

**Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova
Școala Doctorală**



Implicația prognostică a VEGFR1 și VEGFR2 în cancerul pancreatic

rezumat

**Conducător științific,
Prof. Univ. Dr. Adrian Săftoiu**

**Student doctorand,
Costache Mădălin Ionuț**

**CRAIOVA
2015**

I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Capitolul 1. Introducere. Factori de risc. Patogenie.	3
Introducere	3
Etiologie. Factori de risc. Elemente de patogenie.....	3
Angiogeneza.....	4
Capitolul 2. Diagnosticul cancerului pancreatic.....	4
Manifestări clinice în cancerul pancreatic	4
Metode imagistice de diagnostic în cancerul pancreatic	4
Ultrasonografia endoscopică.....	4
Capitolul 3. Puncția fină aspirativă ghidată ecoendoscopic.....	5
Capitolul 4. Prognosticul cancerului pancreatic.....	6

II. CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul 5. Obiective. Material si metodă.....	6
Obiectivele studiului.....	6
Material și metodă.....	6
Capitolul 6. Rezultate.....	7
Caracteristici demografice.....	7
Caracteristici ecoendoscopice.....	8
Caracteristici genetice – expresiile VEGFR1 și VEGFR2.....	8
Supraviețuirea pacienților cu cancer pancreatic.....	8
Evaluarea markerilor prognostici în cancerul pancreatic.....	9
Capitolul 7. Discuții.....	10
Capitolul 8. Concluzii.....	11

Bibliografie

I. STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Capitolul 1. Introducere. Factori de risc. Patogenie.

Introducere

Cancerul pancreatic reprezintă una din cele mai importante probleme de sănătate publică în întreaga lume, constituind a 4 – a cauză de deces prin cancer, cu o rată de supraviețuire la 1 an de 25% și la 5 ani de doar 5%. Ecoendoscopia reprezintă cea mai eficientă metodă utilizată în managementul cancerului pancreatic. Angiogeneza are un rol esențial în creșterea și dezvoltarea tumorală iar VEGF și receptorii săi (VEGFR1 și VEGFR2) sunt cei mai importanți factori de stimulare a angiogenezei în cancerul pancreatic [1 – 4]. Scopul prezentului studiu este de a îmbunătăți cunoștințele în ceea ce privește rolul ecoendoscopiei în evaluarea neoplasmului pancreatic, de a determina expresia genetică a VEGFR1 și VEGFR2 la pacienții cu cancer pancreatic și de a stabili în ce măsură, caracteristicile demografice, ecoendoscopice, și genetice influențează evoluția bolii.

Cuvinte cheie: cancer pancreatic, ecoendoscopie, puncție fină aspirativă, angieneză VEGFR1, VEGFR2.

Etiologie. Factori de risc. Elemente de patogenie

Există o multitudine de factori de risc care s-au dovedit a fi implicați în apariția neoplaziei pancreatice: fumatul, consumul de alcool, dieta (aportul caloric crescut, carnea roșie, grăsimile totale și acizii grași) și obezitatea, factorii genetici (cancerul pancreatic familial, pancreatita ereditară, mutația genei BRCA2 etc), afecțiuni benigne preexistente bolii neoplazice (diabetul zaharat, pancreatita cronică etc) [5 – 17].

Peste 95% din neoplasmele maligne ale pancreasului se dezvoltă din elementele exocrine ale glandei (din celulele acinare și cele ductale) și poartă denumirea de **adenocarcinoame**. Tumorile pancreatice se descoperă predominant la nivelul capului pancreatic (60-70%) având dimensiunea medie de 25 – 35 mm. Indiferent de localizare, tumorile se dezvoltă insidios și produc tardiv simptomatologie. Evoluția naturală a afecțiunii duce către invazia loco-regională a structurilor anatomice de vecinătate și în final către diseminare la distanță (ficat, cavitate peritoneală etc) [18 – 23].

Angiogeneză

Angiogeneza reprezintă un proces esențial în creșterea și dezvoltarea tumorală. Există o serie de factori ce stimulează procesul de neoangiogeneză tumorală, cel mai important fiind VEGF (vascular endothelial growth factor). Familia proteinei VEGF cuprinde mai mulți membri, care sunt implicați în apariția și dezvoltarea majorității tipurilor de cancere digestive sau nondigestive. În cancerul pancreatic sunt implicați în mod special VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D și receptorii VEGFR1, VEGFR2 și VEGFR3. VEGFR-2 reprezintă cel mai important receptor în evaluarea angiogenezei în cancerul pancreatic, expresia sa crescută, fiind totodată, un factor de prognostic negativ [24 – 36].

Capitolul 2. Diagnosticul cancerului pancreatic.

Manifestări clinice

Cancerul pancreatic se dezvoltă insidios și devine simptomatic, tardiv, în evoluția sa, odată cu compresia/invazia structurilor anatomice locoregionale. Principalele manifestări clinice sunt reprezentate de icter obstructiv și durere abdominală. Mai pot apărea: pierdere ponderală, insuficiență pancreatică exocrină (steatoree și malabsorbție) și endocrină (diabet zaharat) și mai puțin frecvent, depresie, tromboflebită migratorie (semnul Trousseau), tromboză venoasă și sângerarea gastrointestinală [37 – 40].

Metode imagistice de diagnostic în cancerul pancreatic

Imagistica ocupă în prezent rolul central și decisiv în managementul cancerului pancreatic fiind implicată în toate etapele acestuia: detectarea și caracterizarea formațiunilor tumorale pancreatice, identificarea oricăror variante anatomice, determinarea extensiei locale și vasculare precum și a invaziei perineurale și limfatice, evaluarea limitelor tumorale, detectarea metastazelor și evaluarea rezecabilității tumorale. Principalele examene imagistice pentru detectarea tumorilor pancreatice sunt ultrasonografia abdominală (US), ecoendoscopia (EUS), colangio-pancreatografia endoscopică retrogradă (ERCP), computer tomografia (CT), rezonanța magnetică nucleară (MRI) și tomografia cu emisie de pozitroni (PET- CT) [41 – 48].

Ultrasonografia endoscopică

Descrisă la începutul anilor 1980 (de către DiMagno), ecoendoscopia (EUS), a devenit, în prezent, cea mai bună metodă de evaluare a afecțiunilor pancreato-biliare fiind demonstrat ca având o rată superioară de diagnostic precoce a tumorilor pancreatice, față de PET, MRI, CT sau US. Adenocarcinomul pancreatic apare tipic la EUS ca *o formațiune*

hipoecogenă, neomogenă, cu margini neregulate. Ultrasonografia endoscopică reprezintă cea mai sensibilă și mai specifică metodă imagistică existentă în managementul maselor focale pancreatice (acuratețe, sensibilitate și VPN de până la 98%).

Prin rezoluția sa înaltă, EUS poate detecta leziuni mai mici de 2-5 mm diametru. Mai mult, evidențierea fluxului vascular la examinarea în modul Doppler sau Power Doppler poate fi utilă pentru descrierea vascularizației peripancreatice. În modul Doppler tumorile maligne pancreatice apar tipic **hipovascularizate**. Avantajul major al acestui tip de examinare este evident în timpul realizării puncției fine aspirative, ajutând la evitarea punționării unui vas sangvin important și astfel, a complicațiilor hemoragice consecutive. **Echoendoscopia cu contrast (CE-EUS)**, utilizând agenți de contrast de generația a doua (SonoVue), a îmbunătățit caracterizarea vascularizației din interiorul leziunilor interesate, permițând o mai bună diferențiere a maselor tumorale benigne de cele maligne. CE-EUS comportă două faze vasculare importante: faza arterială precoce (parenchimotoasă/pancreatică) și faza venoasă tardivă. Adenocarcinomul ductal pancreatic apare ca **hipovascular**, în faza arterială și realizează fenomen de **wash-out** în faza venoasă. Pancreatita cronică pseudotumorală sau tumorile neuroendocrine au, din contră, aspect izovascular sau hipervascular în faza arterială, ceea ce le diferențiază, astfel, de leziunile maligne. **Sonoelastografia** permite aprecierea durității tisulare în timpul EUS, având o acuratețe ridicată în diagnosticul diferențial al tumorilor solide pancreatice. Cancerul pancreatic are aspect elastografic dur. Utilitatea elastografie este evidențiată mai ales în orientarea diagnosticului, la pacienții cu adenocarcinom pancreatic și PFA-EUS fals negative [49 – 62].

Avantajul major al ecoendoscopiei este oferit de posibilitatea de a obține material citologic/histologic prin puncție fină aspirativă ghidată ecoendoscopic.

Capitolul 3. Puncția fină aspirativă ghidată ecoendoscopic (PFA-EUS)

Puncția fină aspirativă (EUS-FNA sau PFA-EUS) efectuată sub ghidaj ecoendoscopic este o tehnică minim invazivă ce permite colectarea de probe citologice (și/sau histologice) de la nivelul maselor tumorale pancreatice [50]. Descrisă pentru prima dată în 1991, PFA este efectuată de rutină, în prezent, în majoritatea centrelor de gastroenterologie, fiind evident faptul că această procedură are un impact decisiv în managementul pacienților cu neoplasm pancreatic. Deși, valoarea predictivă negativă a PFA este relativ scăzută (46 – 80%) acuratețea PFA-EUS pentru diagnosticul adenocarcinomului ductal pancreatic variază între 80–95%, cu o sensibilitate și o specificitate de 85%, respectiv 98%.

În plus față de avantajul de a oferi un diagnostic citologic/histologic, PFA furnizează suficient material pentru prelucrarea genetică și determinarea expresiei genetice (prin qRT-PCR) a unor markeri moleculari angiogenici precum VEGFR1 și VEGFR2 [63 – 79].

Capitolul 4. Prognosticul cancerului pancreatic

Deși s-au făcut progrese tehnologice remarcabile în îmbunătățirea diagnosticului cancerului pancreatic de-a lungul ultimelor decenii, rata de supraviețuire la 5 ani, rămâne doar 5%. Prognosticul modest este cauzat, în principal, de stadiul avansat în momentul descoperirii, mai mult de 80% din pacienți prezentându-se cu boală local avansată sau metastatică, ceea ce contraindică intervenția chirurgicală. Prognosticul rămâne rezervat chiar și la pacienții operabili (15 – 20% din cazuri). Astfel, necesitatea descoperirii unor noi metode terapeutice este esențială [80 – 83].

II. CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul 5. Obiective. Material si metodă.

Obiectivele studiului.

Tema de cercetare aleasă este de mare importanță, având în vedere prognosticul devastator al cancerului pancreatic, iar necesitatea identificării unor metode diagnostice și terapeutice mai eficiente este primordială. Prezenta lucrare are ca obiectiv îmbunătățirea cunoștințelor în ceea ce privește rolul ecoendoscopiei în managementul neoplasmului pancreatic, evaluarea expresiei genetice a receptorilor VEGFR1 și VEGFR2 și identificarea unor markeri prognostici în cancerul pancreatic.

Material și metodă

Studiul este unul prospectiv și s-a efectuat pe o *perioadă de 4 ani* (ianuarie 2011 – decembrie 2014), în Centrul de Cercetare în Gastroenterologie și Hepatologie din cadrul UMF Craiova. Au fost incluși în studiu **108 pacienți**, individualizați în 3 loturi: lotul I (cancer pancreatic, n=68), loturile martor (lotul II - pancreatită cronică, n=20 și lotul III - pancreas normal ecoendoscopic, n=20). După îndeplinirea criteriilor de includere în studiu, pacienții au fost examinați ecoendoscopic (în mod standard, Doppler, cu contrast, elastografie). La finalul ecoendoscopiei s-au prelevat probe prin PFA pentru examenul citologic, iar o parte din probe au fost stocate în laboratorul de genetică, unde ulterior, s-a determinat prezența expresiilor genetice VEGFR1 și VEGFR2. Înaintea examinării și după explicarea avantajelor și a

posibilelor complicații asociate cu ecoendoscopia, pacienții și-au dat consimțământul scris pentru examinarea ecoendoscopică, efectuarea anesteziei, colectarea de probe biologice/citologice și folosirea datelor rezultate din investigații în scopuri științifice. Toți pacienții au fost atent urmăriți și prin consultarea bazei de date a Serviciului de Evidență a Populației s-a determinat supraviețuirea pacienților cu cancer pancreatic incluși în studiu.

Rezultatele examinărilor au fost structurate într-o bază de date, într-un fișier **Microsoft Excel** (din pachetul de programe Microsoft Office 2010 professional) pentru a fi ulterior prelucrate statistic, utilizând programul **Microsoft Excel** (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) și programul **IBM Statistic Package for the Social Sciences (SPSS)**, versiunea 20.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

Inițial s-a realizat statistica descriptivă a loturilor de pacienți: frecvență, valoarea cea mai mică, valoarea cea mai mare, valoarea medie, valoarea mediană, deviație standard, coeficientul de variație, eroarea standard a unei medii, intervalul de încredere 95%.

Ulterior, s-a utilizat analiza univariată, analiza unui tabel de contingență cu testul chi-pătrat, unde, am calculat *p-ul* de semnificație statistică (considerând valoarea $p < 0,05$ semnificativă statistic) iar la final am realizat un model de regresie Cox. Prin regresia Cox se estimează efectul unui anumit parametru statistic, dintre cei analizați, asupra unui anumit eveniment (considerat eveniment final sau end-point). Deoarece în cadrul analizei privind evoluția pacienților, pentru studiul de față, există corelații multiple între variabilele explicative introduse în modelul Cox, am folosit metoda de analiză Backward, prin care, în mai mulți pași, se elimină variabilele care nu contribuie în mod semnificativ la model, rămânând, în final, doar acele variabile care explica cel mai bine relația cu evenimentul final analizat (statusul de nerezecabilitate, supraviețuirea la 6 luni, supraviețuirea la 12 luni și mortalitatea pacienților cu cancer pancreatic).

Capitolul 6. Rezultate.

Caracteristici demografice

Pacienții cu cancer pancreatic au avut o vârstă medie de 62,51 ani în momentul diagnosticului, cu 9 ani mai scăzută decât media globală raportată. Predomină sexul masculin și proveniența urbană a acestora iar distribuția pe grupe de vârstă evidențiază că 63% din pacienți fac parte din grupa de vârstă 60 – 79 ani.

Caracteristici ecoendoscopice

Tumorile pancreatice diagnosticate sunt majoritatea cuprinse între 25 și 35 mm localizare preponderent cefalică. Ultrasonografia endoscopică reprezintă cea mai bună metodă de stadializare loco-regională în cancerul pancreatic. Astfel, majoritatea (67%) pacienților se aflau în stadiile III și IV de evoluție în momentul diagnosticului, doar aproximativ 1 pacient din 5, îndeplinind criteriile de operabilitate.

Ecoendoscopia demonstrează o acuratețe diagnostică de peste 93% (prin utilizarea modului Doppler, a elastografiei și a ecoendoscopiei cu contrast). Puncția fină aspirativă are o acuratețe diagnostică de 81%, cu o specificitate excelentă (tabel 6.1), dar cu o valoare predictivă negativă modestă. În cazul pacienților cu puncții fine aspirative fals negative, EUS este o metodă extrem de utilă în orientarea diagnosticului de cancer.

Tabel 6.1 Valoarea diagnostică a EUS_standard, EUS_Doppler, EUS_contrast, elastografiei și PFA-EUS, în cancerul pancreatic

Parametru statistic	EUS standard	EUS Doppler	EUS contrast	Elastografie	PFA - EUS
Sensibilitate	97,1%	79,4%	91,1%	93,9%	77,6%
Specificitate	21,1%	90,0%	81,3%	90,9%	100%
Acuratețe	80,5%	81,8%	88,9%	93,2%	81,0%
VPP	81,5%	96,4%	94,4%	96,9%	100%
VPN	66,7%	56,3%	77,2%	83,3%	44,4%

Rezultate genetice

În ceea ce privește prezența expresiilor genetice, 90% din probele de țesut malign analizate au prezentat expresie genetică VEGFR1, 65% VEGFR2, iar 60% din cazuri au prezentat ambii receptori.

Supraviețuirea lotului de pacienți cu cancer pancreatic

Din totalul pacienților cu cancer pancreatic urmăriți, 89,7% au decedat pe perioada studiului. **Supraviețuirea medie** a fost de **9 luni, cu o rată de supraviețuire la 6 luni de 74% și la 12 luni de 29%**. Supraviețuirea este direct influențată de stadiul de evolutiv, fiind de 12 luni pentru stadiul I și de doar 6 luni pentru stadiul IV. Prezența expresiei genetice VEGFR1 și VEGFR2 influențează, de asemenea, supraviețuirea. Astfel, pacienții cu VEGFR1 prezent au supraviețuire medie de 7,22 luni comparativ cu cei cu VEGFR1 negativ (17,25 luni).

Situația este valabilă și pentru VEGFR2 pozitiv (5,96 luni) față de VEGFR2 negativ (12,42 luni).

SUPRAVIEȚUIRE	medie	La 6 luni				La 12 luni			
		Suprav		Deces		Suprav		Deces	
		nr	%	nr	%	nr	%	nr	%
Generală	9 luni	50	74%	18	26%	20	29%	48	71%
Std I (n=8)	12 luni	7	88%	1	12%	4	50%	4	50%
Std II (n=14)	11 luni	10	71%	4	29%	8	57%	6	43%
Std III (n=27)	7 luni	15	56%	12	44%	1	4%	26	96%
Std IV (n=19)	6 luni	8	42%	11	52%	5	21%	14	74%

Tabelul 6.2 Supraviețuirea pacienților cu cancer pancreatic în funcție de stadializare

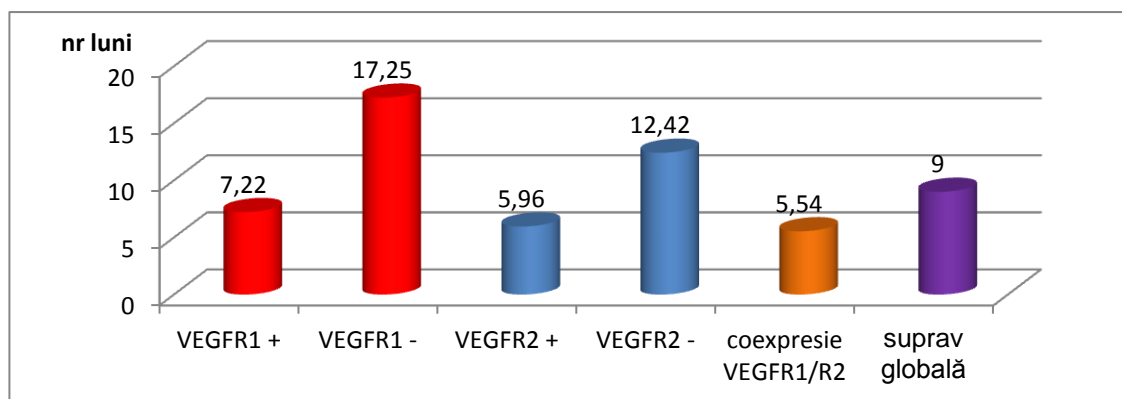


Figura 6.1 Supraviețuirea pacienților cu cancer pancreatic în funcție prezența expresiei genetice a VEGFR1 și VEGFR2

Factori de prognostic în cancerul pancreatic

Statusul de inoperabilitate se corelează individual, statistic cu: aspectul hipoecogen la examinarea ecoendoscopică standard, cu prezența expresiei VEGFR1, cu decesul pacienților și cu supraviețuirea pacienților mai puțin de 12 luni de la diagnostic. De asemenea există o slabă asociere cu sexul masculin al pacienților, localizarea tumorală cefalică și cu supraviețuirea sub 6 luni. Analiza modelului de regresie Cox, folosind ca parametrii de intrare, sexul pacienților, aspectul ecoendoscopic standard, localizarea tumorală și expresia VEGFR1, validează ca **factor predictiv pentru statusul inoperabil, prezența expresiei genetice a VEGFR1.**

Supraviețuirea pacienților sub 6 luni de la momentul diagnosticării se asociază individual cu PFA pozitivă și cu invazia tumorală locală. Există de asemenea o slabă corelație cu prezența invaziei ganglionare și cu statusul de nerezecabilitate. Din analiza modelului Cox,

unde s-au utilizat ca și parametrii de intrare PFA, statusul ganglionar, invazia tumorală, statusul de rezecabilitate și coexpresia VEGFR1/VEGFR2, s-a constatat că prezența **coexpresiei VEGFR1/VEGFR2 reprezintă factori de predictiv pentru supraviețuirea pacienților sub 6 luni de la diagnosticare.**

Supraviețuirea sub 12 luni a pacienților cu cancer pancreatic se corelează individual, cu stadiul avansat de evoluție al bolii, stadializarea T3-T4, statusul de nerezecabilitate, prezența expresiei genetice a VEGFR1, VEGFR2 și coexpresia VEGFR1/VEGFR2. Introducând parametrii cu semnificație statistică din analiza univariată, într-un model de regresie Cox, se observă că **prezența expresiei genetice a VEGFR1, VEGFR2 și coexpresia VEGFR1/VEGFR2 sunt factori predictivi ai supraviețuirii sub 12 luni din momentul diagnosticului.**

Decesul pacienților se asociază cu mediul de proveniență urbană, cu stadiul avansat de evoluție al bolii, cu categoria T3-T4, cu prezența adenopatiilor (N1), cu statusul de nerezecabilitate și cu expresia genetică a VEGFR2 și coexpresia VEGFR1/VEGFR2. Parametrii semnificativi din punct de vedere statistic sunt introduși într-un model de regresie Cox, ce urmează 6 pași, ultima etapă evidențiind parametrul cu cea mai importantă implicație prognostică. Astfel, **coexpresia VEGFR1/VEGFR2 reprezintă factorul cu cea mai mare implicație prognostică în decesul pacienților cu cancer pancreatic.**

Capitolul 7. Discuții.

Studiul de față, confirmă datele din literatura de specialitate, și subliniază că **VEGFR1** joacă un rol important în progresia tumorală (prin promovarea migrării și invaziei celulare) [24, 83, 84], fiind **factor predictiv al evoluției spre statusul de nerezecabilitate și al supraviețuirii pacienților cu cancer pancreatic sub 12 luni de la diagnostic.** Studiile publicate relatează că VEGFR-2 este cel mai important receptor în evaluarea angiogenezei în cancerul pancreatic. Expresia VEGFR-2 în celulele tumorale se corelează semnificativ cu invazia tumorală în țesuturile înconjurătoare și cu prognosticul negativ [85]. Prezenta lucrare confirmă că **VEGFR2 este un factor predictiv al supraviețuirii sub 12 luni din momentul diagnosticului. Mai mult, coexpresia celor doi receptori ai VEGF, reprezintă factorul cu cea mai mare implicație prognostică negativă, în ceea ce privește supraviețuirea la 6 luni și mortalitatea pacienților cu cancer pancreatic.**

Cancerul pancreatic este, așadar, unul dintre cele mai devastatoare tipuri de cancer.

Ecoendoscopia rămâne examenul gold-standard de management al cancerului pancreatic, realizând diagnosticul, stadializarea și stabilirea rezecabilității cu acuratețea cea mai mare [86]. Progresele tehnologice sunt departe de a fi stagnat. Descoperirile din ultimul timp au evoluat până la posibilitatea de a obține imagini de biopsie optică în timp real de la nivelul formațiunilor solide pancreatice vizualizate ecoendoscopic (endomicroscopie laser confocală) [87]. Progresele în ceea ce privește rata de supraviețuire, sunt lente, dar ele există. Înșuși studiul de față, raportează o rată de supraviețuire, la 1 an, ușor crescută (29%) față de rezultatele publicate până în prezent (25%). Așadar continuarea studiilor pentru descoperirea unor noi alternative diagnostice și terapeutice este vitală. Având în vedere implicația VEGF și a receptorilor acestuia în angiogeneza cancerului pancreatic, terapia anti-angiogenică trebuie să reprezinte piatra de temelie a tratamentului cancerului pancreatic. Astfel, lupta cu această patologie, nu este în totalitate pierdută și în consecință, nu trebuie abandonată. În Marea Britanie aproximativ 4300 de pacienți cu cancer pancreatic încă trăiau la finalul anului 2006, după 10 ani de la diagnostic [4]. Din acest motiv, speranțe de a prelungi supraviețuirea acestor pacienți, încă mai există, iar eforturile trebuind concentrate, în egală măsură, pe prevenția primară (evitarea factorilor de risc modificabili precum fumatul și dieta nocivă), diagnosticarea precoce, acuratețea stadializării preoperatorii și pe îmbunătățirea opțiunilor terapeutice.

Cele mai importante concluzii:

- EUS reprezintă cea mai eficientă tehnică în diagnosticarea și stadializarea cancerului pancreatic, cu o acuratețe ce poate depăși 93%. Mai mult, EUS este o metodă utilă în orientarea diagnosticului de cancer la pacienții cu PFA fals negativă.
- Adenocarcinomul pancreatic este unul dintre cele mai devastatoare tipuri de cancer. Astfel, aproximativ 90% din pacienți au decedat, având o supraviețuire medie de 9 luni din momentul diagnosticului.
- Rata de supraviețuirea la 12 luni a fost de 29%, ușor peste media raportată până în prezent (25%).
- Supraviețuirea este negativ influențată de stadiul avansat de evoluție și de prezența expresiilor genetice VEGFR1 și VEGFR2.
- Analiza genetică a evidențiat prezența VEGFR1 și VEGFR2 în 90%, respectiv 65% din probele maligne evaluate.

- Supraviețuirea la 1 an de la diagnostic este de 14% pentru VEGFR1 pozitiv și de doar 4% pentru VEGFR2 pozitiv.
- VEGFR1 reprezintă factor predictiv pentru statusul inoperabil și supraviețuirea sub 6 luni de la diagnostic.
- VEGFR2 este considerat factor predictiv pentru supraviețuirea sub 12 luni din momentul diagnosticului.
- Coexpresia VEGFR1/VEGFR2, reprezintă factorul cu cea mai mare implicație prognostică negativă, în ceea ce privește supraviețuirea la 6 luni și mortalitatea pacienților cu cancer pancreatic.

Bibliografie

1. Yadav D , Lowenfels AB. The Epidemiology of Pancreatitis and Pancreatic Cancer *Gastroenterology* 2013;144:1252–1261.
2. Hariharan D, Saied A, Kocher HM. Analysis of mortality rates for pancreatic cancer across the world. *HPB (Oxford)* 2008; 10:58.
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015; 65:5.
4. National Cancer Intelligence Network (NCIN). One, Five and Ten Year Cancer Prevalence. London, NCIN; 2010.
5. Jimenez RE, Fernandez-Del Castillo C Tumors of the Pancreas Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease, Ninth edition 2010: pathophysiology/diagnosis/management 1017-1024
6. IARC. Tobacco smoke and involuntary smoking. Lyon, France. 2004; 83:1187.
7. Wittel UA, Momi N, Seifert G, Wiech T, Hopt UT, Batra SK. The pathobiological impact of cigarette smoke on pancreatic cancer development (review). *Int J Oncol.* 2012 Jul;41(1):5-14.
8. Edderkaoui M, Thrower E. Smoking and Pancreatic Disease. *J Cancer Ther.* 2013 Nov 1;4(10A):34-40.
9. Pericleous M, Rossi RE, Mandair D, Whyand T, Caplin ME. Nutrition and pancreatic cancer. *Anticancer Res.* 2014 Jan;34(1):9-21.
10. de Menezes RF, Bergmann A, Thuler LC. Alcohol consumption and risk of cancer: a systematic literature review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(9):4965-72.
11. Farrell JJ , Reber HA Nonendocrine tumors of the pancreas *Textbook of Gastroenterology*, Fifth Edition 2009: 1853-1854
12. Larsson SC, Orsini N, Wolk A. Body mass index and pancreatic cancer risk: A meta-analysis of prospective studies. *Int J Cancer* 2007; 120: 1993-1998
13. Becker AE, Hernandez YG, Frucht H, Lucas AL. Pancreatic ductal adenocarcinoma: risk factors, screening, and early detection. *World J Gastroenterol.* 2014 Aug 28;20(32):11182-98.
14. Greer JB, Whitcomb DC, Brand RE (2007) Genetic predisposition to pancreatic cancer: a brief review. *Am J. Gastroenterol* 102: 2564-2569
15. Everhart J, Wright D. Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis. *JAMA* 1995;273:1605.
16. Chari ST, Leibson CL, Rabe KG, et al. Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study. *Gastroenterology* 2005;129:504.
17. Howes N, Lerch MM, Greenhalf W, et al. Clinical and genetic characteristics of hereditary pancreatitis in Europe. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:252.
18. Hamilton SR, Aaltonen LA. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. Lyon, France: IARC Press; 2000.
19. Hruban RH, Maitra A, Kern SE, Goggins M. Precursors to pancreatic cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 2007; 36: 831-49
20. Scarlett CJ, Salisbury EL, Biankin AV, Kench J. Precursor lesions in pancreatic cancer: morphological and molecular pathology. *Pathology* 2011; 43: 183-200
21. Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet* 2011; 378: 607-620
22. Valsangkar NP, Morales-Oyarvide V, Thayer SP, Ferrone CR, Wargo JA, Warshaw AL, Fernández-del Castillo C. 851 resected cystic tumors of the pancreas: a 33-year experience at the Massachusetts General Hospital. *Surgery* 2012; 152: S4-12

23. Chu GC, Kimmelman AC, Hezel AF, DePinho RA. Stromal biology of pancreatic cancer. *J Cell Biochem* 2007;101:887.
24. **Costache MI, Ioana M, Iordache S, Ene D, Costache CA, Saftoiu A. VEGF expression in pancreatic cancer and other malignancies: a review of the literature. *Rom J Intern Med.* 2015, 53, 3, 199-208.**
25. Crivellato E. The role of angiogenic growth factors in organogenesis. *Int J Dev Biol.* 2011;55(4-5):365-75
26. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev.* 2004;56(4):549–580.
27. Tammela T., Enholm b., Alitalo K. and Paavonen K. (2005). The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovas Res* 65: 550-563.
28. Kajdaniuk D, Marek B, Borgiel-Marek H, Kos-Kudla B. Vascular endothelial growth factor (VEGF) part 1: in physiology and pathophysiology. *Endokrynol Pol* 2011;62(5):444-455.
29. Olofsson, B., Jeltsch, M., Eriksson, U. and Alitalo, K. (1999) Current biology of VEGF-B and VEGF-C. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10, 528–535
30. Nagy, J. A., Vasile, E., Feng, D. et al. (2002) Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis. *J. Exp. Med.* 196, 1497–1506
31. von Marschall Z, Cramer T, Höcker M, Burde R, Plath T, Schirner M, Heidenreich R, Breier G, Riecken EO, Wiedenmann B, Rosewicz S. De novo expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic cancer: evidence for an autocrine mitogenic loop. *Gastroenterology.* 2000 Nov;119(5):1358-72.
32. Seo Y, Baba H, Fukuda T, Takashima M, Sugimachi K. High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis and a poor prognosis for patients with ductal pancreatic adenocarcinoma. *Cancer.* 2000 May 15;88(10):2239-45
33. Smith RA, Tang J, Tudur-Smith C, Neoptolemos JP, Ghaneh P. Meta-analysis of immunohistochemical prognostic markers in resected pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2011 Apr 26;104(9):1440-51.
34. Andreozzi M, Quagliata L, Gsponer JR, Ruiz C, Vuaroqueaux V, Eppenberger-Castori S, Tornillo L, Terracciano LM. VEGFA gene locus analysis across 80 human tumour types reveals gene amplification in several neoplastic entities. *Angiogenesis.* 2014 Jul;17(3):519-27.
35. Tang RF, Wang SX, Peng L, Wang SX, Zhang M, Li ZF, Zhang ZM, Xiao Y, Zhang FR. Expression of vascular endothelial growth factors A and C in human pancreatic cancer. *World J Gastroenterol.* 2006 Jan 14;12(2):280-6.
36. Von Marschall Z, Scholz A et al. Vascular endothelial growth factor-D induces lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in models of ductal pancreatic cancer. *Int J Oncol.* 2005 Sep;27(3):669-79.
37. Kanji ZS, Gallinger S. Diagnosis and management of pancreatic cancer. *CMAJ.* 2013 Oct 1;185(14):1219-26.
38. Kaur S, Baine MJ, Jain M, Sasson AR, Batra SK. Early diagnosis of pancreatic cancer: challenges and new developments. *Biomark Med.* 2012 Oct;6(5):597-612.
39. Ryan DP, Hong TS, Bardeesy N. Pancreatic adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2014 Sep 11;371(11):1039-49.

40. Stapley S, Peters TJ, Neal RD, Rose PW, Walter FM, Hamilton W. The risk of pancreatic cancer in symptomatic patients in primary care: a large case-control study using electronic records. *Br J Cancer*. 2012 Jun 5;106(12):1940-4.
41. de la Santa LG, Retortillo JA, Miguel AC, Klein LM. Radiology of pancreatic neoplasms: An update. *World J Gastrointest Oncol*. 2014 Sep 15;6(9):330-43
42. Shrikhande SV, Barreto SG, Goel M, Arya S. Multimodality imaging of pancreatic ductal adenocarcinoma: a review of the literature. *HPB (Oxford)*. 2012 Oct;14(10):658-68
43. Zhao WY, Luo M, Sun YW, Xu Q, Chen W, Zhao G et al. (2009) Computed tomography in diagnosing vascular invasion in pancreatic and periampullary cancers: a systematic review and meta-analysis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 8:457–464.
44. Brentnall TA. Pancreatic cancer surveillance: learning as we go. *Am J Gastroenterol* 2011;106:955-6.
45. Wang Y, Miller FH, Chen ZE, Merrick L, Morteale KJ, Hoff FL, Hammond NA, Yaghmai V, Nikolaidis P. Diffusionweighted MR imaging of solid and cystic lesions of the pancreas. *Radiographics* 2011; 31: E47-E64.
46. Li H, Hu Z, Chen J, Guo X. Comparison of ERCP, EUS, and ERCP combined with EUS in diagnosing pancreatic neoplasms: a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biol*. 2014 Sep;35(9):8867-74.
47. Gonzalo-Marin J, Vila JJ, Perez-Miranda M. Role of endoscopic ultrasound in the diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2014 Sep 15;6(9):360-8.
48. Lan BY, Kwee SA, Wong LL. Positron emission tomography in hepatobiliary and pancreatic malignancies: a review. *Am J Surg*. 2012 Aug;204(2):232-41
49. DiMagna EP, Buxton JL, Regan PT, et al. Ultrasonic endoscope. *Lancet* 1980; 1: 629–31.
50. **Costache MI, Iordache S, Karstensen JG, Săftoiu A, Vilmann P. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration: from the past to the future. *Endosc Ultrasound*. 2013 Apr;2(2):77-85.**
51. Hunt GC, Faigel DO. Assessment of EUS for diagnosing, staging, and determining resectability of pancreatic cancer: a review. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 232-237
52. Lami G, Biagini MR, Galli A. Endoscopic ultrasonography for surveillance of individuals at high risk for pancreatic cancer. *World J Gastrointest Endosc*. 2014 Jul 16;6(7):272-85.
53. Sakamoto, H.; Kitano, M.; Kamata, K.; El-Masry, M.; Kudo, M. Diagnosis Of Pancreatic Tumors by Endoscopic Ultrasonography. *World J. Radiol*. 2010, 2(4), 122–134.
54. Hewitt MJ, McPhail MJ, Possamai L, et al. EUS-guided FNA for diagnosis of solid pancreatic neoplasms: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 319-31.
55. Li H, Hu Z, Chen J, Guo X. Comparison of ERCP, EUS, and ERCP combined with EUS in diagnosing pancreatic neoplasms: a systematic review and meta-analysis. *Tumour Biol*. 2014 Sep;35(9):8867-74
56. Reddy, N. K.; Ioncica, A. M.; Saftoiu, A.; Vilmann, P.; Bhutani, M.S Contrast-Enhanced Endoscopic Ultrasonography. *World J. Gastroenterol*. 2011, 17(1), 42–48.
57. **Iordache S, Angelescu R, Filip MM, Costache MI, Popescu CF, Gheonea DI, Săftoiu A. Power Doppler endoscopic ultrasound for the assessment of pancreatic neuroendocrine tumors. *Endosc Ultrasound*. 2012 Oct;1(3):150-5**
58. Saftoiu, A., Vilmann, P., Gorunescu, F. et al. European EUS Elastography Multicentric Study Group Accuracy of Endoscopic Ultrasound Elastography Used for Differential Diagnosis of Focal Pancreatic Masses: A Multicenter Study. *Endoscopy* 2011, 43(7), 596–603.
59. Saftoiu, A. State-of-the-Art Imaging Techniques in Endoscopic Ultrasound. *World J. Gastroenterol*. 2011, 17(6), 691–696.

60. Ying L, Lin X, Xie ZL, Hu YP, Tang KF, Shi KQ. Clinical utility of endoscopic ultrasound elastography for identification of malignant pancreatic masses: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Sep;28(9):1434-43.
61. **Costache MI, Saftoiu A, Gheonea DI Detection and Characterization of Solid Pancreatic Lesions (Contrast-Enhancement, Elastography, EUS-Guided Fine Needle Aspiration). Video Journal and Encyclopedia of GI Endoscopy. 2012 July 9;545-547.**
62. Iqbal S, Friedel D, Gupta M, Ogden L, Stavropoulos SN. Endoscopic- Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration and the Role of the Cytopathologist in Solid Pancreatic Lesion Diagnosis. *Pathol. Res. Int*. 2012, 2012, 1–17.
63. Vilmann P, Hancke S, Henriksen FW, et al. Endoscopic ultrasonography with guided fine needle aspiration biopsy in pancreatic disease. *Gastrointest Endosc* 1992; 38: 172–3.
64. Vilmann P, Saftoiu A. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration biopsy: Equipment and technique. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1646–55.
65. Vilmann P. Endoscopic ultrasonography with curved array transducer in diagnosis of cancer in and adjacent to the upper gastrointestinal tract. Scanning and guided fine needle aspiration biopsy [Dissertation]. Copenhagen: Munksgaard, 1998.
66. Noh KW, Wallace MB. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine- Needle Aspiration in the Diagnosis and Staging of Pancreatic Adenocarcinoma. *Med Gen Med* 2005; 7: 15.
67. Will U, Mueller A, Topalidis T, et al. Value of endoscopic ultrasonography-guided fine needle aspiration (FNA) in the diagnosis of neoplastic tumor(-like) pancreatic lesions in daily clinical practice. *Ultraschall Med*. 2010 Apr;31(2):169-74.
68. 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. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 966-75.
69. Baghbanian M, Shabazkhani B, Ghofrani H, et al. Efficacy of endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration in patients with solid pancreatic neoplasms. *Saudi J Gastroenterol* 2012; 18: 358-63.
70. Ylagan LR, Edmundowicz S, Kasal K, et al. Endoscopic ultrasound guided fine-needle aspiration cytology of pancreatic carcinoma: a 3-year experience and review of the literature. *Cancer* 2002; 96: 362-9.
71. Wilson JL, Kalade A, Prasad S, et al. Diagnosis of solid pancreatic masses by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration. *Int Med J* 2009; 39: 32-7.
72. Turner BG, Cizginer S, Agarwal D, et al. Diagnosis of pancreatic neoplasia with EUS and FNA: a report of accuracy. *Gastrointest Endosc* 2010; 71: 91-8.
73. Zhang S, Defrias DV, Alasadi R, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA): experience of an academic centre in the USA. *Cytopathology* 2010; 21: 35-43.
74. Yoshinaga S, Suzuki H, Oda I, et al. Role of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) for diagnosis of solid pancreatic masses. *Dig Endosc* 2011; 23(S1): 29- 33.
75. Fisher L, Segarajasingam DS, Stewart C, et al. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration of solid pancreatic lesions: performance and outcomes. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 90–6.
76. Vignesh S, Hoffe SE, Saif MW. EUS-Guided Pancreatic Diagnosis and Beyond JOP. *J Pancreas* 2011; 12: 86-91.
77. Iglesias-Garcia J, Dominguez-Munoz JE, Abdulkader I, et al. Influence of on-site cytopathology evaluation on the diagnostic accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) of solid pancreatic masses. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1705-10.

78. Puri R, Vilmann P, Săftoiu A, et al. Randomized controlled trial of endoscopic ultrasound-guided fine-needle sampling with or without suction for better cytological diagnosis. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 499-504.
79. Khalid A, Nodit L, Zahid M, et al. Endoscopic ultrasound fine needle aspirate DNA analysis to differentiate malignant and benign pancreatic masses. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 2493-500.
80. Howlader N, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2005. National Cancer Institute. 2010.
81. Kang MJ, Jang JY, Chang YR, Kwon W, Jung W, Kim SW. Revisiting the concept of lymph node metastases of pancreatic head cancer: number of metastatic lymph nodes and lymph node ratio according to N stage. *Ann Surg Oncol*. 2014 May;21(5):1545-51.
82. Zhan HX, Xu JW, Wang L, Zhang GY, Hu SY. Lymph node ratio is an independent prognostic factor for patients after resection of pancreatic cancer. *World J Surg Oncol*. 2015 Dec;13(1):510.
83. Wey JS, Fan F, Gray MJ, Bauer TW et al. Vascular endothelial growth factor receptor-1 promotes migration and invasion in pancreatic carcinoma cell lines. *Cancer*. 2005 Jul 15;104(2):427-38.
84. Yang AD, Camp ER, Fan F, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-1 activation mediates epithelial to mesenchymal transition in human pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res*. 2006 Jan 1;66(1):46-51.
85. Doi Y, Yashiro M, Yamada N, Amano R, Ohira G, Komoto M, Noda S, Kashiwagi S, Kato Y, Fuyuhiko Y, Hirakawa K. Significance of phospho-vascular endothelial growth factor receptor-2 expression in pancreatic cancer. *Cancer Sci*. 2010 Jun;101(6):1529-35.
86. **Cazacu SM, Costache MI, Popescu CF, Saftoiu A. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration for the Diagnosis and Staging of Pancreatic Masses. *Video Journal and Encyclopedia of GI Endoscopy*. 2012 Oct 24;560-562.**
87. Saftoiu A, Vilmann P, Bhutani MS. Endoscopic Ultrasound- Guided Confocal Laser Endomicroscopy: Using the Optical Needle into the Acoustic Haystack. *Euro J Ultrasound* 2012; 33: 607-10.