

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ



***Rolul intervențiilor ghidate ecoendoscopic în
screeningul, diagnosticul și tratamentul pacienților cu
cancer pancreatic***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

PROF. UNIV. DR. ADRIAN SĂFTOIU

STUDENT-DOCTORAND:

IRINA MIHAELA CAZACU

CRAIOVA 2019

Cuprins

INTRODUCERE	3
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	3
CONTRIBUȚII PERSONALE	4
Studiul 1. Impactul EUS asupra calității vieții pacienților cu risc crescut de a dezvolta cancer pancreatic.....	4
Studiul 2. Meta-analiză a markerilor moleculari efectuați pe materialul obținut prin EUS-FNA pentru a facilita diagnosticul adenocarcinomului pancreatic ductal	5
Studiul 3. Analiza moleculară a probelor obținute prin EUS-FNA. Implicații pentru diagnosticul cancerului pancreatic	7
Studiul 4. Markerii fiduciali plasați sub ghidaj ecoendoscopic pentru administrarea radioterapiei în neoplaziile gastrointestinale	10
Studiul 5. Plasarea ecoendoscopică a markerilor fiduciali pentru a facilita administrarea radioterapiei stereotactice la pacienții cu adenocarcinom ductal pancreatic	11
CONCLUZII GENERALE ȘI ORIGINALITATEA TEZEI	12
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	14

Cuvinte-cheie: *adenocarcinom ductal pancreatic, ecoendoscopia, EUS, puncția fină aspirativă, screening, calitatea vieții, analiza moleculară, biomarkeri, radioterapie stereotactică, markeri fiduciali*

INTRODUCERE

Adenocarcinomul ductal pancreatic (PDAC) reprezintă una dintre principalele cauze ale mortalității prin cancer, cu o incidență în creștere în întreaga lume[1]. PDAC are un prognostic nefavorabil, cu o rată de supraviețuire la 5 ani mai mică de 10% și sunt necesare metode mai bune de depistare precoce și tratament pentru a îmbunătăți supraviețuirea și calitatea vieții pacienților noștri. Incidența cancerului pancreatic a crescut semnificativ în ultimii 50 de ani, iar această creștere poate fi atribuită în mare măsură îmbunătățirii metodelor de diagnostic și mai puțin modificărilor în conduita clinică. Diagnosticul cancerului pancreatic se bazează pe metode imagistice moderne, cum ar fi ecoendoscopia sau endoscopia ultrasonografică (EUS) și examenul CT multi-detector efectuat folosind un protocol pancreatic special. Fără aceste metode de diagnostic, multe cazuri de cancer pancreatic au fost sub-diagnosticate în trecut sau chiar în prezent în țările cu venituri mici.

Prezenta teză aduce în prim plan rolul ecoendoscopiei în strategiile de screening, diagnostic și tratament ale pacienților cu cancer pancreatic. De când au fost dezvoltate primele aplicații practice ale EUS în prima jumătate a anilor '80, tehnica a evoluat în concordanță cu tendința generală a endoscopiei, de la o simplă metodă de diagnostic la posibilitatea efectuării unor proceduri terapeutice complexe. Această teză de doctorat abordează următoarele aspecte: rolul EUS în screeningul cancerului pancreatic, cu accent pe impactul psihologic al efectuării EUS la persoanele cu risc crescut; analiza moleculară a materialului obținut prin puncție fină aspirativă ghidată ecoendoscopic (EUS-FNA) pentru a facilita diagnosticul cancerului pancreatic; fezabilitatea și profilul de siguranță al plasării sub ghidaj EUS a markerilor fiduciali pentru a ghida radioterapia stereotactică la pacienții cu cancer pancreatic.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Prima secțiune a tezei de doctorat, intitulată *Stadiul actual al cunoașterii*, cuprinde o sinteză a datelor recente din literatura de specialitate referitoare la cele trei aspecte pe baza cărora a fost dezvoltată cercetarea descrisă în această teză: screening, diagnosticul și tratamentul PDAC. Astfel, în primul capitol (*Cancerul pancreatic-generalitati*) sunt prezentate noțiuni generale cu privire la epidemiologia cancerului pancreatic, cu accent pe prognosticul nefavorabil al acestei neoplazii și necesitatea îmbunătățirii strategiilor de depistare precoce,

diagnostic și tratament. Capitolul al doilea (*Cancerul pancreatic – factori de risc și predispoziție genetică*) prezintă noi date despre factorii de risc ai cancerului pancreatic și predispoziția genetică, iar capitolul al treilea (*Ecoendoscopia*) are scopul de a introduce cititorul în sectorul ecoendoscopiei, prezentând evoluția remarcabilă a acestei investigații din ultimele trei decenii. În cel de-al patrulea capitol sunt descrise strategiile actuale de screening în cancerul pancreatic și rezultatele preliminare. Sunt prezentate de asemenea rezultatele recenziei sistematice a literaturii de specialitate pe care am efectuat-o pentru a investiga cunoștințele actuale cu privire la impactul psihologic al participării la programele de screening. Capitolul cinci prezintă aspecte referitoare la rolul EUS și al puncției fine aspirative în diagnosticul cancerului pancreatic, cu accent pe detaliile tehnice ale procedurii, provocările actuale ale diagnosticului dar și implicațiile analizei moleculare. Ultimul capitol (*EUS: de la o metodă de diagnostic la o procedură intervențională*) prezintă noile tehnici ghidate EUS care reprezintă o alternativă minim invazivă și sigură la abordările chirurgicale sau radiologice. Aceste tehnici dețin un potențial mare de a îmbunătăți calitatea vieții pacienților cu cancer pancreatic, permițând un control mai bun al durerii, oferind terapii antitumorale și markeri fiduciali pentru facilitarea administrării radioterapiei sau drenarea canalelor biliare obstruate.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Studiul 1. Impactul EUS asupra calității vieții pacienților cu risc crescut de a dezvolta cancer pancreatic

Prognosticul slab al cancerului pancreatic este atribuit profilului molecular agresiv, terapiilor ineficiente și stadiilor avansate în momentul diagnosticului. Astfel, detectarea leziunilor precursore sau a cancerului pancreatic într-un stadiu incipient reprezintă o abordare eficientă pentru îmbunătățirea supraviețuirii. În ultimii 20 de ani, au fost dezvoltate la nivel mondial programe de screening pentru cancerul pancreatic, iar studiile publicate recent au oferit date încurajatoare cu privire la beneficiile clinice[2]. Totuși, impactul screeningului prin EUS asupra supraviețuirii nu este încă pe deplin cunoscut. O altă abordare pentru a evalua beneficiile screeningului în cancerul pancreatic ar fi luarea în considerare a impactului asupra calității vieții persoanelor cu risc crescut [3].

Acest studiu și-a propus să evalueze impactul psihologic al EUS la pacienții cu risc crescut de dezvoltare a cancerului pancreatic și la pacienții cu leziuni chistice pancreatice. Impactul psihologic a fost evaluat prin determinarea calității vieții, folosind două chestionare validate: *Brief Profile of Mood States (POMS)* și *single-item Linear Analog Scale Assessment*

(LASA) *Quality-of-Life (QOL)*. Aceste chestionare au fost alese pe baza caracteristicilor lor psihometrice cunoscute și a utilității lor clinice în evaluarea stresului și a calității vieții. Pacienții au fost rugați să completeze chestionarele înainte și după efectuarea EUS. Au fost incluși în studiu 40 de pacienți: 17 pacienți au efectuat EUS pentru evaluarea unei leziuni pancreatice chistice cunoscute și 23 de pacienți au avut un risc ridicat de a dezvolta cancer pancreatic pe baza istoricului familial și / sau genetic și au efectuat EUS ca parte a unui program de screening.

Conform rezultatelor studiului actual, a existat o diferență semnificativă în scorul chestionarului LASA QOL (diferență medie 0,73, SD 1,76, $p < 0,01$) și POMS-11 (diferență medie -5.46, SD -6.72, $p < 0,01$) înainte și după procedura EUS. Pentru a evalua modificările semnificative din punct de vedere clinic ale scorurilor obținute, am utilizat metoda effect size (ES) care exprimă amploarea efectului în termenii abaterii de la standardul de distribuție (SD). ES a fost 0,50 pentru chestionarul LASA QOL și 0,70 pentru Brief-POMS ($p = 0,04$) în grupul de pacienți care au efectuat EUS ca parte a unui program de screening. Astfel, chiar dacă impactul screeningului EUS asupra supraviețuirii nu este încă cunoscut, există un beneficiu psihologic de care clinicienii trebuie să fie conștienți atunci când iau în considerare EUS pentru acești pacienți. Studiul nostru a constatat modificări semnificative din punct de vedere clinic ale scorurilor care evaluează calitatea vieții și în cazul pacienților cu formațiuni chistice pancreatice înainte și după EUS-FNA.

Acest studiu a arătat că EUS a avut un impact psihologic pozitiv la pacienții cu risc ridicat de a dezvolta cancer pancreatic, ceea ce a dus la o îmbunătățire a calitatii vieții. Aspectele psihologice, cum ar fi frica, anxietatea și scăderea calitatii vieții acestor pacienți nu sunt considerate și apreciate corespunzător. Deși impactul screeningului EUS asupra supraviețuirii nu este încă pe deplin cunoscut, studiul nostru a arătat că starea generală și calitatea vieții participanților s-au îmbunătățit după procedură.

Studiul 2. Meta-analiză a markerilor moleculari efectuați pe materialul obținut prin EUS-FNA pentru a facilita diagnosticul adenocarcinomului pancreatic ductal

În ciuda progresului extraordinar în tehnicile de imagistică, diagnosticul cancerului pancreatic rămâne o provocare clinică. Puncția fină aspirativă ghidată ecoendoscopic (EUS-FNA) s-a dezvoltat în ultimele 2 decenii și este actual cea mai sigură, cea mai puțin invazivă și cea mai precisă tehnică de biopsiere a tumorilor pancreatice. Cu toate acestea, rata cazurilor fals-negative și neconcludente rămâne în continuare mare în rândul mai multor instituții. Într-

un astfel de scenariu, efectuarea unor markeri moleculari pe materialul obținut prin EUS-FNA pentru a facilita diagnosticul de PDAC ar fi extrem de utilă, cu impact clinic imediat. Mai mulți markeri genetici au fost cercetați pentru a sprijini diagnosticul PDAC în probe citologice, dar niciunul nu a intrat în practica medicală. Au fost efectuate numeroase studii pentru a determina utilitatea de diagnostic a acestor biomarkeri, dar rezultatele sunt diferite.

Scopul studiului curent a fost de a efectua o meta-analiză pentru a cuantifica acuratețea diagnostică a diferiților markeri moleculari efectuați pe probele de țesut obținute prin EUS-FNA. Protocolul studiului a fost elaborat conform ghidurilor PRISMA-P [4]. Pe baza datelor disponibile, studiul s-a axat pe următorii markeri moleculari care pot fi realizați pe probe EUS-FNA: *KRAS*, *p53*, *CDKN2A/p16* și *SMAD4*. Am calculat sensibilitatea și specificitatea, rata de probabilitate pozitivă și negativă (PLR, NLR) și rata de diagnostic corect (DOR) pentru fiecare biomarker, împreună cu intervalele de încredere (CI) respective (95%), folosind un model de meta-analiză bivariat.

În ceea ce privește rolul testării *KRAS* pe probele citologice pentru diagnosticul PDAC, au fost incluse în meta-analiză un total de 18 articole, cuprinzând 1753 de pacienți (de la 21 la 394 de pacienți pe studiu). Sensibilitatea și specificitatea testării *KRAS* pentru PDAC au fost de 76% (95% CI 69-82%) și, respectiv, 98% (95% CI, 94-99%), iar AUC a fost de 0,95 (CI 95%, 0,92–0,96). Când examenul citologic a fost combinat cu testarea *KRAS*, acuratețea diagnosticului a fost îmbunătățită în mod semnificativ, cu o sensibilitate de 89% (95% CI, 83-93%), specificitate 96% (95% CI, 92-98%).

În ceea ce privește potențialul diagnostic al markerului *p53*, 10 articole au îndeplinit criteriile de includere; 598 pacienți au fost incluși în meta-analiză, variind între 15 și 101 pacienți pe studiu. Sensibilitatea și specificitatea *p53* pentru detectarea PDAC au fost de 46% (95% CI: 33-59%) și, respectiv, 95% (95% CI, 90-97%), iar AUC a fost de 0,94 (95% CI, 0,92-0,95). Valoarea de diagnostic a examenului citologic în combinație cu analiza *p53* în detectarea PDAC a fost raportată în 8 studii, cu o sensibilitate de 78% (95% CI, 65-87%) și specificitate 94% (95% CI, 82-98%).

Conform datelor obținute, genele *CDKN2A* și *SMAD4* au fost, de asemenea, evaluate ca markeri tumorali diagnostici pentru PDAC pe probele de EUS-FNA. Mutațiile *CDKN2A/p16* determinate pe materialul EUS-FNA au o sensibilitate și specificitate de 13% și, respectiv, 100%, pentru diagnosticul PDAC [5]. Pierderea alelică a genei *SMAD4* analizată pe probele EUS-FNA prin pierderea heterozigozității la 18q a avut o sensibilitate și o specificitate de 78% și 57% [6].

Meta-analiza curentă a arătat că examenul citologic combinat cu analiza moleculară poate crește puterea de diagnostic a EUS-FNA în cancerul pancreatic. Conform acestor rezultate, utilizarea biomarkerilor singuri nu este suficientă pentru diagnosticul PDAC. Cu toate acestea, acești biomarkeri ar putea fi utilizați ca test suplimentar la unii pacienți pentru a facilita diagnosticul de malignitate.

Studiul 3. Analiza moleculară a probelor obținute prin EUS-FNA. Implicații pentru diagnosticul cancerului pancreatic

Puncția fină aspirativă ghidată ecoendoscopic (EUS-FNA) este recomandată ca procedură de primă linie atunci când este necesar un diagnostic cito/histopatologic la pacienții cu suspiciune de cancer pancreatic[7]. Analiza moleculară a probelor obținute prin EUS-FNA pentru a facilita diagnosticul cancerului de pancreas poate fi extrem de utilă. Cunoașterea alterărilor moleculare ale cancerului pancreatic este de așteptat să devină o componentă critică a îngrijirii clinice, deoarece aceste modificări vor forma baza strategiilor de screening, dar și a abordărilor terapeutice țintite.

Peste 90% din cazurile de PDAC conțin o mutație „hotspot” în *KRAS*, iar reacția de polimerizare în lanț digitală (ddPCR) poate servi drept un prim test de screening ideal pentru a documenta prezența clonelor celulare mutante. În același timp, ddPCR este restricționată la unul sau câteva „hotspoturi”. Astfel, poate fi benefică extinderea panoului de mutații care pot fi detectate pe probele de citologie, atât din punct de vedere diagnostic, cât și al identificării mutațiilor potențial acționabile. În consecință, posibilitatea de a detecta simultan mai mulți biomarkeri ar fi de o importanță crucială pentru diagnosticul molecular al PDAC. Tehnologia de barcoding de la NanoString permite acum detectarea unor mici modificări ale secvenței genomice, precum SNV și InDels.

Studiul curent și-a propus să evalueze și, pentru prima dată, să efectueze o comparație a performanțelor de diagnostic ale testului multiplex ddPCR cu testul multi-panel SNV prin tehnologia NanoString, efectuate pe probe citologice obținute prin EUS-FNA de la nivelul leziunilor pancreatice solide.

Au fost incluși în studiu 31 de pacienți la care s-a efectuat EUS-FNA pentru evaluarea unei leziuni pancreatice solide. După examenul citologic, 14 (45%) probe FNA au fost clasificate ca fiind pozitive pentru malignitate, iar diagnosticul final a fost PDAC pentru toate cazurile. Șase probe (19%) au fost clasificate ca fiind negative pentru malignitate și 11 (35%) au fost considerate neconcludente.

Parametrii diagnostici ai examenului citologic pentru pacienții cu leziuni pancreatice incluși în studiu au fost următorii: sensibilitate 63,6% (CI 95%: 40,8-81,9%) și specificitate 100% (CI 95%: 62,6-100%). Acuratețea diagnostică, valoarea predictivă pozitivă (PPV) și valoarea predictivă negativă (NPV) au fost de 74,2% (CI 95%: 55,4-88,1%), 100% (CI 95%: 73-100%), respectiv 52,9% (95% CI: 28,5-76,1%).

Analiza mutației *KRAS* folosind ddPCR

Mutațiile *KRAS* au fost găsite în 79% (11/14) dintre probele diagnosticate ca fiind pozitive pentru malignitate, în 71,4% (5/7) din cazurile suspecte pentru malignitate, în 25% (1/4) din rezultatele atipice și în 16% (1/6) din cazuri considerate negative pentru malignitate. Considerând diagnosticul final, o mutație *KRAS* a fost detectată în 77% (17/22) din cazurile de PDAC și în 14% (1/7) cazuri de pancreatită cronică, în timp ce nu a fost observată nicio mutație în cazurile pNET.

A fost analizată în continuare capacitatea de diagnostic a testării *KRAS* în combinație cu examinarea citologică a probelor EUS-FNA. În cazurile în care examenul citologic a fost suficient pentru stabilirea diagnosticului final (rezultat pozitiv fara echivoc pentru malignitate), nu am luat în considerare rezultatele analizei mutației *KRAS* pentru a stabili diagnosticul final. Utilizând această strategie, parametrii de diagnostic au fost următorii: sensibilitate 90,48% (95% CI: 69,6-98,8%), specificitate 87,5% (CI 95%: 47,3-99,6%), PPV 95% (CI 95%: 75,1-99,1%), PNV 77,7% (CI 95%: 47,7-93%), acuratețe diagnostică 89,6% (CI 95%: 72,6-97,8%).

Identificarea digitală a SNV prin tehnologia Nanostring

Statusul mutațional a fost evaluat folosind și panel-ul de biomarkeri pentru tumori solide NanoString Vantage 3D™ ADN SNV, într-o cohortă de 28 de probe EUS-FNA, incluzând 19 cazuri de PDAC, 5 cazuri de pancreatită cronică și 4 probe obținute din parenchim pancreatic normal. Pentru analiză au fost selectate numai probe citologice cu ADN de bună calitate.

Conform diagnosticului final, testul SNV a detectat cel puțin o variantă în 90% (17/19) din cazurile de PDAC și în 20% (1/5) din cazurile de pancreatită cronică. Printre cele 19 cazuri de PDAC, mutații *KRAS* au fost detectate în 17 (90%) cazuri: 7 (41%) *G12V*, 6 (35%) *G12D*, 2 (12%) *G12R*, 1 (6%) *Q61H* și 1 (6%) mutație *Q61L*. Într-un caz de PDAC au fost identificate trei SNV-uri (*EGFR*, *E746_A750delELREA*; *KRAS*, *G12D*; *PIK3CA*). Toate mutațiile *KRAS* *G12 / G13* au fost, de asemenea, detectate de ddPCR.

Testul SNV a detectat cel puțin o variantă în toate probele de FNA interpretate ca suspecte sau atipice cu diagnostic final de PDAC; nicio variantă nu a fost detectată la probele atipice cu un diagnostic final de pancreatită cronică.

S-a calculat în continuare performanța de diagnostic a examenului citologic combinat cu rezultatele testului SNV (luate în considerare numai pentru probele negative și neconcludente). Sensibilitatea a fost de 94,7% (CI 95%: 73,9-99,8%), specificitate 88,9% (CI 95%: 51,7-99,7%) și acuratețea generală a fost 92,8% (95% CI: 76,5- 99,1%)

Corelații între statusul KRAS și supraviețuirea în subgrupul de pacienți cu cancer pancreatic

Am efectuat ulterior o analiză a supraviețuirii în funcție de prezența sau absența mutației *KRAS*. Pacienții care au prezentat o mutație *KRAS* au avut o supraviețuire medie de 188 zile (interval, 27-403 zile). Pacienții fără mutație *KRAS* au avut o supraviețuire medie de 304 zile (interval, 83-782 zile) S-a observat astfel o tendință către o supraviețuire mai lungă în grupul de pacienți *KRAS* wild type ($P = 0,004$). Toți pacienții au primit chimioterapie pe bază de gemcitabină ca primă linie de tratament. Nu a fost observată nicio diferență semnificativă în ceea ce privește răspunsul la terapie în grupul de pacienți cu mutație *KRAS* prezentă comparativ cu grupul de pacienți cu tumori wild type.

EUS-FNA a îmbunătățit mult diagnosticul preoperator al cancerului pancreatic. Cu toate acestea, într-un subset de cazuri, diagnosticul rămâne neconcludent, în principal din cauza calității suboptimale a probelor sau a celularității limitate. Studiul actual a ilustrat că, integrarea analizei markerilor genetici în evaluarea citologică a probelor obținute prin EUS-FNA, în special în cazurile neconcludente, poate crește acuratețea diagnostică a leziunilor pancreatice, prevenind astfel biopsiile repetate, rezecțiile inutile pentru boala benignă sau întârzierea tratamentului pacienților cu PDAC

Mai mult, sunt necesare eforturi pentru a obține un profil molecular la diagnostic cât mai complet pentru fiecare pacient, pentru a exploata toate oportunitățile terapeutice potențiale din această boală letală. Clinicienii trebuie să țină cont de faptul că biopsiile tumorale reprezintă nu numai standardul pentru diagnosticarea cancerului, ci și metoda principală pentru testarea moleculară, pentru a ghida selecția terapiilor personalizate. Panelul de gene pe care l-am folosit în acest studiu include câteva mutații acționabile care ar putea duce la un tratament care nu este în prezent un standard de chimioterapie pentru îngrijirea cancerului pancreatic (BRAC1/2-saruri de platina, inhibitor PARP; PIK3CA-PICK3CA inhibitor; STK11- Inhibitor mTOR etc.).

Studiul 4. Markeri fiduciali plasați sub ghidaj ecoendoscopic pentru administrarea radioterapiei în neoplaziile gastrointestinale

Administrarea în siguranță a unor doze mai mari de radioterapie pentru neoplaziile gastrointestinale necesită o evaluare exactă a dimensiunii și localizării tumorii în timpul respirației. Radioterapia ghidată imagistic (IGRT) folosește metode avansate de imagistică pentru a verifica localizarea leziunii țintă înainte și, uneori, în timpul radioterapiei pentru a reduce toxicitatea la nivelul țesuturilor înconjurătoare. IGRT folosește markeri fiduciali (MF) pentru a urmări tumora în timp real pentru a asigura că radiatiile sunt livrate leziunii țintă cu o precizie ridicată. MF sunt markeri radiopaci (sfere, spirale sau semințe), de obicei din aur, care sunt inserați în leziune pentru a facilita administrarea precisă a radioterapiei. Deși plasarea MF ghidată de EUS în tumorile maligne gastrointestinale a fost raportată în câteva studii, profilul de siguranță și fezabilitatea acestei abordări nu au fost studiate sistematic în studii mari, randomizate.

Scopul studiului actual a fost de a efectua o meta-analiză a studiilor care evaluează profilul de siguranță, eficacitatea și aspectele tehnice ale plasării ecoendoscopice a MF pentru IGRT în neoplaziile gastrointestinale. Studiul de față a fost realizat urmând ghidurile MOOSE (Meta-analize ale observației studiilor în Epidemiologie) [8]. Un model de random effects a fost utilizat pentru a determina ratele de succes tehnic, migrație și complicații.

Studiile de cohortă incluse în meta-analiză au fost efectuate în perioada 2009 - 2017 și au inclus 1155 de pacienți cu afecțiuni maligne gastrointestinale confirmate care au efectuat EUS pentru plasare de MF. Paisprezece studii cuprinzând 1035 de pacienți au oferit informații despre succesul tehnic al plasării ecoendoscopice a MF. Rata totală de succes tehnic a fost de 98% (95% CI 96-99). Cinci studii cuprinzând 680 de pacienți au oferit date despre migrarea MF. Meta-analiza a evidențiat o rată de migrare a MF de 3% (95% CI 1,0-8,0). Paisprezece studii au oferit informații despre complicațiile imediate și întârziate legate de plasarea MF. Evenimentele adverse raportate au inclus pancreatită acută ușoară, mediastinită, pneumotorax, sângerare minoră, febră, vărsături, dureri abdominale, dureri rectale, hipotensiune arterială și enzime hepatice crescute. Rata totală a evenimentelor adverse post-procedură a fost de 4% (95% CI 3-7%)

Acest studiu reprezintă prima meta-analiză din literatură care evaluează succesul și siguranța tehnică a plasării MF sub ghidaj EUS pentru administrarea radioterapiei în neoplaziile gastrointestinale[9]. Conform acestei meta-analize, procedura este fezabilă din punct de vedere tehnic, cu o rată de succes de 98%. Eșecurile plasării MF au fost legate de considerente

anatomice sau de limitările echipamentelor. Deplasarea MF poate avea loc după plasarea EUS, iar acest lucru poate fi cauzat de reducerea inflamației post procedurale, sau din cauza reducerii dimensionale a tumorii obținute prin tratament. Meta-analiza curentă a evidențiat o rată de complicații de 4%, ceea ce indică faptul că plasarea MF ghidată de EUS este o procedură sigură. În niciunul dintre studiile incluse nu s-au raportat evenimente adverse majore, care ar pune viața în pericol, dar trebuie să se acorde atenție atunci când se efectuează această procedură pentru a evita vasele interpusse și pentru a asigura plasarea în țesutul țintă corespunzător

Meta-analiza prezentă a arătat că inserția ghidată de EUS a MF pentru IGRT este sigură și fezabilă cu rate de succes tehnice ridicate. Aceasta tehnica ar trebui inclusă în studii controlate, randomizate, care evaluează eficacitatea radioterapiei cu sau fără chimioterapie pentru tratamentul neoplaziilor gastrointestinale.

Studiul 5. Plasarea ecoendoscopică a markerilor fiduciali pentru a facilita administrarea radioterapiei stereotactice la pacienții cu adenocarcinom ductal pancreatic

Radioterapia stereotactică (SBRT) reprezintă o opțiune terapeutică promițătoare pentru pacienții cu PDAC. SBRT permite administrarea unei doze mari de radiații la un volum țintă limitat și poate fi încheiată în câteva zile, în contrast cu patru sau mai multe săptămâni necesare completării radioterapiei convenționale. Diverse studii au demonstrat rezultate încurajatoare pentru SBRT la pacienții cu cancer pancreatic, cu rate promițătoare de control local [10]. Administrarea SBRT necesită plasarea markerilor fiduciali care sunt inserați în tumorile pancreatice pentru o mai bună localizare a leziunii țintă în timp real. Scopul acestui studiu a fost de a raporta fezabilitatea și profilul de siguranță al plasării MF sub ghidaj EUS într-o cohortă de pacienți cu cancer pancreatic. De asemenea, am evaluat beneficiile și rezultatele SBRT la acest grup de pacienți.

Lotul de studiu a fost format din pacienți cu PDAC borderline rezecabil și avansat local (nerezecabil) la care au fost plasați MF ecoendoscopic pentru SBRT. O echipă multidisciplinară formată din oncologi, chirurgici, gastroenterologi și radioterapeuți cu experiență a stabilit alegerea SBRT ca opțiune terapeutică la pacienții incluși în studiu și necesitatea plasării MF. Toate procedurile au fost efectuate de către un singur gastroenterolog la un centru oncologic terțiar, MD Anderson Cancer Center, între 2017 și 2019.

Au fost incluși în studiu 67 de pacienți cu cancer pancreatic care au primit 174 de markeri fiduciali sub ghidaj EUS. Rata de succes a plasării MF a fost de 97%. Dificultăți tehnice

cauzate de vasele de sânge interpuse au fost observate la 2 (3%) pacienți. Evaluarea EUS a arătat invazia duodenală într-un caz, iar plasarea MF a fost anulată. Toți pacienții au primit antibiotice profilac și nu au fost raportate evenimente adverse imediate sau întârziate.

Timpul mediu până la efectuarea examenului CT de simulare după plasarea MF a fost de 4,6 zile (interval, 1-53 zile). 64 (96%) pacienți au primit SBRT după plasarea MF. Din totalul de 174 de MF plasati, 165 (95%) au fost clar vizibili atât în timpul simulării CT, cât și la examenul CT din ultima zi a administrării SBRT. 9 (5%) MF nu au fost utili pentru administrarea SBRT, cel mai probabil din cauza migrației sau a vizibilității slabe. Nu a fost raportată nicio toxicitate majoră legată de SBRT. Cele mai frecvente efecte adverse raportate (gradul 1 sau 2 conform CTCAE 4.4) au fost greața, durerea abdominală, oboseala, diareea și constipația.

Plasarea MF prin EUS este sigură și fezabilă, cu o rată de succes de 97% conform rezultatelor studiului prezentat. Mai mult, 97% dintre pacienți au finalizat cu succes SBRT. Deși poate avea loc migrația spontană, rata migrației MF este relativ scăzută (5%) și nu au apărut complicații legate de migrație. O cauză frecventă a dificultăților plasării MF pare a fi vasele de sânge interpuse. În comparație cu abordările percutanate și intraoperatorii, plasarea ghidată de EUS este mai puțin invazivă și oferă o cale de acces mai ușoară către structurile anatomice profunde din mediastin, abdomen, pelvis și retroperitoneu. Un avantaj al plasării ecoendoscopice a acestor markeri este capacitatea de a efectua proceduri simultane, cum ar fi FNA pentru diagnostic, CPN pentru ameliorarea durerii și ERCP pentru decompresia biliară paliativă. Inserția MF reprezintă o altă aplicație pentru EUS și poate extinde și indicațiile SBRT prin accesarea structurilor anatomice care nu ar putea fi altfel accesibile

CONCLUZII GENERALE ȘI ORIGINALITATEA TEZEI

Prin îndeplinirea obiectivelor stabilite, studiile incluse în teza de doctorat au oferit perspective noi în ceea ce privește rolul ecoendoscopiei în managementul pacienților cu cancer pancreatic. Parcursul științific, teoretic și practic, din cercetarea de față aduce o serie de elemente de originalitate:

Studiul 1 a demonstrat ca, deși impactul screeningului prin EUS asupra supraviețuirii la pacienții cu risc crescut de cancer pancreatic nu este încă pe deplin cunoscut, starea generală și calitatea vieții participanților s-au îmbunătățit semnificativ după procedură. Studiul efectuat a fost primul din literatura care a evaluat și beneficiul psihologic al EUS-FNA la pacienții cu

leziuni pancreatice chistice. Aceste leziuni pot genera anxietate pacienților din cauza riscului de transformare malignă, cancerul pancreatic fiind perceput ca o afecțiune letală în populația generală.

Studiul 2 reprezintă prima meta-analiza din literatura de specialitate care cuantifică acuratețea diagnostică a mai multor markeri moleculari efectuați pe probele de țesut obținute prin EUS-FNA pentru a facilita diagnosticul cancerului pancreatic. Meta-analiza a arătat că examenul citologic combinat cu analiza moleculară poate crește puterea de diagnostic a EUS-FNA. Conform acestor rezultate, utilizarea biomarkerilor singuri nu este suficientă pentru diagnosticul PDAC. Cu toate acestea, acești biomarkeri ar putea fi utilizați ca test suplimentar la unii pacienți pentru a facilita diagnosticul de malignitate.

Studiul 3 este primul din literatura care a efectuat o comparație a performanțelor de diagnostic ale testului multiplex ddPCR cu testul multi-panel SNV prin tehnologia NanoString, efectuate pe probe citologice obținute prin EUS-FNA de la nivelul leziunilor pancreatice solide. Testul ddPCR poate fi implementat cu ușurință în evaluarea de rutină a probelor EUS-FNA pancreatice pentru a oferi rapid informații despre starea mutațională a *KRAS* care poate completa evaluarea citologică. Datele obținute sugerează că testarea mutațiilor *KRAS* ar putea suplimenta examenul citologic prin îmbunătățirea ratei pozitive în cazuri neconcludente.

PDAC este o boală heterogenă din punct de vedere molecular și utilizarea unor panouri de mutații genetice poate crește și mai mult sensibilitatea și specificitatea clinică, reducând la minimum riscul de rezultate fals-pozitive. Având în vedere necesarul redus de ADN, prelucrarea digitală a datelor și timpul rapid de primire a rezultatelor, această tehnologie nouă NanoString poate fi instrumentală pentru diagnosticul molecular preoperator al leziunilor pancreatice.

Studiul 4 reprezintă prima meta-analiză din literatura care evaluează succesul și siguranța plasării MF sub ghidaj EUS pentru administrarea radioterapiei în neoplaziile gastrointestinale. Meta-analiza a arătat că inserția ghidată de EUS a MF pentru IGRT este sigură și fezabilă cu rate de succes ridicate. Aceasta tehnică ar trebui inclusă în studii controlate, randomizate, care evaluează eficacitatea radioterapiei cu sau fără chimioterapie pentru tratamentul neoplaziilor gastrointestinale

Studiu 5 a evaluat siguranței și fezabilității plasării MF ghidate de EUS într-o cohortă mare de pacienți cu cancer pancreatic borderline rezecabil și avansat local nerezecabil. Mai mult, am evaluat și rata de succes a administrării SBRT după livrarea MF. Rezultatele studiului

au demonstrat că plasarea MF ghidată de EUS este sigură și eficientă în delimitarea volumului țintă, facilitând administrarea SBRT la pacienții cu cancer pancreatic.

Originalitatea tezei este dată și de caracterul multidisciplinar al cercetărilor, care îi conferă un plus de consistență.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, Rosenzweig AB, Fleshman JM, Matrisian LM. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer research*. 2014;74(11):2913-21.
2. Canto MI, Almario JA, Schulick RD, Yeo CJ, Klein A, Blackford A, et al. Risk of neoplastic progression in individuals at high risk for pancreatic cancer undergoing long-term surveillance. *Gastroenterology*. 2018;155(3):740-51. e2.
3. Cazacu IM, Chavez AAL, Saftoiu A, Bhutani MS. Psychological impact of pancreatic cancer screening by EUS or magnetic resonance imaging in high-risk individuals: A systematic review. *Endoscopic ultrasound*. 2019;8(1):17.
4. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic reviews*. 2015;4(1):1.
5. Kato K, Kamada H, Fujimori T, Aritomo Y, Ono M, Masaki T. Molecular biologic approach to the diagnosis of pancreatic carcinoma using specimens obtained by EUS-guided fine needle aspiration. *Gastroenterology research and practice*. 2012;2012.
6. Salek C, Benesova L, Zavoral M, Nosek V, Kasperova L, Ryska M, et al. Evaluation of clinical relevance of examining K-ras, p16 and p53 mutations along with allelic losses at 9p and 18q in EUS-guided fine needle aspiration samples of patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2007;13(27):3714.
7. Tempero MA. NCCN Guidelines Updates: Pancreatic Cancer. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2019;17(5.5):603-5.
8. Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, Olkin I, Williamson GD, Rennie D, et al. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: a proposal for reporting. Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology (MOOSE) group. *JAMA*. 2000;283(15):2008-12.
9. Coronel E, Cazacu IM, Sakuraba A, Luzuriaga Chavez AA, Uberoi A, Geng Y, et al. EUS-guided fiducial placement for GI malignancies: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointestinal endoscopy*. 2018.
10. Herman JM, Chang DT, Goodman KA, Dholakia AS, Raman SP, Hacker-Prietz A, et al. Phase 2 multi-institutional trial evaluating gemcitabine and stereotactic body radiotherapy for patients with locally advanced unresectable pancreatic adenocarcinoma. *Cancer*. 2015;121(7):1128-37.