

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ

TEZĂ DE DOCTORAT

Rezumat

**Tehnici Ultrasonografice și Endoscopice Minim Invazive în
Tratamentul Paleativ al Cancerului De Pancreas**

Conducător de Doctorat

Prof. Univ. Dr. Săftoiu Adrian

Student-Doctorand:

Ungureanu Bogdan Silviu

Craiova

2015

Cuprins Selectiv al Tezei de Doctorat

I . Partea Generală (Stadiul Cunoașterii)

- 1. Epidemiologia cancerului de pancreas**
- 2. Adenocarcinomul pancreatic – opțiuni terapeutice**
- 3. Evaluarea afecțiunilor pancreatice prin Ecoendoscopie (EUS)**
- 4. Nanotehnologia și Cancerul**
- 5. Ablația prin Radiofrecvență**
- 6. Terapia Paliativă în Cancerul de Pancreas**

II. Partea Specială (Contribuția Personală)

- 1. Planul tezei de doctorat**
- 2. Studiul I - Ablația cu Radiofrecvență pe Pancreas pe model experimental porcin**
- 3. Studiul II - Injectarea sub ghidaj Ecoendoscopic a Nanoparticulelor Magnetice – o nouă metodă de abordare a adenocarcinomului pancreatic în stadiu avansat și a determinărilor secundare hepatice pe model experimental porcin**
- 4. Studiul III - Gastrojejunoanastomoză sub ghidaj ecoendoscopic ca tratament paliativ pentru obstrucția gastrică malignă cauzată de adenocarcinomul de pancreas pe model experimental porcin**
- 5. Concluzii Generale**
- 6. Bibliografie Selectivă**

Cuvinte Cheie:

adenocarcinom pancreatic, ecoendoscopie, model experimental porcin, ablație cu radiofrecvență, nanoparticule magnetice, injectare ecoendoscopică, gastrojejunoanastomoză ecoendoscopică

PARTEA GENERALĂ

(Stadiul Cunoaşterii)

1. Epidemiologia Cancerului de Pancreas

Tratamentul cancerului pancreatic reprezintă un obiectiv major în cercetarea clinică, acesta reprezentând a patra cauză de mortalitate în rândurile pacienţilor cu cancer, şi determină aproximativ 6% din decesele cauzate de cancer. Prognosticul este extrem de rezervat, cu o rată de supravieţuire de 25% şi 6% după 1 an şi, respectiv, 5 ani. Intervenţia chirurgicală rămâne opţiunea principală în tratamentul cancerului pancreatic, deşi nu este posibilă în toate cazurile, din cauza faptului că la momentul diagnosticului iniţial, există metastaze la distanţă în aproximativ 50% dintre pacienţi.

2. Adenocarcinomul Pancreatic – opţiuni terapeutice

Rezecţia chirurgicală reprezintă tratamentul de elecţie la pacienţii cu tumori suspecte. Numai 5-20% dintre pacienţii cu CPE prezintă tumori rezecabile la momentul diagnosticului. Procentul de rezecabilitate cu intenţie curativă creşte la 33%, în cazul intervenţiilor mai agresive sau a evaluării preoperatorii atente a rezecabilităţii [8].

Procedurile cu viză curativă sunt:

- rezecţia duodeno-pancreatică
- pancreatectomia cu conservarea pilorului
- procedura Whipple extinsă
- pancreatectomia regională.

Tumorile rezecabile

- Chimio-radioterapia preoperatorie
- Chimio-radioterapia postoperatorie
- Tumorile local avansate, dar potenţial curabile
- Tumorile local avansate nerezecabile şi boala metastatică

3. Evaluarea afecţiunilor pancreatice prin Ecoendoscopie (EUS)

Eficacitatea evaluării pancreasului şi cailor biliare, prin ecografie transabdominală, este mult scăzută faţă de cea oferită de utilizarea ecoendoscopiei. Distanţa care separă transductorul de structurile ţintă este redusă la câţiva milimetri, iar rezultatele nu sunt alterate de către grăsimea peridigestivă sau de către aer. În cazul afecţiunilor pancreasului, în mod particular tumorile pancreatice (solide sau chistice), nu există îndoială în ceea ce priveşte rivalitatea puternică dintre

ecoendoscopia conventionala si tomografia computerizata (CT) sau colangiopancreatografia prin rezonanta magnetica (CPRM). Totusi, aparitia EUS cu punctie fin aspirativa (EUS-FNA) spre sfarsitul anilor 1990, si dezvoltarea EUS terapeutice in anii 2000, au facut din nou din ecoendoscopie un instrument cheie in diagnosticul si managementul terapeutic al afectiunilor pancreatice.

4. Nanotehnologia și Cancerul

Totalitatea progreselor aparute in domeniul nanotehnologiei a permis aparitia unei game variate de posibilitati in numeroase alte domenii, de la stocarea de date pana la biomedicina. Datorită proprietăților atactice ale nanoparticulelor magnetice (MNPs), acestea au facut obiectul a numeroase studii de cercetare, facand posibila dezvoltarea continua a domeniului.

De departe, cele mai folosite dintre nanoparticulele magnetice sunt nanoparticulele de ferite numite si nanoparticule de oxid de fier, care prin proprietatile lor superparamagnetice, au oferit numeroase posibilitati in diagnosticare, in aplicarea unor metode terapeutice inovatoare, in transportul tintit al medicamentelor si al genelor. O mare parte din imensul lor potential, a fost orientata catre diagnosticul si tratamentul tumorilor.

In principiu, trei abordari diferite pot fi folosite in tratamentul tumorilor cu ajutorul nanoparticulelor magnetice: hipertermie indusa magnetic, transportul medicamentelor la locul tinta si supresia selectiva a cresterii tumorii.

5. Ablatia prin radiofrecvență

Scopul ablatiei prin radiofrecventa (RF) este de a produce o leziune termica la nivelul unui tesut prin intermediul energiei electromagnetice. Termenul de radiofrecventa se refera la curentul alternativ care oscileaza in intervalul de frecvente inalte (200-1200kHz). In cadrul ablatiei prin RF, pacientul face parte dintr-un circuit inchis care cuprinde un generator de radiofrecventa, un ac electrod, si un electrod pentru impamantare. Un camp electric alternant este creat in tesutul pacientului.

6. Terapia Paliativă în Cancerul Pancreatic

In mod obișnuit, cancerul de pancreas este diagnosticat dupa ce a progresat catre un stadiu avansat, fiind extins local sau prezentand metastaze la distante. Datorita agresivitatii biologice marcate a acestor tumori, rezultatele curative sau remisiunile pe termen lung, sunt foarte putin probabile. In cazul acestor pacienti, definirea strategiilor terapeutice presupune instituirea metodelor de tratament paliative, in scopul de a ameliora manifestarile neplacute si de a

imbunatatii calitatea vietii. Datorita numarului mare de pacienti care pot beneficia doar de tratament paliativ, acesta reprezinta o zona mare de interes pentru studierea mortalitatii, a morbiditatii si a ratelor de succes pentru fiecare metoda paliativa. Raportul dintre rezultatul posibil si mortalitatea procedurii, detine un rol important in stabilirea indicatiilor pentru instituirea unui tratament paliativ.

PLANUL TEZEI DE DOCTORAT

Studiile efectuate au avut ca scop dezvoltarea de noi metode terapeutice pentru tratamentul cancerului pancreatic și consecințele sale, fie invazia locală, metastazarea sau obstrucția duodenală. Noutatea propusă este că toate procedurile au fost efectuate sub ghidaj ecoendoscopic fiind studii de fezabilitate efectuate pe modele experimentale animale – porci.

Studiul I - *Ablația cu Radiofrecvență pe Pancreas pe model experimental porcine*

Obiectivul studiului. Evaluarea fezabilității și siguranței efectuării ARF ghidată ecoendoscopic la nivelul pancreasului, folosind modele experimentale porcine. Obiectivul secundar a fost evaluarea patologică (dimensiune, formă, locație, etc.) a zonei de ablație, bazată pe caracteristici standardizate ale procedurii de ARF.

Materiale și Metode. Procedura de RFA a fost efectuată pe 10 porci, folosind un generator de radiofrecvență iar abordul transduodenal a fost efectuat prin utilizarea unui ecoendoscop liniar cu un canal intervențional larg, cuplat cu un sistem Evis Exera și un sistem Aloka ProSound5500 US. Un cateter experimental de ARF cu o lungime de 200 cm a fost inserat printr-un ac fin de aspirație de 19G. Capul pancreasului a fost supus la patru proceduri de ablație consecutive, cu aproximativ 4-6 cm din vârful cateterului expus, la o putere de 5 W, 10 W, 15 W, respectiv 20 W, timp de 120 secunde fiecare. După procedură, trezirea din anestezie a fost obținută fie spontan, fie prin antagonizarea analgezicului, blocantului neuromuscular, și/sau benzodiazepinelor. Au fost recoltate probe biologice înaintea efectuării procedurii, cât și la 3, respectiv 5 zile. După o săptămână, animalele au fost eutanasiate, fiind efectuată necropsia.

Rezultate. Nu au existat modificări în comportamentul animalelor și nici nu au fost semnalate complicații majore. Pe parcursul intervenției, nu s-au întâmpinat dificultăți în identificarea pancreasului prin imagini-EUS, deși poziția acestuia este puțin diferită și anume pe peretele

posterior al stomacului comparativ cu poziția pancreasului uman. O leziune hiperecogenă, eliptică, a apărut în jurul sondei de ARF, cu un diametru mediu de 2,65 cm și IQR de 0.5 cm. Investigațiile de laborator au arătat valori crescute pentru amilaze, FA și GGT în a treia zi. Totuși, acestea au început să scadă în a cincea zi după procedură. Nu au existat variații ale transaminazelor și bilirubinei. La secționarea pancreasului, la nivelul capului, situat în imediata vecinătate a peretelui gastric, a fost evidențiată o leziune (2 x 3 cm), cu un halou periferic alb de 15 până la 20 mm, cu structură pseudochistică, cu lichid în interior.

Concluzii

EUS-ARF poate reprezenta o terapie cu potențial ridicat în tratamentul cancerului pancreatic, tehnica fiind fezabilă, aparent bine tolerată și fără complicații majore în timpul și post-procedură.

Studiul II - *Injectarea sub ghidaj Ecoendoscopic a Nanoparticulelor Magnetice – o nouă metodă de abordare a adenocarcinomului pancreatic în stadiu avansat și a determinărilor secundare hepatice pe model experimental porcin*

Obiectivul studiului. Injectarea de nanoparticule magnetice sub ghidaj ecoendoscopic prin diferite metode, ca potențial vector pentru terapia antiangiogenică în cancerul de pancreas și diseminările acestuia. Noutatea studiului a constituit injectarea sistemică prin vena portă sub ghidaj ecoendoscopic pe modele experimentale

Material și Metode Intreg studiul a fost efectuat folosind 8 porci, care au fost ținuți în condiții speciale. Porcii au fost împărțiți în patru grupuri: doi porci au fost injectați în vena periferică, doi au fost injectați în vena portă, iar 4 au fost supuși unei expuneri locale la IONs, atât la nivelul ficatului cât și la nivelul pancreasului, câte doi pentru fiecare.

Un ac ecoendoscopic de 19G (Boston Scientific, Cook Medical) a fost inserat, iar după retragerea stiletului, 2 ml de soluție au fost injectați direct în vena portă, direct în ficat, sau în pancreas. În cazul ficatului, soluția a fost injectată în lobul stâng, iar în cazul pancreasului, aceasta a fost injectată direct în capul pancreatic. Injectarea în vena portă a constat în punctia peretelui vascular și injectarea soluției în torentul sangvin. În ceea ce privește abordul periferic, cateterul plasat pe lobul urechii a fost punctul de distribuție.

Porcii au fost urmăriți pentru următoarele 7 zile, cu monitorizare atentă în ceea ce privește schimbările posibile în comportament, alimentație și temperatură. Animalele au fost eutanasiate cu o supradoză de pentobarbital și apoi a fost efectuată necropsia cu recoltarea ficatului,

pancreasului si a altor organe. Dupa efectuarea examinarii macroscopice, organele au fost depuse in formalina si apoi trimise in vederea scanarii prin IRM 3T (Philips Ingenia 3T, Netherlands), aparat dotat cu o bobina specifica.

Rezultate. Modificarile macroscopice au fost observate doar in urma injectarii locale si in urma injectarii vasculare. Injectarea in vena porta nu a determinat aparitia trombozei, desi au fost vizualizate depozite mari de nanoparticule pana la nivelul distal al ramurilor hepatice. In ceea ce priveste pancreasul, imaginile obținute prin IRM au fost relevante doar in urma procedurilor locale efectuate prin EUS-FNI.

Evaluarea patologica a fost efectuata prin coloratie cu albastru de Prusia care a evidentiat depozite de fier in interiorul organelor selectate. Injectia locala in ficat a aratat un volum crescut de nanoparticule in zona tinta si cateva depozite in cantitati mici la distanta de locul injectarii. Pe de alta parte, EUS-FNI in vena porta a evidentiat un volum mare de IONs in lobulii hepatici si, de asemenea, intre lobuli si in spatiul periportal.

In ambele cazuri, depozitele au fost incapsulate in macrofage, in celulele Ito, in hepatocite si in interiorul capilarelor sinusoidale. In urma injectarii periferice, s-au evidentiat depozite si in alte tesuturi cu caractere macrofag-like. Mici depozite au fost descoperite in pulpa alba si in pulpa rosie a splinei, in spatiul interstitial medular si in tubii colectorii la nivelul rinichiului, si chiar si la nivelul tesutului miocardic. Totusi, injectarea sistemica a aratat cantitati mai mici de nanoparticule depozitate in ficat, in comparatie cu cele determinate de injectarea locala sau prin vena porta, cu depozite considerabil mai mari in celelalte organe recoltate. EUS-FNI locala la nivelul pancreasului a aratat o zona mare de depozit a nanoparticulelor cu reactie inflamatorie localizata la aproximativ 2 cm distanta de locul injectarii. Tesuturile adiacente au fost caracterizate de prezenta unei inflamatii moderate a parenchimului pancreatic cu steatonecroza si atrofie.

Concluzii

Prezentul studiu s-a axat pe demonstrarea fezabilitatii distributiei nanoparticulelor magnetice prin utilizarea EUS-FNI in ficat si pancreas prin acces local sau vascular, si pe distributia acestora in organe.

Studiul III - *Gastrojejunoanastomoză sub ghidaj ecoendoscopic ca tratament paleativ pentru obstrucția gastrică malignă cauzată de adenocarcinomul de pancreas pe model experimental porcin*

Obiectivul studiului. Prin acest studiu ne-am propus crearea unei Gastrojejunoanastomoze sub ghidaj strict ecoendoscopic, ca potențială metodă de tratament paletiv pentru neoplasmul de pancreas și obstrucția duodenală ulterioară.

Materiale și Metode Procedura a presupus utilizarea a 6 porci cu o greutate cuprinsă între 25 și 30 de kg și o talie de 60 -70 cm de cm. Etapa I - Intervenția endoscopică a presupus menținerea animalelor în decubit ventral. După intubare și stabilizare, un gastroscop a fost avansat la o distanță de aproximativ 10-15 cm de duodenul II. Un balon de enteroscopie a fost introdus în continuare și cu ajutorul unui manometru a fost umflat și s-a încercat menținerea acestuia în poziția inițială. Gastroscopul a fost retras, balonul de enteroscopie fiind menținut pe loc. Etapa II - Următoarea etapă a constat în introducerea unui Ecoendoscop până la nivelul stomacului. Imaginea ecografică transmisă a permis identificarea cu ușurință a balonului de enteroscopie, acesta fiind vizualizat ca o formațiune rotundă hipoecogenă. Etapa III - În continuare, un sistem de complex ce presupune utilizarea unui stent metalic acoperit în întregime (Axios, Xlumena) format din nitinol cu diametrul de 15 mm și cu o dimensiune a cateterului de 10.8 Fr a fost introdus prin canalul de lucru al endoendoscopului. Urmărind imaginea ecoendoscopică a balonului de enteroscopie, vârful cateterului ce conține stentul a fost trecut peretele gastric în imediata vecinătate a acestuia. Stentul a fost încărcat și eliberat cu succes în regiunea stabilită. Etapa IV - Primul model experimental a fost eutanasiat imediat după procedură, iar ceilalți au fost supravegheați pentru o săptămână, necropsia fiind efectuată cu vizualizarea poziției stentului și trimiterea piesei către anatomie patologică. Ecoendoscopul a fost retras, iar poziția stentului a fost verificată imediat prin control gastroscopic. S-a urmărit plasarea stentului, anastomoza cu ansa intestinală și nu în ultimul rând eventualele complicații imediate. Etapa V - Ulterior, modelelor experimentale le-a fost administrată medicația necesară trezirii din anestezie și au fost transportate spre a fi menținute în condiții speciale.

Rezultate

Procedurile au fost efectuate în condiții speciale, fără complicații în momentul desfășurării sau la distanță. Poziția balonului a fost vizualizată prin ecoendoscopie, în toate cazurile fiind urmărit pe partea posterioară a stomacului. Utilizarea stentului în sine nu a impus vreo problemă, astfel că în toate cele 6 cazuri acesta a fost plasat cu succes între peretele gastric și ansa jejunală în imediata vecinătate a balonului. Acest lucru a fost confirmat de imaginile ulterioare după inserția gastroscopului. Procedurile au avut un timp mediu de 47 de minute, în acest interval fiind incluse

atât procedurile de anestezie cât și cele endoscopice. Un animal a fost eutanasiat imediat după procedură pentru confirmarea imediată a plasării stentului. Celelalte animale au fost urmărite timp de 7 zile, fără a fi înregistrate semne de complicații, modificări în alimentație, sau modificări comportamentale. Necropsia a permis identificare stentului pe fața posterioară a stomacului, fiind conectat de ansa jejunală aflată în imediata continuare a duodenului.

Concluzii

Ca și concept în tratamentul paleativ al obstrucției gastrice maligne, gastrojejunoanastomoza ghidată ecoendoscopic poate reprezenta o opțiune demnă de mai multă atenție pe viitor. Această tehnică poate aduce mai multe avantaje față de tratamentele paleative deja existente, care au și o rată de complicație mare.

Concluzii Generale

- Adenocarcinomul de pancreas este diagnosticat de cele mai multe ori după ce a progresat către un stadiu avansat, fiind extins local sau prezentând metastaze la distanță. Datorită acestei agresivități, rezultatele curative sau remisiunile pe termen lung, sunt foarte puțin probabile. Astfel definirea de noi strategii terapeutice în scop paleativ, a captat atenția la nivel global, fiind testate o serie de noi opțiuni terapeutice ce pot aduce un beneficiu tratamentului actual al cancerului de pancreas.
- ARF prin ghidaj EUS pe un pancreas porc normal, este o tehnică fezabilă și bine tolerată, fără mortalitate și morbiditate la o săptămână după procedură și fără complicații majore. Cu toate că au existat variații ale constantelor biologice amilaze, FA și GGT după intervenție, acestea s-a normalizat după o săptămână. Am demonstrat că tehnica a fost bine tolerată și poate fi considerată în tratamentul tumorilor pancreatice nerezecabile, având în vedere dimensiunile zonei de ablație obținute.
- Injectarea ecoendoscopică de nanoparticule magnetice a fost realizată cu succes pe toate modelele experimentale fără a prezenta modificări în comportamentul animalelor sau complicații. Evaluarea patologică a fost efectuată prin colorație cu albastru de Prusia care a evidențiat depozite de fier în interiorul organelor selectate. Injectarea locală în pancreas a permis vizualizarea imagistică (IRM) și ulterior la analiza anatomopatologică a nanoparticulelor magnetice. De asemenea validarea tehnicii de injectare prin vena portă, s-a

realizat fără complicații și poate fi luată în considerare în cadrul metastazelor hepatice din adenocarcinomul pancreatic.

- Gastrojejunoanastomoza sub ghidaj ecoendoscopic a fost efectuată cu succes la toate modelele experimentale. Cele cinci etape în care a fost împărțită procedura reprezintă o noutate adusă terapiei paliative cancerului de pancreas avansat. Am demonstrat că tehnica folosită este una fezabilă cu devierea alimentației printr-o gastrojejunoanastomoză construită printr-un stent metalic expandabil.

Bibliografie Selectivă

1. Abraham NS, Barkun JS, Barkun AN. Palliation of malignant biliary obstruction: a prospective trial examining impact on quality of life. *Gastrointest Endosc.* 2002;**56**:835–41
2. Ewertsen C, Henriksen BM, Torp-Pedersen S, Bachmann Nielsen M. Characterization by biopsy or CEUS of liver lesions guided by image fusion between ultrasonography and CT, PET/CT or MRI. *Ultraschall Med.* 2011 Apr;32(2):191-7 doi: 10.1055/s-0029-1245921
3. Skjoldbye B, Burcharth F, Christensen JK, Moesgaard FA, Struckmann JR, Nolsøe CP. Ultrasound-guided radiofrequency ablation of malignant liver tumors. *Ugeskr Laeger.* 2002 Sep 30;164(40):4646-50
4. Han HS, Niemeyer E, Huang Y, et al. Quantum dot/antibody conjugates for in vivo cytometric imaging in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Feb 3;112(5):1350-5.
5. Weissleder R, Elizondo G, Wittenberg J, Lee AS, Josephson L, Brady TJ. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide: an intravenous contrast agent for assessing lymph nodes with MR imaging. *Radiology* 1990; 175: 494–498.
6. Seneterre E, Weissleder R, Jaramillo D, et al. Bone marrow: ultrasmall superparamagnetic iron oxide for MR imaging. *Radiology* 1991; 179: 529–533.
7. Kawamori Y, Matsui O, Kadoya M, Yoshikawa J, Demachi H, Takashima T. Differentiation of hepatocellular carcinomas from hyperplastic nodules induced in rat liver with ferrite enhanced MR imaging. *Radiology* 1992; 183: 65–72.
8. Vanbiervliet G, Gonzalez JM, Bonin EA, et al. Gastrojejunal Anastomosis Exclusively Using the "NOTES" Technique in Live Pigs: A Feasibility and Reliability Study. *Surg Innov.* 2013 Nov 19;21(4):409-418.
9. Song TJ, Seo DW, Kim SH, et al. Endoscopic gastrojejunostomy with a natural orifice transluminal endoscopic surgery technique. *World J Gastroenterol.* 2013;19(22):3447-52
10. Yi SW, Chung MJ, Jo JH, et al. Gastrojejunostomy by pure natural orifice transluminal endoscopic surgery using a newly designed anastomosing metal stent in a porcine model. *Surg Endosc.* 2014;28(5):1439-46.
11. Barthet M, Binmoeller KF, Vanbiervliet G et al. Natural orifice transluminal endoscopic surgery gastroenterostomy with a biflanged lumen-apposing stent: first clinical experience (with videos). *Gastrointest Endosc.* 2015;81(1):215-8.