistente al trattamento con farmaci a bersaglio molecolare oppure al dosaggio quantitativo di determinate particelle di RNA/DNA che possono avere significato prognostico.⁽¹⁰²⁾

1.7 microRNA

I microRNA(miRNA) sono piccole molecole di RNA non codificanti a singolo filamento, lunghi circa 20-22 nucleotidi e principalmente attivi nella regolazione genica trascrizionale e post trascrizionale.

I miRNA vengono inglobati nel complesso di silenziamento indotto da RNA (RISC) e inducono il silenziamento genico tramite sovrapposizione con sequenze complementari presenti su molecole di RNA messaggero (mRNA) bersaglio.

Tale legame comporta una repressione della traduzione o la degradazione della molecola bersaglio.⁽¹⁰³⁾⁽¹⁰⁴⁾⁽¹⁰⁵⁾

Si è riscontrato, come esistano diverse patologie umane associate ad alterazioni del pathway dei miRNA, tra cui quelle neoplastiche.⁽¹⁰⁶⁾

Misurando l'attività dei geni codificanti i miRNA è possibile distinguere tra i diversi tipi di cancro.⁽¹⁰⁷⁾

È possibile utilizzare i livelli di espressione di specifici miRNA a scopo prognostico.

Ad esempio, uno studio condotto su un campione di cellule affetto da carcinoma polmonare non microcitico ha riscontrato che bassi livelli di miR-324a sono indice di scarsa sopravvivenza,⁽¹⁰⁸⁾ o invece, alti livelli di miR-185 o bassi livelli di miR-133B sono indice di metastasi e scarsa sopravvivenza in cellule neoplastiche di colon e retto.⁽¹⁰⁹⁾

1.8 obiettivi dello studio

Abbiamo dati clinici contrastanti sul ruolo della caveolina nel tumore del pancreas: in particolare, secondo alcuni il fatto che l'espressione di caveolina determini un aumento dell'endocitosi e del movimento vescicolare a livello cellulare dovrebbe determinare un "aumento" dell'attività metabolica cellulare e pertanto un maggiore potenziale di aggressività, proliferazione ed interazione con lo stroma tumorale (pertanto dovrebbe essere prognosticamente sfavorevole).

D'altro canto, se la caveolina determina un aumento dell'attività vescicolare dovrebbe anche rendere la cellula più sensibile a farmaci chemioterapici che per funzionare devono essere internalizzati e che agiscono sul citoscheletro: il Nab-paclitaxel, essendo coniugato con l'albumina, dovrebbe riuscire a "penetrare" più facilmente nelle cellule che hanno alta espressione di caveolina perché l'albumina viene riconosciuta ed internalizzata più facilmente se c'è alta espressione di caveolina.

Questo consentirebbe al Paclitaxel che è coniugato di penetrare a livello intracellulare e di agire sul citoscheletro. Pertanto esistono studi pre-clinici che suggeriscono un possibile ruolo "predittivo" positivo della caveolina nei confronti del Nab-Paclitaxel.

In una tesi di specializzazione recentemente presentata abbiamo valutato l'espressione di Caveolina in campioni istologici di carcinoma del pancreas di pazienti trattati con Gemcitabina+Abraxane: su 16 pazienti si dimostra che la caveolina è un fattore prognostico estremamente sfavorevole.

L'obiettivo quindi di questo studio è quello di indagare il ruolo prognostico negativo di alti livelli circolanti di caveolina e confermare i dati ottenuti sul tessuto, in una coorte di pazienti con adenocarcinoma pancreatico metastatico in trattamento chemioterapico di prima linea con gemcitabina e nab-paclitaxel.

PAZIENTI E METODI

I pazienti eleggibili per l'arruolamento nello studio sono pazienti con carcinoma del pancreas metastatico trattati presso la clinica di oncologia dell'A.O.U Ospedali Riuniti di Ancona-Università Politecnica delle Marche, in trattamento chemioterapico di prima linea con gemcitabina + nab-paclitaxel negli ultimi due anni.

Sono stati inclusi anche pazienti che avevano effettuato terapia neoadiuvante (1), o eseguito una chirurgia in precedenza (2).

Sono quindi stati dosati i livelli di caveolina-1 all'interno di esosomi circolanti tramite prelievo ematico.

Le valutazioni sono state fatte al tempo 0 (cioè prima di iniziare la chemioterapia) e dopo 3 mesi dall'inizio del trattamento.

La concentrazione di Caveolina-1 circolante è stata normalizzata per l'espressione proteica esosomiale totale, il valore medio di distribuzione è stato usato come cut-off.

Per ogni paziente arruolato abbiamo calcolato i dati riguardo la risposta al trattamento (valutati con i criteri RECIST 1.1), la sopravvivenza globale(OS), sopravvivenza libera da progressione (PFS).

I tempi di sopravvivenza sono stati calcolati con il metodo Kaplan-Meier, mentre la differenza di sopravvivenza tra i vari fattori di stratificazione è stata stimata mediante log rank test.

L'associazione tra le variabili categoriche è stata calcolata tramite il Chi-square test.

Il livello di significatività statistica per tutte le analisi è stato scelto esser pari a 0.05.

La sopravvivenza è stata calcolata dall'inizio del trattamento al decesso del paziente, o all' al follow up, quale delle due avvenuta prima.

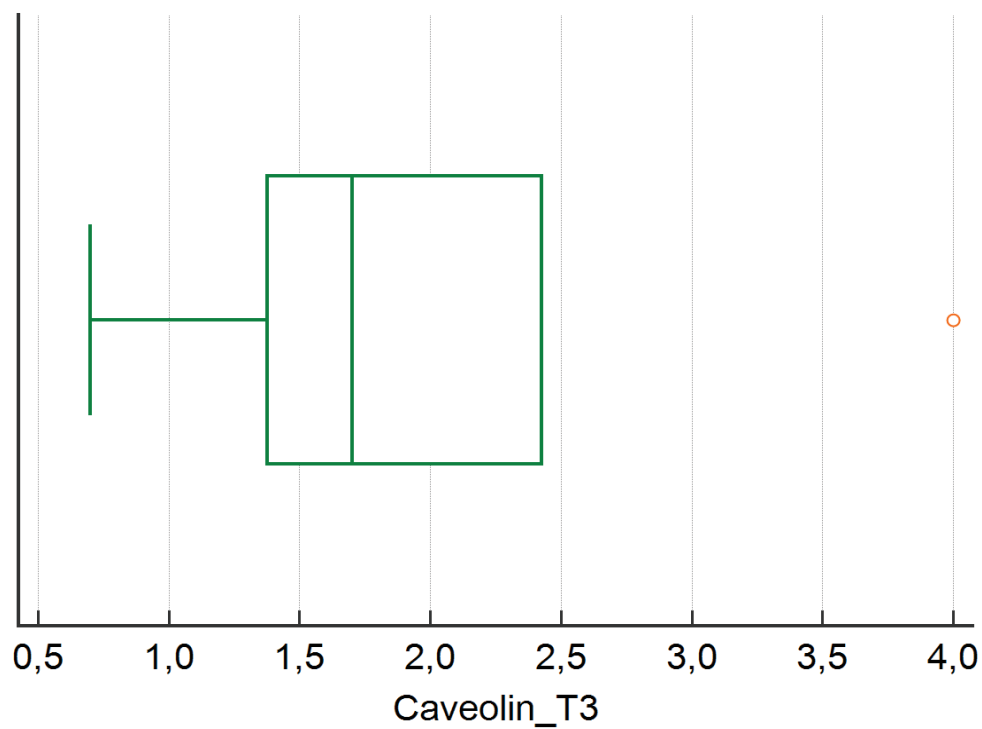
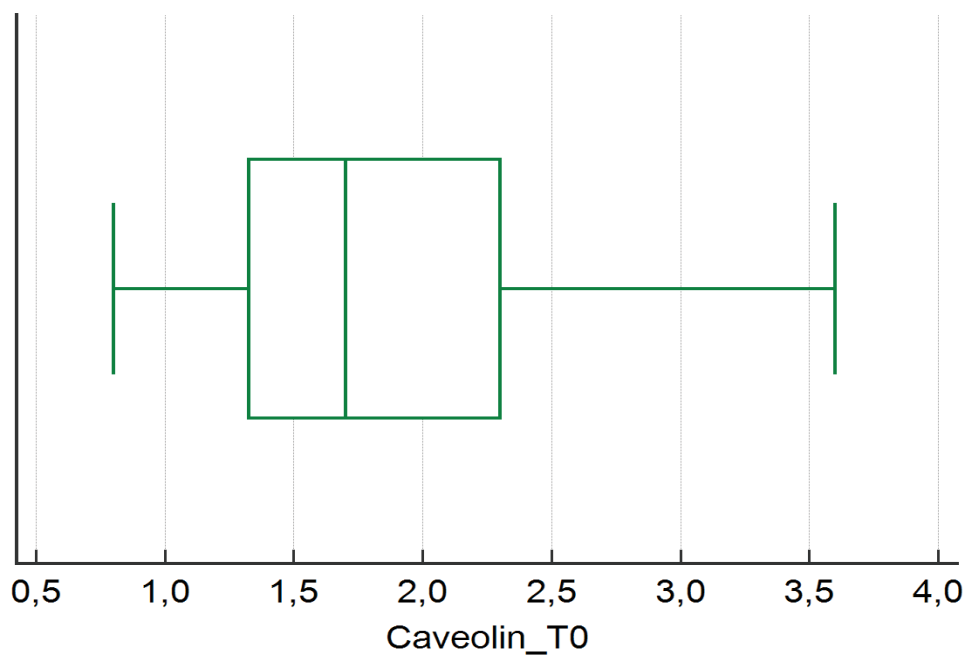
Capitolo 3

RISULTATI

Abbiamo arruolato nello studio 9 pazienti affetti da adenocarcinoma pancreatico metastatico sottoposti a trattamento chemioterapico di prima linea con gemcitabina + nab-paclitaxel.

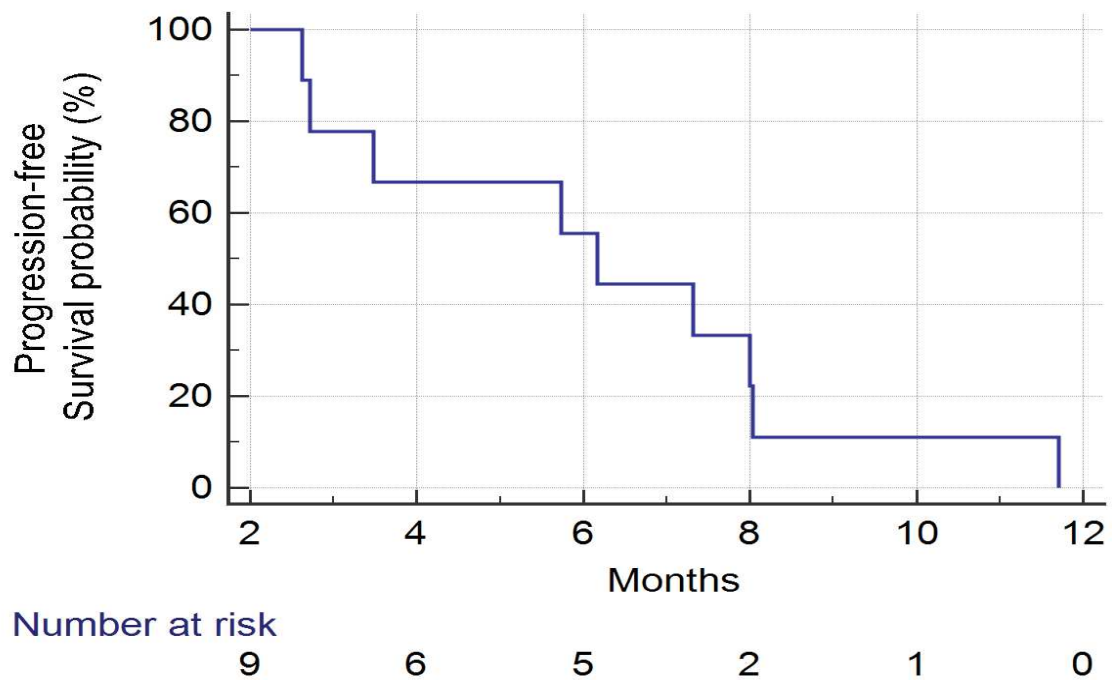
Le caratteristiche dei pazienti arruolati erano le seguenti:

sessu	9 maschi (100%)
età	54-73 anni (mediana 65 anni)
Sedi metastatiche all'inizio dell'analisi	Fegato (8 pazienti, 88,88%)
	Polmone (2 pazienti, 22,22%)
	Linfonodi plesso celiaco (1 paziente, 11,11%)
Chemioterapia neoadiuvante	Gemcitabina (1 paziente 11,1%)
Chemioterapia di prima linea	Gemcitabina + nab-paclitaxel (9 pazienti, 100%)
Seconda linea di trattamento	FOLFOX-6 (2 pazienti, 22,22%)
	FOLFIRINOX (1 paziente, 11,11%)
	FOLFIRI (2 pazienti, 22,22%)
	FOL-NaIri (1 paziente, 11,11%)
Markers	Ca19.9>700 (4 pazienti, 44,44%)
	CEA>10 (3 pazienti, 33,33%)

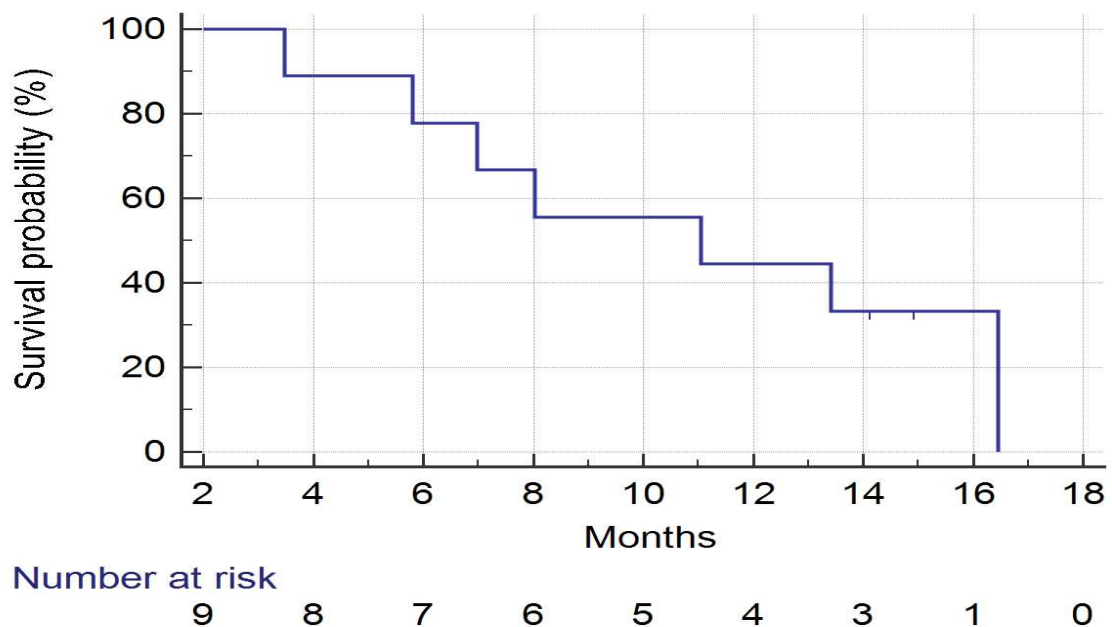


Abbiamo dosato i valori di caveolina al T0(prima dell'inizio della chemioterapia) e al T3(dopo tre mesi), cercando di evidenziare differenze in termini di PFS e OS in base al fatto che avessero valori alti o bassi.

Abbiamo poi studiato il gruppo di pazienti analizzando il tempo che è stato loro necessario per andare incontro a progressione di malattia, espresso come PFS e la loro sopravvivenza totale, espressa come OS.



La curva del PFS ha una mediana di 6.16 mesi.

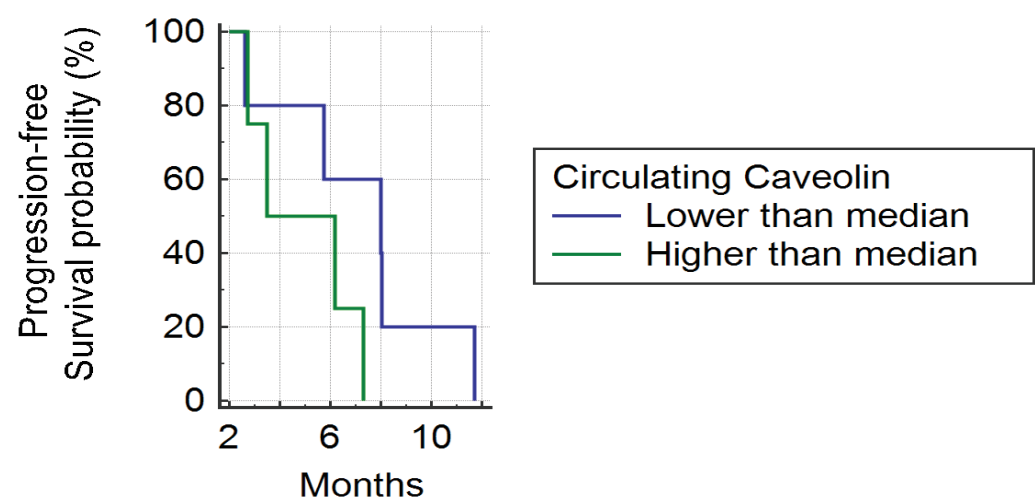


La curva dell' OS ha una mediana di 11.04 mesi.

In seconda battuta abbiamo diviso il gruppo in due sottogruppi, in base ai livelli di caveolina circolanti al tempo zero(T0).

Il primo gruppo con 5 pazienti ha una concentrazione di caveolina circolante sotto la mediana, l'altro di 4 pazienti ha valori invece superiori alla mediana.

Di questi gruppi abbiamo calcolato il tempo necessario per andare incontro a progressione di malattia (PFS) e sopravvivenza totale (OS) e li abbiamo confrontati.



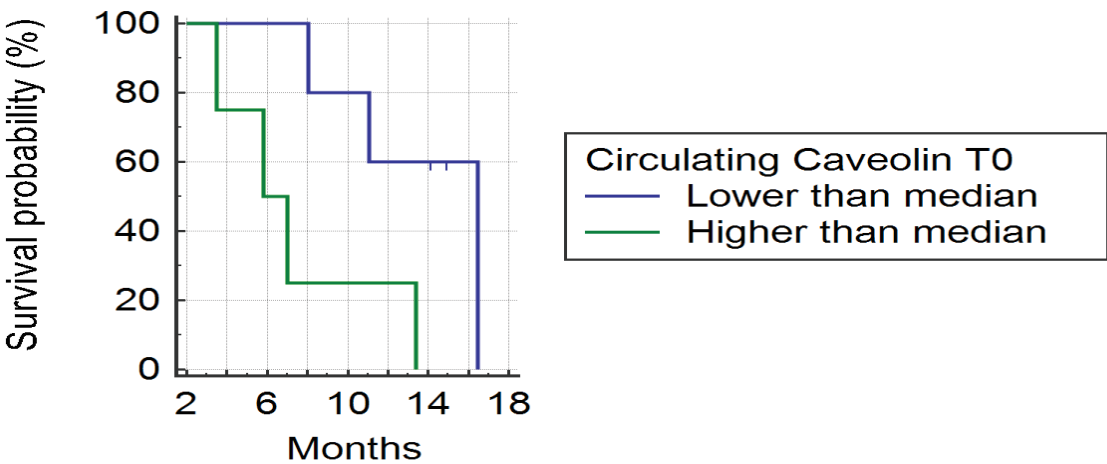
Number at risk

Group: Lower than median

5	4	3	2	1	0
---	---	---	---	---	---

Group: Higher than median

4	2	2	0	0	0
---	---	---	---	---	---



Number at risk

Group: Lower than median

5	5	5	5	4	3	3	1	0
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Group: Higher than median

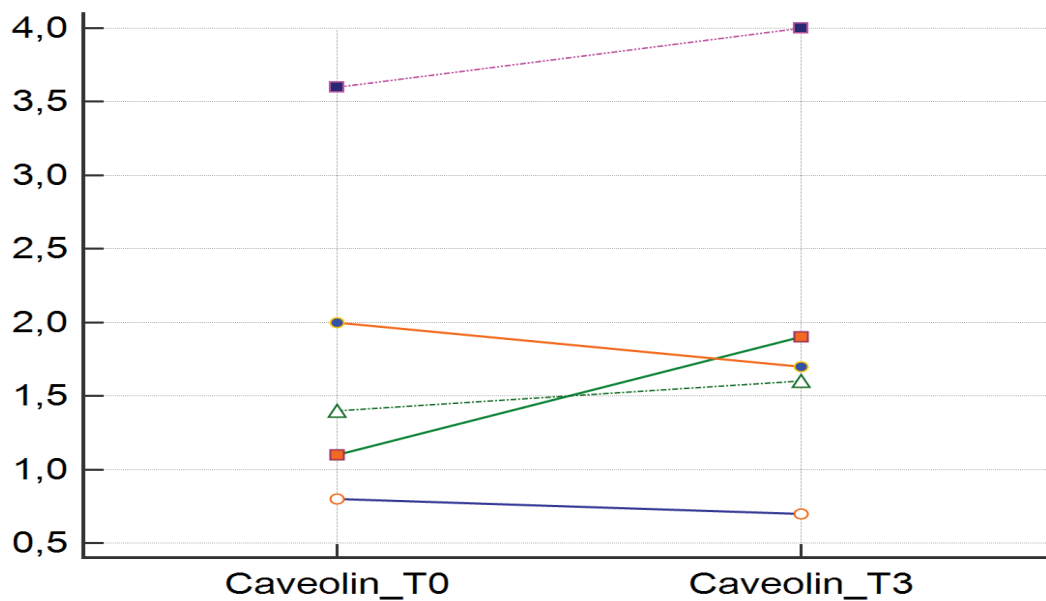
4	3	2	1	1	1	0	0	0
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Da queste curve si può evincere quindi come i pazienti con una concentrazione più alta di caveolina-1 esosome circolante al T0 mostri una peggiore sopravvivenza globale (OS) (5,8 vs 16,45 mesi, HR:4,08;95%CI:0,73-22,82; p=0.045) e un minor tempo di progressione di malattia (PFS) (3,47 vs 8 mesi, HR:2,25;95%CI:0,51-9,96;p=0,21).

Infine abbiamo rivalutato la caveolina a T3 (dopo tre mesi) per vedere se vi fossero sostanziali differenze di valori rispetto al baseline.

Da quanto emerge dal grafico ottenuto tramite Wilcoxon test, non emergono grandi variazioni dei livelli circolanti di caveolina tra tempo 0 e tempo 3.

Il livello circolante di caveolina sembra quindi rimanere costante, indipendentemente dall'outcome dei pazienti, che potrebbe supportare una sua qualche regolazione in itinere.



DISCUSSIONE

L'espressione della caveolina sembrerebbe essere correlata con le mutazioni di K-RAS da studi preclinici, e noi sappiamo come in quasi tutte le neoplasie pancreatiche sia presente la mutazione di questo gene.

Diversi studi hanno provato ad analizzare quindi il ruolo della caveolina nel tumore del pancreas, ma con risultati contrastanti.

Secondo alcuni, infatti, il fatto che l'espressione di caveolina determini un aumento dell'endocitosi e del movimento vescicolare a livello cellulare dovrebbe determinare un "aumento" dell'attività metabolica cellulare e quindi un maggiore potenziale di aggressività, proliferazione ed interazione con lo stroma tumorale (pertanto dovrebbe essere prognosticamente sfavorevole).

D'altro canto, se la caveolina determina un aumento dell'attività vescicolare dovrebbe anche rendere la cellula più sensibile a farmaci chemioterapici che per funzionare devono essere internalizzati e che agiscono sul citoscheletro.

Si è ipotizzato quindi, che farmaci come il Nab-paclitaxel, essendo coniugato con l'albumina, potessero riuscire a "penetrare" più facilmente nelle cellule che hanno alta espressione di caveolina perché l'albumina viene riconosciuta ed internalizzata più facilmente se c'è alta espressione di caveolina.

Questo consentirebbe al Paclitaxel coniugato di penetrare a livello intracellulare e di agire sul citoscheletro. Pertanto esistono studi pre-clinici che suggeriscono un possibile ruolo "predittivo" positivo della caveolina nei confronti del Nab-Paclitaxel.

Sono già presenti dati che ci danno informazioni positive sul possibile utilizzo della caveolina come marker prognostico.

In particolare nel 2017 è stato eseguito il primo studio che ha valutato il significato prognostico della caveolina circolante.⁽¹¹⁰⁾

È uno studio prospettico che ha analizzato campioni di sangue di 41 pazienti di nuova diagnosi di tumore del pancreas, oltre a 48 campioni di pazienti con pancreatite cronica e 41 campioni di pazienti sani.

Hanno ottenuto quindi che alti valori baseline di caveolina circolante erano associati ad una scarsa sopravvivenza e ad un peggior outcome.

Il nostro studio, che ha arruolato 9 pazienti con nuova diagnosi di neoplasia pancreaticata metastatica si è inserito proprio in questo contesto.

Sebbene numericamente limitato, le sopravvivenze dei pazienti arruolati in questa analisi sono sovrapponibili a quelli dei precedenti studi: in particolare la mediana di sopravvivenza del nostro gruppo di pazienti è di circa 11.04 mesi, peraltro confrontabile con quella dei pazienti arruolati nello studio MPACT con gemcitabina + nab-paclitaxel in prima linea di trattamento.

I nostri risultati infatti si sono trovati in accordo non solo con quanto ottenuto dallo studio precedente, ma anche con i risultati ottenuti dallo studio su tessuto, mostrando quindi che chi presentava alti valori baseline di

caveolina circolante aveva valori peggiori sia in termine di OS (5,8 vs 16,45 mesi, HR:4,08;95%CI:0,73-22,82; p=0.045), sia come PFS (3,47 vs 8 mesi, HR:2,25;95%CI:0,51-9,96;p=0,21).

Quello che abbiamo poi osservato, anche valutando i prelievi a T3, è che nonostante l'outcome dei pazienti, I valori rimanevano stabili nel tempo.

Si può quindi ipotizzare un meccanismo che ne regoli i valori circolanti.

Il nostro studio ha quindi confermato il significato prognostico negativo della Caveolina, il che suggerisce un suo possibile ruolo come marker per valutare l'aggressività della neoplasia, ma al contempo anche un possibile bersaglio di nuovi trattamenti terapeutici nei pazienti che presentano un elevato valore al tempo zero.

Avendo però il nostro studio arruolato una piccola quota di pazienti, sarebbe auspicabile ampliare il gruppo di studio per avere risultati ancora più solidi.

Al contempo però, le indicazioni che abbiamo ottenuto e confermato, suggeriscono che potrebbero essere intrapresi studi che indaghino la caveolina anche come fattore predittivo positivo di eventuali terapie, e non solo come fattore prognostico negativo.

Bibliografia

- 1) **Robbins e Cotran**, Le basi patologiche delle malattie, nona edizione.
- 2) **AIRTUM Worging Group**: I numeri del Cancro in Italia 2019. Pancreas esocrino, 169-172. 2019.
- 3) Linee guida carcinoma esocrino del pancreas- AIOM. 2019.
- 4) **Globocan**, International agency for research on cancer.
- 5) **International Agency for Research on Cancer**. IARC Monographs in the evaluation of the carcinogenic risk to humans. Vol. 83: Tobacco smoke and involuntary smoking. IARC, Lyon, France, 2004.
- 6) **World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research (eds)**. Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. Second Expert Report. AICR, Washington DC, 2007.
- 7) **Arslan AA, HelzlsouerKJ, Kooperberg C, et al**: Anthropometric measures, body mass index and pancreatic cancer: a pooled analysis from the Pancreatic Cancer Cohort Consortium (PanScan). Arch Intern Med 2010; 170: 791-802.
- 8) **Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (eds)**. WHO classification of tumours of the digestive system (4th edition). WHO-IARC, Lyon, 2010.
- 9) **Giardiello FM, Brensinger JD, Tersmette AC, et al**. Very high risk of cancer in familial Peutz-Jeghers syndrome. Gastroenterology 2000; 119: 1447-53.
- 10) **Lynch HT, Fusaro RM**. Pancreatic cancer and the familial atypical multiple mole melanoma (FAMMM) syndrome. Pancreas 1991; 6: 127-31.
- 11) **Liede A, Karlan BY, Narod SA**. Cancer risk for male carriers of germline mutations in BRCA1 or BRCA2: a review of the literature. J Clin Oncol 2004; 22: 735-42.
- 12) **Lowenfels AB, Maisonneuve P, Dimagno EP, et al**. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. J Natl Cancer Inst 1997; 89: 442-6.
- 13) **Hruban R, Boffetta P, Hiraoka N, et al**: Ductal adenocarcinoma of the pancreas: WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon, IARC 279-91, 2010.
- 14) **Wilentz RE, Albores-Saavedra J, Zahurak M, et al.**: Pathologic examination accurately predicts prognosis in mucinous cystic neoplasms of the pancreas. Am J Surg Pathol 1991; 23: 1320.
- 15) **Conlon KC**: Intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. J Clin Oncol 2005; 23: 4518-4523.
- 16) **Fritz S, Warshaw AL, Thayer SP**: Management of the mucin-producing cystic neoplasms of the pancreas. The Oncologist 2009; 14: 125-136.
- 17) **Grutzmann R, Niedergethmann M, Pilarsky C et al.**: Intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas: biology, diagnosis, and treatment. The Oncologist 2010; 15: 1294-1309.
- 18) **Solcia E, Capella C, Kloppel G et al.**: Atlas of tumor pathology: tumors of the pancreas, 3rd ed. Washington, DC: Ar Institute of Pathology, 1997.

- 19) **Abraham SC, Wu TT, Klimstra DS et al.:** Distinctive molecular genetic alterations in sporadic and adenomatous polyposis-associated pancreatoblastomas: frequent alterations in the APC/beta-catenin pathway, 11p. *Am J Pathol* 2001; 159: 1619.
- 20) **Abraham SC, Klimstra DS, Wilentz RE, et al.** Solid-pseudopapillary tumors of the pancreas are genetically distinct from pancreatic ductal adenocarcinomas and almost always harbor beta-catenin mutations. *Am J Pathol* 2002; 160: 1361-1369.
- 21) **Gapstur SM, Gann P et al.:** Is pancreatic cancer a preventable disease? *JAMA* 2001; 286: 921-929.
- 22) **Kloppel G, Solcia E, Longnecker DS et al.:** Histological typing of tumor of pancreas. Springer-Verlag, Berlin 1996.
- 23) **Klimstra DS, Volkan Adsay N et al:** Pancreas cancer: pathology. In Kelsen DP. *Gastrointestinal oncology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2001.
- 24) **Hruban RH, Goggins M, Parsons J, Kern SE.** Progression model for pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2969-2972.
- 25) **Scaltriti M, Baselga J:** The epidermal growth factor receptor pathway: a model for target therapy. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5268-5272.
- 26) **Burgess AW, Cho HS, Eigenbrot C et al.:** An open-and-shut case? Recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. *Mol Cell* 2003; 12: 541-552;
- 27) **Herbst RS, Shin DM:** Monoclonal antibodies to target epidermal growth factor receptor-positive tumors: a new paradigm for cancer therapy. *Cancer* 2002; 94: 1593- 1611.
- 28) **Smith RA, Tang J, Tudur-Smith C, Neoptlemos JP et al.:** Meta-analysis of immunohistochemical prognostic markers in resected pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2011; 104: 1440-1451.
- 29) **Garcea G, Neal CP, Pattenden CJ et al.:** Molecular prognostic markers in pancreatic cancer: a systematic review. *Eur J Cancer* 2005; 41 (1) 5: 2213-2216.
- 30) **Moore MJ, Goldstein D, Hamm J et al.:** Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 2007; 25 (16): 1960-1966.
- 31) **Yamazaki Y, Morita T:** Molecular and functional diversity of vascular endothelial growth factors. *Mol Divers* 2006; 10: 515-527.
- 32) **Dallas NA, Fan F, Gray MJ et al.:** Functional significance of vascular endothelial growth factor receptors on gastrointestinal cancer cells. *Cancer Metastasis* 2007; Rev 26: 433-44
- 33) **Achen MG, Stacker SA:** Molecular control of lymphatic metastasis. *Ann NY Acad Sci* 2008; 1131: 225-234.
- 34) **Nash AD, Baca M, Wright et al.:** The biology of vascular endothelial growth factor-B (VEGF-B). *Pulm Pharmacol Ther* 2006; 19: 61-69.
- 35) **Wong HH, Lemoine NR:** Pancreatic cancer: molecular pathogenesis and new therapeutic targets. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 2009; 6 (7): 412- 422.
- 36) **Korc M:** Pathways for aberrant angiogenesis in pancreatic cancer. *Molecular Cancer* 2003; 2: 8.

- 37) **Mahadevan D, Von Hoff DD:** Tumor-stroma interactions in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Molecular Cancer Therapeutics* 2007; 6 (4): 1186-1197.
- 38) **Rahbari NN, Schmidt T, Falk CS et al.:** Expression and prognostic value of circulating angiogenic cytokines in pancreatic cancer. *BMC Cancer* 2011; 11: 286.
- 39) **Bronstein YL, Loyer EM, Kaur H et al** (2004) Detection of small pancreatic tumors with multiphasic helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 182:619–623;
- 40) **DeWitt J, Devereaux B, Chriswell M et al** (2004) Comparison of endoscopic ultrasonography and multidetector computed tomography for detecting and staging pancreatic cancer. *Ann Intern Med* 141:753–763;
- 41) **Fusari M, Maurea S, Imbriaco M et al** (2010) Comparison between multislice CT and MR imaging in the diagnostic evaluation of patients with pancreatic masses. *Radiol Med* 115:453-466;
- 42) **Legmann P, Vignaux O, Dousset B et al** (1998) Pancreatic tumors: comparison of dual-phase helical CT and endoscopic sonography. *AJR Am J Roentgenol* 170:1315–1322;
- 43) **Agarwal B, Abu-Hamda E, Molke KL et al** (2004) Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration and multidetector spiral CT in the diagnosis of pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol* 99:844-850;
- 44) **Baum U, Lell M, Nomayr A et al** (1999) Multiplanar spiral CT in the diagnosis of pancreatic tumors. *Radiologie* 39(11):958–964;
- 45) **Schima W, Ba-Ssalamah A, Kolblinger C et al** (2007) Pancreatic adenocarcinoma. *Eur Radiol* 17(3):638-49
- 46) **Yoon SH, Lee JM, Cho JY, Lee KB, Kim JE, Moon SK, Kim SJ, Baek JH, Kim SH, KimSH, Lee JY, Han JK, Choi BI.** Small (≤ 20 mm) pancreatic adenocarcinomas: analysis of enhancement patterns and secondary signs with multiphasic multidetector CT. *Radiology*. 2011 May;259(2):442-52.
- 47) **Park HS, Lee JM, Choi HK, Hong SH, Han JK, Choi BI.** Preoperative evaluation of pancreatic cancer: comparison of gadolinium-enhanced dynamic MRI with MRcholangiopancreatography versus MDCT. *J Magn Reson Imaging*. 2009 Sep;30(3):586-95
- 48) **AsbunHJ, ConlonK, Fernandez-CruzL, et al:** International Study Group of Pancreatic Surgery. When to perform a pancreatoduodenectomy in the absence of positive histology? A consensus statement by the International Study Group of Pancreatic Surgery. *Surgery* 155: 887-92, 2014
- 49) **Horwhat JD, Paulson EK, McGrath K, et al:** A randomized comparison of EUS-guided FNA versus CT or US- guided FNA for the evaluation of pancreatic mass lesions. *GastrointestEndosc* 63: 966-75, 2006
- 50) **TNM AJCC 8th ed,** 2017 AJCC cancer staging manual. 8th ed. New York: Springer; 2017. pp. 337-347, Amin, Edge, Greene et al eds, ISBN: 978-3-319-40617-6
- 51) **Callery MP, Chang KJ, Fishman EK, et al:** Pretreatment assessment of resectable and borderline resectable pancreatic cancer: expert consensus statement. *Ann SurgOncol* 16: 1727-33, 2009

- 52) **Wong JC, Lu DS:** Staging of pancreatic adenocarcinoma by imaging studies. *ClinGastroentero-Hepatol* 6: 1301- 8, 2008
- 53) **Horton KM, Fishman EK:** Adenocarcinoma of the pancreas: CT imaging. *RadiolClin North Am* 40: 1263-72, 2002
- 54) **House MG, Yeo CJ, Cameron JL, et al:** Predicting resectability of periampullary cancer with three-dimensional computed tomography. *J GastrointestSurg* 8: 280-8, 2004.
- 55) **Klauss M, Schobinger M, Wolf I, et al:** Value of three-dimensional reconstructions in pancreatic carcinoma using multidetector CT: initial results. *World J Gastroenterol* 15: 5827-32, 2009
- 56) **Seufferlein T, Bachet JB, Van Cutsem E, et al:** ESMO Guidelines Working Group. Pancreatic adenocarcinoma: ESMO-ESDO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann OncolSuppl* 7: 33-40, 2012
- 57) **AgarwalB, Abu-HamdaE ,MolkeKL, et al:**Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration and multidetector spiral CT in the diagnosis of pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol* 99: 844-50, 2004
- 58) **Vachiranubhap B, Kim YH, Balci NC, et al:** Magnetic resonance imaging of adenocarcinoma of the pancreas. *Top MagnReson Imaging* 20: 3-9, 2009.
- 59) **Schima W, Ba-Ssalamah A, Goetzinger P, et al:** State-of-the-art magnetic resonance imaging of pancreatic cancer. *Top MagnReson Imaging* 18: 421-9, 2007.
- 60) **Karachristos A, Scarneas N, Hoffman JP:** CA 19-9 levels predict results of staging laparoscopy in pancreatic cancer. *J GastrointestSurg* 9: 1286-92, 2005 65.
- 61) **Ferrone CR, Finkelstein DM, Thayer SP, et al:** Perioperative CA19-9 levels can predict stage and survival in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma. *J ClinOncol* 24: 2897-902, 2006.
- 62) **Ferrone CR, Brennan MF, Gonen M, et al:** Pancreatic adenocarcinoma: the actual 5-year survivors. *J Gastrointest surg* 12: 701-6, 2008.
- 63) **Shimada K, Sakamoto Y, Nara S, et al:** Analysis of 5-year survivors after a macroscopic curative pancreatectomy for invasive ductal adenocarcinoma. *World J Surg* 34: 1908-15, 2010
- 64) **Barugola G, Partelli S, Marcucci S, et al:** Resectable pancreatic cancer: who really benefits from resection? *Ann Surg Oncol* 16: 3316-22, 2009.
- 65) **Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, et al:** Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators. *J Gastrointest Surg* 4: 567-79, 2000
- 66) **Gooiker GA, Lemmens VE, Besselink MG, et al:** Impact of centralization of pancreatic cancersurgery on resection rates and survival. *Br J Surg*101:1000-5, 2014.
- 67) **Gleisner AL, Assumpcao L, Cameron JL, et al:** Is resection of periampullary or pancreatic adenocarcinoma with synchronous hepatic metastasis justified? *Cancer* 110: 2484-92, 2007.
- 68) **Evans DB, Farnell MB, Lillemoe KD, et al:** Surgical treatment of resectable and borderline resectable pancreas cancer: expert consensus statement. *Ann Surg Oncol* 16: 1736-44, 2009

- 69) **Crippa S, Dominguez I, Rodriguez JR, et al:** Quality of life in pancreatic cancer: analysis by stage and treatment. *J Gastrointest Surg* 12: 783-93, 2008
- 70) **Diener MK, Fitzmaurice C, Schwarzer G, et al:** Pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (pp Whipple) versus pancreaticoduodenectomy (classic Whipple) for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev*: CD006053, 5:CD006053, 2011.
- 71) **Iqbal N, Lovegrove RE, Tilney HS, et al:** A comparison of pancreaticoduodenectomy with pylorus preserving pancreaticoduodenectomy: a meta-analysis of 2822 patients. *Eur J Surg Oncol* 34: 1237-45, 2008.
- 72) **Karanicolas PJ, Davies E, Kunz R, et al:** The pylorus: take it or leave it? Systematic review and meta-analysis of pylorus-preserving versus standard whipple pancreaticoduodenectomy for pancreatic or periampullary cancer. *Ann Surg Oncol* 14: 1825-34, 2007.
- 73) **Nakao A, Harada A, Nonami T, et al:** Lymph node metastasis in carcinoma of the body and tail of the pancreas. *Br J Surg* 84: 1090-2, 1997.
- 74) **Schwarz RE, Harrison LE, Conlon KC, et al:** The impact of splenectomy on outcomes after resection of pancreatic adenocarcinoma. *J Am Coll Surg* 188: 516-21, 1999.
- 75) **Shoup M, Conlon KC, Klimstra D, et al:** Is extended resection for adenocarcinoma of the body or tail of the pancreas justified? *J Gastrointest Surg* 7:946-52, 2003.
- 76) **Strasberg SM, Linehan DC, Hawkins WG:** Radical antegrade modular pancreatosplenectomy procedure for adenocarcinoma of the body and tail of the pancreas: ability to obtain negative tangential margins. *J Am Coll Surg* 204: 244-9, 2007.
- 77) **Crippa S, Tamburrino D, Partelli S, et al:** Total pancreatectomy: indications, different timing, and perioperative and long-term outcomes. *Surgery* 149: 79-86, 2011.
- 78) **Dillhoff M, Yates R, Wall K, et al:** Intraoperative assessment of pancreatic neck margin at the time of pancreaticoduodenectomy increases likelihood of margin-negative resection in patients with pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 13: 825-30, 2009.
- 79) **Neoptolemos JP, Palmer DH, Ganeh P, et al.** Comparison of adjuvant gemcitabine and capecitabine with gemcitabine monotherapy in patients with resected pancreatic cancer (ESPAC-4): a multi-centre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet*, Vol 389, 10073,1011–1024, March 2017
- 80) **Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, et al:** A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med* 350: 1200-10, 2004.
- 81) **Stocken DD, Büchler MW, Dervenis C, et al:** Meta-analysis of randomised adjuvant therapy trials for pancreatic cancer. *Br J Cancer*.2005; 92(8):1372-81.
- 82) **Van Laethem JL, Hammel P, Mornex F et al.:** Adjuvant gemcitabine alone versus gemcitabine-based chemoradiotherapy after curative resection for pancreatic cancer: a randomized EORTC-40013-22012/FFCD- 9203/GERCOR phase II study. *J Clin Oncol*. 2010; 28(29):4450-6.
- 83) **Regine WF, Winter KA, Abrams RA, et al:** Fluorouracil vs gemcitabine chemotherapy before and after fluorouracil-based chemoradiation following resection of pancreatic adenocarcinoma: a randomized controlled trial. *JAMA* 299: 1019-26, 2008.

- 84) **Regine WF, Winter KA, Abrams R, et al:** Fluorouracil-based chemoradiation with either gemcitabine or fluorouracil chemotherapy after resection of pancreatic adenocarcinoma: 5-year analysis of the U.S. Intergroup/RTOG 9704 phase III trial. *Ann Surg Oncol* 18: 1319-26, 2011.
- 85) **Abrams RA, Winter KA, Regine WF, et al.** Failure to adhere to protocol specified radiation therapy guidelines was associated with decreased survival in RTOG 9704—a phase III trial of adjuvant chemotherapy and chemoradiotherapy for patients with resected adenocarcinoma of the pancreas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 82: 809-16; 2012.
- 86) **Conroy T, Hammel P, Hebba M et al.** FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *N Engl J Med* 379:2395-2406, 2018
- 87) **Zhan HX, Xu JW, Wu D, et al;** Neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Cancer Med*, 2017; 6: 1201-1219.
- 88) **Reni M, Balzano G, Zanon S, et al;** Safety and efficacy of preoperative or postoperative chemotherapy for resectable pancreatic adenocarcinoma (PACT-15): a randomised, open-label, phase 2-trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3:413-423
- 89) **Petrelli F, Inno A, Barni S, Ghidini A, Labianca R, Falconi M, Reni M, Cascinu S;** GISCAD (Gruppo Italiano per lo Studio dei Carcinomi dell'Apparato Digerente) and San Raffaele Hospital. Borderline resectable pancreatic cancer: More than an anatomical concept. *Dig Liver Dis*. 2017 Feb;49(2):223-226. doi: 10.1016/j.dld.2016.11.010. Epub 2016 Dec 5.
- 90) **Varadhachary GR, Tamm EP, Abbruzzese JL, et al.** Borderline resectable pancreatic cancer: definitions, management, and role of preoperative therapy. *Ann Surg Oncol* 13: 1035-46, 2006.
- 91) **Bockhorn M, Uzunoglu FG, Adham M, et al.** Borderline resectable pancreatic cancer: a consensus statement by the International Study Group of Pancreatic Surgery (ISGPS). *Surgery* 155:977-88, 2014.
- 92) **Versteijne E, Vogel JA, Besselink MG, et al.** Meta-analysis comparing upfront surgery with neoadjuvant treatment in patients with resectable or borderline resectable pancreatic cancer. *Br J Surg*. 2018 Apr 30. doi: 10.1002/bjs.10870
- 93) **Van Tienhoven G, Versteijne E, Suker M, et al.** Preoperative chemoradiotherapy versus immediate surgery for resectable and borderline resectable pancreatic cancer (PREOPANC-1): A randomized, controlled, multicenter phase III trial. *J Clin Oncol* 36, 2018 (suppl; abstr LBA4002)
- 94) **Reni M, Cordio S, Milandri C, et al:** Gemcitabine versus cisplatin, epirubicin, fluorouracil, and gemcitabine in advanced pancreatic cancer: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol* 6: 369-76, 2005.
- 95) **Conroy T, Desseigne F, Ychou M, et al:** FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 364: 1817-25, 2011.
- 96) **Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, et al.** Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *N Engl J Med* 369: 1691-703, 2013.

- 97) **Reni M, Zanon S, Peretti U, et al.** Nab-paclitaxel plus gemcitabine with or without capecitabine and cisplatin in metastatic pancreatic adenocarcinoma (PACT-19): a randomised phase 2 trial. *Lancet GastroenterolHepatol* 3: 691-697, 2018.
- 98) **Burris HA 3rd, Moore MJ, Andersen J, et al:** Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 2403- 13,1997.
- 99) **Yoo C, Hwang JY, Kim JE, Kim TW, Lee JS, Park DH, Lee SS, Seo DW, Lee SK, Kim MH, Han DJ, Kim SC, Lee JL.**A randomised phase II study of modified FOLFIRI.3 vs modified FOLFOX as second-line therapy in patients with gemcitabine-refractory advanced pancreatic cancer.*Br J Cancer*. 2009 Nov 17;101(10):1658- 63.
- 100) **Sonbol MB, Firwana B, Wang Z, Almader-Douglas D, Borad M, Makhoul I, Ramanathan R, Ahn D, Bekaii- Saab T.** Second-line treatment in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma: A meta-analysis. *Cancer*. 2017; 123:4680–4686.
- 101) **Citterio C, Baccini M, Orlandi E, Di Nunzio C, Cavanna L.**Second-line chemotherapy for the treatment of metastatic pancreatic cancer after first-line gemcitabine-based chemotherapy: a network meta- analysis.*Oncotarget*. 2018 Jul 3;9(51):29801-29809.
- 102) **AIOM-** La biopsia liquida.
- 103) **Ambros V,** The functions of animal RNAs,in nature, vol. 431. n. 7006, settembre 2004, pp.350-5 DOI:10.1038/nature 02871, PMID 15372042.
- 104) **MicroRNAs:** genomics, biogenesis, mechanism, and function, in cell, vol.116,n.2 gennaio 2004, pp. 281-97, DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5, PMID 14744438
- 105) **Bartel DP,** microRNAs:target recognition and regulatory functions, in *Cell*, vol. 136, n.2, gennaio 2009, pp.215-33, DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002, PMC 3794896, PMID 19167326.
- 106) **Kusenda B, Mraz M, Mayer J, Pospisilova S,** MicroRNA biogenesis, functionality, and cancer relevance in *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia*, vol. 150, n. 2, Novembre 2006, pp. 205–15, DOI:10.5507.bp.2006.029 PMID 17426780
- 107) **Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR,** MicroRNA expression profiles classify human cancers, in *Nature*, vol. 435, n. 7043, Giugno 2005, pp. 834–8, Bib-code:2005Natur.435..834L DOI:10.1038/nature03702, PMID 15944708
- 108) **Võsa U, Vooder T, Kolde R, Fischer K, Välk K, Tõnisson N, Roosipuu R, Vilo J, Metspalu A, Annilo T,** identification of miR-374a as a prognostic marker for survival in patients with early-stage non-small cell lung cancer,in *Genes Chromosomes Cancer*, vol. 50, n. 10, Ottobre 2011, pp. 812–22, DOI:10.1002/gcc.20902 PMID 21748820
- 109) **Akçakaya P, Ekelund S, Kolosenko I, Caramuta S, Ozata DM, Xie H, Lindforss U, Olivecrona H, Lui WO,** miR-185 and miR-133b deregulation is associated with overall survival and metastasis in colorectal cancer, in *Int. J. Oncol.*, vol. 39, n. 2, Agosto 2011, pp. 311–8, DOI:10.3892/ijo.2011.1043, PMID 21573054

- 110) Demirci NS , Dogan M, Erdem GU, Kacar S, Turhan T , Kilickap S, Cigirgan LC, Kavacetin E, Bozkaya Y, Zengin N. Is plasma caveolin-1 level a prognostic biomarker in metastatic pancreatic cancer?