

Estudio multiparamétrico de los marcadores clínicos, biológicos y evolutivos con significado pronóstico en adenocarcinoma ductal de páncreas

David Nicolás Macías Hernández

Director:
Dr. José María Sayagués Manzano

Tutor:
Dra. Pilar Sánchez Conde



Salamanca, 2022

Don José María Sayagués Manzano Doctor en Medicina y Cirugía, investigador del SNS del Servicio de Anatomía Patológica del CAUSA y profesor asociado del Departamento de Biología Celular y Patología de la Universidad de Salamanca

CERTIFICA QUE:

Que el trabajo doctoral realizado bajo mi dirección por DON DAVID NICOLÁS MACÍAS HERNÁNDEZ y titulado “Estudio multiparamétrico de los marcadores clínicos, biológicos y evolutivos con significado pronóstico en el adenocarcinoma ductal de páncreas”, reúne las condiciones de originalidad y calidad científicas requeridas para optar al grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, firmo el presente certificado en Salamanca a 20 de junio del año 2022



Fdo. Dr. JM Sayagues

Introducción

Adenocarcinoma ductal de páncreas (ADCP): aspectos clínicos y biológicos generales de la enfermedad.

El adenocarcinoma ductal de páncreas (ADCP) es un tumor maligno invasivo desarrollado a partir del componente exocrino de la glándula pancreática. El páncreas exocrino representa alrededor del 80% de la masa total del órgano y presenta tres tipos diferentes de células epiteliales: células acinares, células ductales y células centroacinares. Las funciones de dichas células consisten en la producción de zimógenos y su excreción al tracto gastrointestinal[1]. La teoría más aceptada actualmente en cuanto a la génesis del ADCP define su origen en las células ductales, dado que las células mutadas presentan semejanzas morfológicas con éstas[2].

El ADCP la neoplasia pancreática más frecuente, supone más de un 85% de los casos y de un pronóstico nefasto[3, 4]. Representa una de las neoplasias con mayor tasa de mortalidad en ambos sexos, la cual prácticamente iguala a la propia incidencia tumoral, que afortunadamente es relativamente moderada en comparación con otros tumores malignos sólidos[1]. Causa alrededor de 240.000 muertes al año en el mundo, con una incidencia que crece aproximadamente un 1% desde el año 2000, y representa la quinta causa de mortalidad relacionada con el cáncer en los países desarrollados (alrededor de un 7% de todas las muertes por cáncer)[5, 6]. La incidencia en España (7 casos nuevos al año/100.000 habitantes) es relativamente baja respecto al resto de Europa (9-12 nuevos casos /100.000 habitantes)[7, 8].

1. Etiología del ADCP

Gran parte de los ADCP son casos esporádicos; tan sólo entre 7-10% de las ocasiones se presenta agregación familiar o antecedentes familiares, considerándose como tales la existencia de ADCP en al menos dos familiares en primer grado, o los casos asociados a síndromes neoplásicos como el de Peutz-Jeghers, el síndrome de Lynch, el

melanoma familiar atípico con molas múltiples (FAMMM), el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario, o la pancreatitis hereditaria[6, 9].

Existen factores de riesgo para el desarrollo de ADCP, entre los cuales se pueden destacar por su relevancia: consumo de alcohol y tabaco; cuadros de pancreatitis crónica o antecedentes familiares de la misma; sexo masculino; edad avanzada; diabetes mellitus; obesidad; dietas ricas en grasa de origen animal y pobres en proteínas de origen vegetal y ácido fólico; el poseer un grupo sanguíneo distinto al 0; raza negra (especialmente afro-americanos); infección crónica por *Helicobacter pylori*; enfermedad periodontal; y patologías ocupacionales con exposición a distintos tóxicos (por ejemplo, a níquel)[3, 6, 10]. A pesar de que la génesis de estos tumores es multifactorial e inmensamente compleja, requiriendo la concurrencia de varios de estos factores de forma más o menos simultánea durante un periodo de tiempo de forma aditiva, se pueden señalar como dominantes la presencia de antecedentes familiares y el consumo de tabaco. Se estima que hasta un 20% de todos los casos de ADCP está directamente relacionado con el hábito tabáquico, de modo que el riesgo de padecer cáncer de páncreas es 4 veces mayor en los sujetos fumadores. Por otro lado, el riesgo individual de padecer la enfermedad cuando se tienen familiares en primer grado afectados es hasta 9 veces superior al de la población general, y dicho riesgo sigue aumentando conforme aumenta el número de familiares afectados, de manera que en familias con 3 ó más miembros que padecen la enfermedad, el riesgo se incrementa hasta 32 veces. Estos datos informan de la importancia de la carga genética en la génesis de esta patología[6, 11].

2. Presentación clínica

La inespecificidad de las manifestaciones clínicas de la enfermedad en sus etapas precoces o incluso la ausencia total de síntomas hasta fases avanzadas de la enfermedad, cuando el tumor infiltra estructuras adyacentes, es uno de los factores que influyen de forma decisiva en el diagnóstico habitualmente tardío del ADCP, siendo habitual que dichas manifestaciones pasen desapercibidas para el paciente o sean malinterpretadas o atribuidas a otras causas durante el análisis clínico[12]. Los síntomas precoces más frecuentes son la distensión, plenitud o molestia en el área epigástrica; la flatulencia; las náuseas con o sin vómitos acompañantes; la diarrea; y el malestar general inespecífico[13, 14]. Las manifestaciones clínicas más habituales en el ADCP se encuentran recogidas en la Tabla 1.

A medida que la masa tumoral crece, aparecen los síntomas relacionados con la

compresión de estructuras anatómicas adyacentes (vía biliar principal, plexos nerviosos celiacos y/o mesentéricos, duodeno, etc.), u obstrucción del conducto pancreático principal o del colédoco[12], existiendo variaciones en las manifestaciones dependiendo de la localización anatómica donde asiente el tumor. Síntomas típicos de tumores que asientan en la cabeza del páncreas (75% de los casos)[15] son el dolor epigástrico irradiado en cinturón, la ictericia típicamente indolora, coluria, acolia, anorexia, pérdida de peso, pancreatitis y trombosis de aparición y desaparición aleatoria (10% de los casos), constituyendo estos dos últimos un indicio de enfermedad avanzada[12]. Sin embargo, en los tumores que asientan en cuerpo o cola de páncreas, el periodo asintomático o paucisintomático suele prolongarse hasta que el paciente presenta enfermedad localmente muy avanzada o metastásica. El síntoma predominante en estos casos consiste en el dolor irradiado a espalda derivado de la invasión de los plexos nerviosos posteriores[12].

Tabla 1. Manifestaciones clínicas más frecuentes en pacientes con ADCP

MANIFESTACIONES CLÍNICAS	CASOS
Flatulencia	61 %
Hiperperistaltismo	41%
Náuseas/Vómitos	31-41%
Diarrea	15%
Distensión epigástrica	10-15%
Dolor epigástrico	42-97%
Pérdida de peso / Hiporexia	50-90%
Ictericia indolora	48-81%
Depresión	25-75%
Diabetes	70%
Prurito	50-60%
Coluria	39%
Masa abdominal palpable	24-28%
Acolia	25%
Dolor en zona izquierda de tronco y/o cuadrante superior izquierdo de abdomen	<25%
Fiebre de origen desconocido	15-20%
Edema	10-21%
Vesícula palpable (Courvoisier-Terrier)	10-15%
Pancreatitis	3%
Tromboflebitis	2%

En sombreado, se muestran las manifestaciones más precoces de la enfermedad

La sospecha clínica de ADCP, basada en las manifestaciones de la enfermedad, constituye el inicio del proceso diagnóstico pero necesita forzosamente ser confirmada mediante pruebas de imagen de alta resolución[15]. En este sentido, el estudio de elección

es la tomografía axial computerizada (TAC) con contraste intravenoso en tres fases. Sin embargo, la dificultad para la obtención e interpretación de imágenes del retroperitoneo continúa constituyendo en ocasiones un reto diagnóstico[6, 16]. No obstante, el primer paso ante la sospecha clínica suele ser la realización de una ecografía abdominal, capaz de detectar masas de 2 ó más centímetros, especialmente las ubicadas en el área de la cabeza pancreática, con una sensibilidad del 76-83% y una especificidad de casi 90%[14].

El hallazgo más habitual en la ecografía consiste en una masa hipoecogénica, con distorsión de la arquitectura pancreática normal. Es posible objetivar dilatación por obstrucción de las vías biliares (intrahepática y/o extrahepática), especialmente en aquellos casos que cursan con pancreatitis crónica, e incluso detectar metástasis hepáticas si éstas estuvieran presentes. Su utilidad es mucho más limitada para la visualización de masas en la cola del páncreas que para aquéllas localizadas en cabeza y cuerpo[14, 16].

La prueba de imagen de mayor precisión diagnóstica actualmente continúa siendo la TAC trifásica, constituyendo además la herramienta que mejor permite valorar la resecabilidad del tumor. Aporta información indispensable acerca de la posible afectación de ganglios linfáticos regionales, infiltración de grasa peripancreática y/o invasión de órganos y tejidos adyacentes, así como acerca de la presencia de trombosis de estructuras venosas del eje espleno-porto-mesentérico, la existencia y localización de metástasis hepáticas, o signos sospechosos de carcinomatosis peritoneal[14, 16]. Aparte de la masa pancreática, son hallazgos relativamente frecuentes en la TAC de los pacientes afectos: distensión de la vesícula biliar, presencia de líquido libre intraabdominal (ascitis), esplenomegalia, ensanchamiento o deformidad del arco duodenal (para tumores localizados en la cabeza del páncreas); o bien deformidad, rigidez o aplanamiento de antro gástrico y/o colon transversal (para tumores localizados en cuerpo-cola)[14]. Esta técnica posee una fiabilidad en torno al 83-94% para la detección de neoplasias pancreáticas, con una precisión diagnóstica específica para ADCP de casi el 70%, y un valor predictivo positivo para determinar resecabilidad quirúrgica del 80%[14]. Entre las alternativas a la TAC, figuran la resonancia magnética nuclear (MRI, por sus siglas en inglés), utilizada en pacientes con alergia o intolerancia al contraste yodado intravenoso usado para la TAC, y la ecoendoscopia (USE, por sus siglas en inglés), con o sin punción para biopsia, técnica preferente si existen dudas acerca de la posibilidad de reseca completamente el tumor[16].

3. Pruebas diagnósticas de laboratorio

En la actualidad no existe ningún marcador biológico característico de la enfermedad con utilidad en el diagnóstico del ADCP, por lo que los hallazgos de las pruebas de laboratorio de estos enfermos son completamente inespecíficos, incluyendo habitualmente pruebas funcionales hepáticas. El único marcador realizado de forma rutinaria en estos pacientes es la determinación en plasma del antígeno carbohidratado 19.9 (CA 19.9), glicoproteína de superficie celular relacionada con el antígeno de Lewis [17]. La elevación de los niveles plasmáticos de CA 19.9 se ha asociado a la presencia de neoplasias del páncreas; no obstante, este hallazgo posee un valor únicamente orientativo, ya que su sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de cáncer de páncreas es baja, con un valor predictivo positivo <1%, como demuestran varios estudios prospectivos[3, 9, 18]. La elevada frecuencia de falsos positivos y, por tanto, su baja especificidad, se debe a que dicha proteína también se eleva en plasma de pacientes con otros tumores del aparato digestivo (tumores de vías biliares, de estómago o de colon, entre otros), en pacientes con cirrosis hepática, así como en enfermedades inflamatorias no tumorales (pancreatitis, hepatitis, etc.)[14]. Además, se calcula que aproximadamente un 65% de la población no expresa el antígeno de Lewis, y por ello sintetiza el antígeno CA19.9 de forma deficiente[19]. Todo ello pone de manifiesto que la utilidad de este marcador biológico como herramienta diagnóstica o de cribado, es extremadamente limitada, sobre todo en tumoraciones <3 cm y en ausencia de enfermedad metastásica[6]; de hecho, solamente un 65% de los casos considerados como potencialmente resecables según las pruebas de imagen presentan niveles elevados en el momento del diagnóstico[20]. Sin embargo, el antígeno CA 19.9 sí ha demostrado ser una herramienta útil en el seguimiento de estos pacientes y un marcador bastante fiable de la respuesta al tratamiento en aquellos pacientes con niveles elevados al diagnóstico. De esta manera, una disminución de sus niveles habitualmente traducen una respuesta favorable al tratamiento, mientras que un nuevo aumento tras descenso previo suele interpretarse como signo de actividad tumoral con posible recurrencia o progresión tumoral[14].

Otros marcadores tumorales de neoplasias epiteliales utilizados rutinariamente, como el antígeno carcinoembrionario (CEA) y el antígeno de cáncer 125 (CA125), cuya utilidad para el diagnóstico de ADCP ha sido estudiada, muestran aún menos rendimiento que el CA 19.9, con una sensibilidad del 30-60% y una especificidad del 80%. En el caso del CEA, sí que ha demostrado mayor utilidad como marcador biológico en neoplasias quísticas de páncreas, analizándose de rutina en el líquido de las muestras obtenidas por punción mediante ecoendoscopia[21].

La búsqueda de un marcador biológico con utilidad diagnóstica prosigue con la intención de encontrar la combinación de determinaciones que arrojen el mayor rendimiento diagnóstico posible, con el objetivo de diferenciar el ADCP de otras patologías benignas como la pancreatitis crónica. Se han analizado biomarcadores en muestras de sangre, saliva, bilis, tejido pancreático obtenido mediante biopsia y secreciones pancreáticas obtenidas mediante ecoendoscopia y punción-aspiración con aguja fina (USE-PAAF). Un estudio retrospectivo reciente analizó 5 marcadores (AGR2, REG1B, SYCN, LAMC2 y CA125), seleccionados de entre 400 muestras de plasma de sujetos sanos, sujetos con enfermedad pancreática benigna, y sujetos con ADCP, y procesados mediante técnicas de proteómica comparativa de alto rendimiento, concluyendo que el diagnóstico diferencial mejora significativamente mediante la determinación conjunta de CA 19.9, CA125 y LAMC2 respecto a la determinación aislada de CA19.9[22].

Por último, se han propuesto las proteínas MIC-1, TIMP-1, CEACAM1, osteopontina (SPP1), COL-6, REG4[23-27], determinados microARNs (miARN) y otros ARN no codificantes[21, 28-33], así como otros muchos marcadores[25, 34-56], que podrían presentar utilidad diagnóstica en el ADCP. Sin embargo, ninguno de ellos ha sido incluido en la rutina de atención de estos pacientes hasta la fecha.

4. Diagnóstico histopatológico

4.1. Características histopatológicas del ADCP

El aspecto macroscópico típico del ADCP es el de una masa blanquecino-amarillenta, dura al tacto, fibrosa, pobremente definida, que altera la morfología del páncreas y su arquitectura lobular, siendo frecuente el hallazgo de fenómenos de cavitación quística y necrosis tumoral central[12]. Al examen microscópico, esta masa presenta patrón glandular con estructuras de tipo ductal, secretoras de mucina, con grados variables de diferenciación y atipia celular[57] (Figura 1, D-F). Existen variantes poco frecuentes de carcinoma pancreático con diferenciación ductal, como el adenocarcinoma medular, el adenocarcinoma hepatoide, el carcinoma de células en anillo de sello pancreático, los tumores adenoescamosos, el carcinoma no diferenciado, y el carcinoma no diferenciado con células gigantes tipo osteoclasto[6]. El hallazgo que permite diferenciar el ADCP de estos subtipos es la presencia de la estructura típica de glándulas que rompen la arquitectura lobular a través del parénquima, habitualmente adyacente a las arteriolas musculares pero sin afectarlas. La invasión perineural y vascular son características del ADCP infiltrante, observándose incluso en pequeñas lesiones primarias, lo que indica un

comportamiento invasivo desde etapas muy tempranas de la enfermedad[12] (Figura 1, B y C).

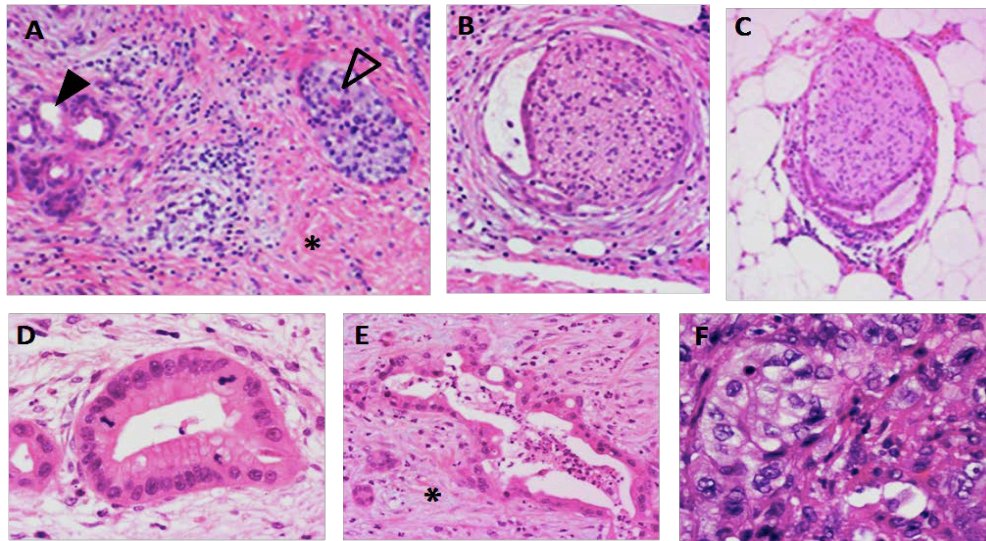


Figura 1. *Histología patológica del páncreas.* Fotografías microscópicas de tejido con pancreatitis crónica y ADCP teñido con H&E (100X). A: Corte histológico de pancreatitis crónica. En la imagen se observan zonas con inflamación crónica moderada mezclada con fibrosis intensa (*) y atrofia de los acinos. Por el contrario, persisten los ductos de morfología regular (indicado con una flecha negra) y los islotes de Langerhans (flecha vacía). B y C: Cortes de ADCP con imágenes de invasión tumoral perineural y vascular, respectivamente. D-F: Cortes de tejido de ADCP según el sistema de clasificación histopatológica de Adsay; D: Grado I (tumores bien diferenciados) presencia de glándulas bien formadas, de bordes fácilmente discernibles. E: Grado II (tumores moderadamente diferenciados) con un patrón general de glándulas fusionadas, imperfectas, de bordes mal definidos o con una formación irregular multilaminar (arquitectura cribiforme). F: Grado III (tumores pobremente diferenciados) definido por patrones no glandulares que incluyen áreas en forma de cordón, con infiltración celular individual y crecimiento en nidos o focos. También se observa que el componente exocrino está completamente sustituido por una fuerte reacción desmoplásica que lleva a que el tumor esté formado en un alto porcentaje por estroma fibroso (*).

Otros rasgos característicos que apoyan el diagnóstico histológico de ADCP son la observación de un lumen incompleto que contiene restos de material necrótico, la presencia de glándulas que contactan directamente con la grasa sin mediar un nexo de estroma, así como un perfil inmunohistoquímico (IHQ) particular, con expresión de CEA y mesotelina pero con pérdida de expresión de SMAD4/DPC4[12]. La proliferación de un estroma con alta densidad de fibroblastos, añadida a la presencia de células inflamatorias, células estrelladas pancreáticas y depósitos de componentes de la matriz extracelular (p.ej. metaloproteasas, fibronectina y colágeno), conocido como estroma fibroso o desmoplásico (Figura 1, D-F) es otra de las características más habituales del ADCP (Figura 1, A), pero que debido a su gran similitud con los hallazgos en piezas de pancreatitis crónica, obliga al diagnóstico diferencial con esta entidad, especialmente en el caso de adenocarcinomas bien diferenciados[58, 59] (Figura 1, D).

Por último, los hallazgos histológicos en el ADCP a nivel celular comprenden la presencia de microvellosidades en las superficies luminales de las células y gran número

de gránulos de mucina citoplasmáticos[57, 58]; es frecuente observar un importante pleomorfismo nuclear, con núcleos que comprenden un área hasta 4 veces mayor de lo normal dentro de una misma glándula[12].

4.2. Clasificación histopatológica del ADCP

Existen distintos niveles de diferenciación histológica entre los casos de ADCP, al igual que ocurre con otras neoplasias, conforme el grado de similitud histológica que muestra el tejido tumoral con respecto al tejido del órgano original no patológico. Así, un tumor cuyas células presentan gran similitud morfológica con el tejido original serán tumores bien diferenciados, mientras que aquellos tumores con menor semejanza serán pobremente diferenciados, teniendo este hallazgo una obvia implicación en el comportamiento tumoral y su pronóstico. De este modo, el ADCP puede variar morfológicamente desde un tejido con glándulas bien diferenciadas, a un tejido con células glandulares parcialmente diferenciadas, a células invasivas individuales productoras de mucina, o incluso lesiones focales de células neoplásicas con aspecto de formaciones sólidas sin mayor diferenciación[12]. La clasificación más ampliamente utilizada hasta la fecha es la propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS)[58, 59], dispone una división en tres grados histológicos (Tabla 2): **1) Grado I o bien diferenciado**, que presenta glándulas bien diferenciadas, completas, productoras de mucina, cuyas células presentan morfología cuboidal o columnar y poseen núcleos ovalados que conservan la orientación basal, con cromatina dispersa, mínimo pleomorfismo y baja frecuencia de imágenes de mitosis; **2) Grado II o moderadamente diferenciado**, que presenta lumen glandular incompleto, pleomorfismo nuclear con nucléolos grandes e irregulares, e imágenes de mitosis atípicas; **3) Grado III o pobremente diferenciado**, que muestra células poco formadas, individualmente infiltrantes, y formaciones neoplásicas predominantemente sólidas con baja producción de mucina, importante pleomorfismo nuclear con núcleos largos, nucléolos grandes, irregulares y frecuentemente múltiples, y elevada frecuencia de mitosis, incluidas las atípicas[12].

Tabla 2. Clasificación histológica del ADCP según la OMS.

Grados histológicos del ADCP según la OMS		
Grado I	Bien diferenciado	Glándulas completas productoras de mucina Células cuboidales / columnares Cromatina dispersa Pleomorfismo nuclear mínimo Baja frecuencia de mitosis
Grado II	Moderadamente diferenciado	Lumen incompleto Pleomorfismo nuclear, nucléolos grandes y prominentes Mayor frecuencia de mitosis atípicas
Grado III	Pobrementemente diferenciado	Glándulas poco formadas, baja producción de mucina Prominente pleomorfismo nuclear, núcleos largos, nucléolos múltiples e irregulares Alta frecuencia de mitosis (incl. atípicas)

No obstante, y a diferencia de otros tumores, es característica del ADCP la inmensa variedad morfológica y la importante heterogeneidad presente, tanto a nivel intra- como inter-tumoral, coexistiendo áreas con diferente grado de diferenciación dentro del mismo tumor, por lo que resulta complejo hallar una clasificación histológica representativa, reproducible de forma aceptablemente homogénea, aceptada universalmente, y con cierto significado pronóstico[60, 61]. Debido a ello, Adsay *et al.*[61] propusieron una clasificación alternativa con los deseados objetivos de representatividad, reproducibilidad, e impacto pronóstico, basada en el sistema de puntuación que se aplica en el adenocarcinoma de próstata[62]. La actual clasificación histológica del ADCP de la OMS incluye la valoración de aspectos subjetivos o difíciles de valorar de la misma manera por dos patólogos independientes, como la producción de mucina o la actividad mitótica, centrados en las áreas del componente de mayor grado, dejando a un lado el patrón global del tumor, lo cual limita su reproducibilidad entre observadores. Por el contrario, el sistema propuesto por Adsay *et al.*[61] valora la presencia de un patrón tumoral predominante (patrón mayor) y otro secundario (patrón menor), e incluso contempla la posibilidad de un tercer componente en los casos en que éste comprenda un área de >1 mm de longitud y/o >5% del total del tumor. Conforme lo observado, cada patrón anatomopatológico suma 1, 2 ó 3 puntos dependiendo de los hallazgos: unidades tubulares bien diferenciadas, de bordes fácilmente discernibles (1 punto); glándulas fusionadas imperfectas, de bordes mal definidos o con formación multilaminar irregular -patrón de arquitectura cribiforme- (2 puntos); patrón no glandular con infiltración de células individuales, áreas en forma de cordón, y crecimiento en focos o nidos (3 puntos). De este modo, cada tumor obtiene una puntuación global resultante de la suma de los patrones objetivados en el conjunto de la pieza de resección tumoral, que se valora en un sistema de gradación de la siguiente forma: a) Grado I o bien diferenciado corresponde a puntuación global ≤ 3 (Figura 1, D);

Grado II o moderadamente diferenciado corresponde a puntuación global de 4 (Figura 1, E); y Grado III o pobremente diferenciado corresponde a puntuación global ≥ 5 [61] (Figura 1, F). La puntuación de los grados histológicos según este sistema puede verse resumida en la tabla 3.

Tabla 3. Puntuación de los distintos patrones histológicos según la clasificación propuesta por Adsay et al[61].

Patrones	Scores	Grados
1+1, 1+2, 2+1	1-3	G1
1+3, 2+2, 3+1	4	G2
2+3, 3+2, 3+3	5-6	G3

5. Estadíaje TNM

El estadíaje tumoral es parte fundamental del proceso diagnóstico, pues sienta las bases de actuación terapéutica en cada paciente en concreto, guiadas por la mejor evidencia científica disponible. En el caso del ADCP, este estadíaje es posible en la mayoría de los casos mediante el análisis cuidadoso de las pruebas de imagen[6]. En la práctica clínica habitual, el sistema más empleado es el TNM de la American Joint Committee on Cancer (AJCC), basado en la afectación local del órgano / tamaño tumoral (T), la afectación ganglionar locoregional (N) y la existencia de metástasis a distancia (M), agrupando así los casos de ADCP en varios posibles estadios: 0, I, II, III, y IV[63]. Gracias a los avances tecnológicos en las técnicas de diagnóstico por imagen, se ha incrementado notablemente la precisión del estadíaje preoperatorio (cTNM) del ADCP, especialmente en cuanto a invasión local y loco-regional, incluyendo afectación ganglionar y vascular. Esto ha permitido reducir drásticamente el porcentaje de laparotomías exploradoras y otras intervenciones realizadas con intención curativa en las que no es posible extirpar el tumor debido a que los hallazgos intraoperatorios demuestran una afectación tumoral mucho más extensa que la detectada en los estudios preoperatorios. Dependiendo de los hallazgos de dichas pruebas y el correspondiente estadíaje, podemos clasificar a los ADCP de forma individual en: 1) Estadios 0-IB como tumores localizados (enfermedad resecable); 2) Estadio IIA como tumores localmente avanzados pero sin afectación vascular ni ganglionar (enfermedad generalmente resecable); 3) Estadio IIB como tumores localmente avanzados, con afectación vascular en mayor o menor grado de tronco celiaco, arteria mesentérica superior o vena porta, y/o con afectación ganglionar (enfermedad difícilmente

resecable, incluye tumores *borderline*) y; 4) Estadios III-IV como enfermedad localmente avanzada con invasión de estructuras adyacentes irresecable o metastásica (enfermedad irresecable)[6, 10].

Tabla 4. Clasificación TNM del cáncer de páncreas (AJCC,8ªed.)

Estadificación TNM del cáncer de páncreas (AJCC, 8ª edición)		
Tumor primario (T)	Afectación ganglionar regional (N)	Metástasis a distancia (M)
T1: Tumor limitado al páncreas, <2 cm de diámetro mayor	N0: No evidencia de adenopatías locorregionales N1: 1-3 metástasis ganglionares N2: >3 metástasis ganglionares	M0: No evidencia de metástasis a distancia
T2: Tumor limitado al páncreas, 2-4 cm de diámetro mayor		
T3: Tumor limitado al páncreas, >4 cm de diámetro mayor		M1: Metástasis a distancia
T4: Tumor con invasión de órganos adyacentes, tronco celiaco o arteria mesentérica superior		
Estadio		
<i>IA</i>	T1 N0 M0	
<i>IB</i>	T2 N0 M0	
<i>IIA</i>	T3 N0 M0	
<i>IIB</i>	T1-T3 N1 M0	
<i>III</i>	T4 Cualquier N M0 / Cualquier T N2 M0	
<i>IV</i>	Cualquier T Cualquier N M1	

A pesar de ello, persiste un 15-20% de casos cuyos hallazgos en las técnicas de imagen son altamente inespecíficos, haciendo necesario utilizar métodos diagnósticos alternativos adicionales que permitan concretar el grado de resecabilidad del tumor[14]. Incluso en una significativa proporción de pacientes, sólo es posible confirmar dicha resecabilidad en el mismo acto quirúrgico, siendo necesario el estudio histopatológico de la pieza de resección para establecer el estadiaje tumoral definitivo (pTNM). Dado que la afectación inflamatoria del órgano frecuentemente arroja imágenes similares a las neoplasias en los estudios preoperatorios habituales, puede ser recomendable intentar confirmar la sospecha clínico-radiológica para descartar enfermedad benigna (p.ej. pancreatitis crónica, pancreatitis autoinmune), especialmente en casos que presentan fuertes indicios de enfermedad localmente avanzada o tumor *borderline*[6]. En este sentido, se ha recomendado la realización de diagnóstico citológico mediante el análisis de muestras obtenidas por punción-aspiración con aguja fina, bien guiada por ecoendoscopia (USE-PAAF) o TAC. Sin embargo, en gran parte de los casos y ante sospecha clínico-radiológica fundada de neoplasia, se desaconseja debido al riesgo de diseminación de células tumorales como resultado de la punción, o porque la resección de la masa proporciona un beneficio terapéutico *per se*, independientemente de tratarse de enfermedad benigna o maligna[6]. Además de ser el método diagnóstico definitivo de cáncer de páncreas, el análisis histológico de la pieza es primordial a la hora de precisar el

subtipo concreto de tumor.

6. El origen celular del ADCP

El modelo teórico más aceptado actualmente para explicar la génesis, transformación y progresión del ADCP es el modelo displasia – metaplasia, similar a los modelos establecidos para los tumores de colon. Dicho modelo propone que las células neoplásicas surgen a partir de una transformación de tipo metaplásico (conversión de una célula madura diferenciada a una forma celular inmadura) de las células del epitelio ductal, que puede ser precedida por fenómenos de tipo displásico (comportamiento celular anómalo con crecimiento descontrolado)[64, 65]. No obstante, aún no existe evidencia científica directa de que el origen del proceso asiente en las células epiteliales ductales[1, 2]. De hecho, existen estudios que demuestran la expresión focal de marcadores específicos de otras estirpes celulares distintas de las ductales en las células precursoras de ADCP. La presencia de estos marcadores de linaje “no-ductal” plantean la hipótesis de que exista una cierta plasticidad en el proceso de génesis tumoral, de manera que ciertos modelos experimentales contruidos sobre estudios en animales y en tejidos tumorales humanos muestran la presencia de metaplasia ductal-acinar asociada a ADCP, apuntando a un posible origen acinar o combinado[2, 66].

Por otro lado, parece ser que el potencial de malignización de las células pancreáticas no depende exclusivamente del tipo celular de origen, ya sea ductal o acinar, sino también del contexto ambiental en el que se localiza la célula neoplásica, especialmente el inflamatorio, como se evidenció en varios estudios epidemiológicos que han estudiado la asociación entre ADCP y pancreatitis crónica[6, 9], de modo que el riesgo acumulativo de padecer ADCP en pacientes con pancreatitis crónica previa asciende a un 1,8% a los 10 años, incrementándose hasta el 4% a los 20 años[67]. La idea de que las células pancreáticas podrían sufrir una determinada transformación neoplásica bajo ciertas condiciones[68-71], fue confirmada por los trabajos de Guerra et al., en los que ratones adultos portadores de mutaciones somáticas del gen *KRAS* en células acinares pancreáticas sólo desarrollaban neoplasias o lesiones precursoras de cáncer pancreático en los sujetos que desarrollaban previamente una pancreatitis crónica[72, 73].

De forma más reciente, se ha apuntado la importancia clave en la génesis del ADCP de las células madre tumorales (CMT)[74, 75], definidas como células con potencial autorregenerativo y también de volver a desarrollar *de novo* el tumor primario tras ser inoculadas, incluso ectópicamente. Además de esta característica, también poseen una

marcada quimiorresistencia y potencial invasivo y migratorio, todo lo cual sugiere un papel relevante de estas células en el desarrollo original del tumor[76]. Las CMT del ADCP expresan los antígenos de superficie CD44, CD24, CD133, CD326, CXCR4, c-Met y aldehído deshidrogenasa (ALDH), y poseen la capacidad de formar esferas tumorales en cultivos líquidos[77]. Sin embargo, sólo una pequeña proporción de estas células pueden realmente desencadenar el proceso de crecimiento tumoral: aquéllas que portan mutación de *KRAS* y además superan los mecanismos de apoptosis, mediante mutación de *TP53*-y/o supresión de p21[71]. En este sentido, se ha identificado una subpoblación de CMT, denominadas células centroacinares, localizadas en la unión ductal-acinar y con potencial para diferenciarse tanto a células ductales como a células acinares, lo que les convierte en candidatas a ser la verdadera célula precursora del ADCP[78]; esta hipótesis es reforzada por estudios que describen la activación persistente y de forma exclusiva de la vía de señalización de desarrollo embrionario Notch en las células centroacinares adultas[79]. Incluso se piensa que podrían existir diferentes subpoblaciones celulares con capacidad neoplásica y que podrían evolucionar de forma diferente según el momento de progresión del tumor[71, 77].

Desde el punto de vista histopatológico, existen tres formas de neoplasia pancreática morfológicamente no invasivas, consideradas como precursoras de ADCP[80], que proceden del epitelio ductal pancreático. Las células de esas neoplasias premalignas comparten características morfológicas con las células del epitelio ductal normal, como la forma cuboide, la expresión de proteínas/antígenos ductales, y la disposición en estructuras tubulares[66].

La lesión premaligna más frecuente es la Neoplasia Intraepitelial Pancreática (PanIN, por sus siglas en inglés), hallazgo microscópico de naturaleza premaligna similar a otras neoplasias intraepiteliales precursoras[81-83]. Los otros dos tipos de lesiones precursoras, al ser macroscópicas, pueden ser identificadas en estudios de imagen, observándose su morfología predominantemente quística y/o dilatación de los conductos pancreáticos, y son denominadas Neoplasia Quística Mucinoso (NQM) y Neoplasia Mucinoso Papilar Intraductal (NMPI)[60, 80, 84].

6.1. Neoplasia intraepitelial pancreática (PanIN)

Las PanIN se han definido como neoplasias de los ductos de pequeño calibre del páncreas (<0,1- 0,5 cm de diámetro)[80, 84]. Al estudio histológico presentan diversas anomalías morfológicas que las diferencian de las estructuras ductales normales, observándose en ellas diferentes grados de displasia, desde leve hasta severa, llegando posteriormente a desarrollar carcinoma invasivo[60]. Según el grado de displasia, de atipia

núcleo-citoplasmática y las alteraciones morfológicas observadas, se subdividen en 3 grados[80,84]:

a) Lesiones neoplásicas de bajo grado (PanIN 1): Constituidas por epitelio de células largas de aspecto columnar con núcleos uniformes redondeados, orientados basalmente, y con abundante mucina supranuclear. Pueden a su vez subclasificarse en subtipo de lesiones planas (*PanIN 1A*) o lesiones papilares, micropapilares y/o pseudoestratificadas (*PanIN 1B*)[84, 85].

b) Lesiones neoplásicas de grado intermedio (PanIN 2): Presentan aspecto papilar, pérdida de polaridad nuclear, pleomorfismo, pseudoestratificación e hiperchromasia, pero con escasas imágenes mitóticas[80, 84, 85].

c) Lesiones neoplásicas de alto grado (PanIN 3): Se considera la precursora del carcinoma *in situ*. Muestran una importante complejidad arquitectónica, siendo de entre las lesiones intraepiteliales las que presentan mayor grado de displasia. A pesar de que las células ductales permanecen dentro de los límites de la membrana basal del epitelio, presentan estructuras cribiformes papilares con mezcla de estructuras ductales y células individuales que invaden el lumen desde el epitelio. Es común encontrar en ellas imágenes de necrosis luminal y atipia nuclear, con núcleos prominentes, alargados, pobremente orientados y nucléolos prominentes. Pueden llegar a observarse mitosis anómalas[68, 80, 84].

El estudio de muestras de necropsias y piezas de resección quirúrgica ha demostrado una elevada prevalencia de estas lesiones, estando más frecuentemente localizadas en cabeza de páncreas (al igual que el carcinoma invasivo), y siendo más comunes a mayor edad del paciente[80, 84]. De hecho, la incidencia de PanIN observadas es mayor en el tejido adyacente o asociado a ADCP que en la pancreatitis crónica. Se ha reportado en la literatura la presencia de PanIN 1 y 2 en aproximadamente el 16% de las muestras de tejido pancreático normal, y en un 60% de las muestras de pancreatitis crónica; sin embargo, los hallazgos de PanIN 3 en pancreatitis crónica sólo comprenderían el 4% de los casos, mientras que en muestras de ADCP su frecuencia aumenta hasta el 40%. La frecuencia total de hallazgos de PanIN en el seno de un ADCP alcanzaría el 80%[84]. Estos resultados apuntan a una importante asociación entre PanIN y ADCP. En este sentido, cabe añadir que en las PanIN de bajo grado se observa una mínima cantidad de estroma pancreático no patológico en la periferia de los ductos donde se originan, mientras que en las PanIN de alto grado se objetiva estroma expansivo unida a un macado componente inflamatorio[68].

6.2. Neoplasia quística mucinosa (MCN)

Son neoplasias epiteliales quísticas, que pueden alcanzar un tamaño importante (6-8 cm), y cuya característica fundamental aparte de su aspecto quístico es la gran producción de mucina. A nivel macroscópico, presentan aspecto de lesiones quísticas múltiples localizadas en cabeza y cuerpo del páncreas, divididas entre sí por una pseudocápsula fibrosa, y sin aparente comunicación con los ductos pancreáticos[86, 87]. A nivel microscópico, el recubrimiento de los quistes se compone de epitelio secretor de mucina que rodea un característico estroma denso de tipo ovárico con expresión de receptores de estrógenos y progesterona[86, 87]. Al igual que sucede con las PanIN, las MCN se pueden subdividir por su grado de displasia en lesiones de grado bajo, intermedio y alto; no obstante, se diferencia de aquéllas en que el tratamiento quirúrgico es curativo siempre que no presente carácter infiltrante invasivo al momento del diagnóstico, en cuyo caso la supervivencia global (SG) se reduce significativamente, siendo de tan solo un 15-60% a 5 años[87, 88], de ahí la importancia de la detección precoz de las mismas[80].

6.3. Neoplasia mucinosa papilar intraductal (NMPI)

Consisten en lesiones intraductales productoras de mucina que, a diferencia de las MCN, suelen estar ubicadas en los ductos pancreáticos, más frecuentemente en el conducto pancreático principal, pero que también pueden asentar en ductos periféricos gran calibre[86]. Desde el punto de vista microscópico, se conforman por un epitelio secretor de mucina con o sin proyecciones de morfología papilar, que puede exhibir un grado variable de atipia histológica y citológica; por tanto, al igual que el resto de lesiones premalignas, pueden ser subclasificadas en lesiones con displasia de grado bajo, intermedio o alto[86]. Es característica de las NMPI la coexistencia dentro de una misma lesión de diversos perfiles fenotípicos según su diferenciación, de manera que se pueden tipificar en subtipos pancreático-biliar, gástrico, intestinal y oncocítico. Sin embargo, el grado de representatividad de estos fenotipos coexistentes no es el mismo, por lo que se clasifican de acuerdo con el subtipo dominante en cada caso[88]. Otro hallazgo diferencial en estas lesiones es la expresión de distintos tipos de apomucinas, como MUC1, MUC2 y MUC5AC[80, 89]. Su tasa de SG a 5 años, más favorable que en el resto de neoplasias, es del 77-100%, pero aproximadamente un 30-50% de los casos asocian carcinoma invasivo o incluso metastásico, reduciéndose la SG a 5 años a un 34-62% [57, 88, 89].

7. Tratamiento

En los últimos 20 años se han hecho importantes avances en el conocimiento de la

genética, biología y comportamiento del ADCP, y como consecuencia de ello, se han desarrollado y ensayado nuevos fármacos, combinaciones y estrategias terapéuticas. A pesar de esto, la cirugía continúa siendo la base del tratamiento con intención curativa de los pacientes con ADCP.

7.1. Tratamiento quirúrgico

Hasta la fecha, la resección quirúrgica locorregional completa con márgenes libres sigue siendo el único tratamiento potencialmente curativo en el ADCP, tal como ocurría cuando se desarrollaron los principios quirúrgicos de las duodenopancreatectomías por Whipple et al. en los años 40 del siglo pasado[15, 66]. Desgraciadamente, la resección quirúrgica completa con intención curativa sólo es posible en el 15-20% de los tumores en el momento del diagnóstico; dicho de otro modo, existe casi un 85% de pacientes diagnosticados en fases avanzadas de la enfermedad, en las que la posibilidad de realizar una resección completa con bordes libres no es posible o se encuentra seriamente limitada. Esto se debe fundamentalmente a tres factores: la ausencia de especificidad en la clínica, la ausencia de marcadores biológicos específicos, y la limitación en las técnicas de imagen para hacer una correcta valoración preoperatoria del tumor[68, 90].

En el 15% de casos resecables, el tipo de extirpación quirúrgica realizada únicamente depende de la localización y extensión local del tumor, pudiéndose optar por una duodenopancreatectomía cefálica (DPC o intervención de Whipple), una pancreatectomía distal o córporo-caudal (PCC), o una duodenopancreatectomía total (DPT), con o sin esplenectomía asociada[3, 15]. En muchos de los casos restantes el tumor no se considera extirpable, bien por presencia de metástasis a distancia de tipo linfático, peritoneal, pleural o visceral (fundamentalmente hepática) en un 50% de estos casos, y/o por invasión linfovascular directa o linfática peripancreática (35% de estos casos), pudiendo existir afectación de arteria mesentérica superior, vena mesentérica superior, arteria hepática y/o tronco celiaco[3, 10, 15]. El 80% de los casos de ADCP metastásicos corresponden a metástasis hepáticas por la diseminación de células procedentes del tumor primario a través de la vena esplénica o la vena porta, siendo relativamente frecuente el hallazgo de trombosis neoplásicas de dichos vasos sanguíneos. En estos casos cabe plantear una intervención quirúrgica con intención paliativa[91], aunque habitualmente se suele preferir seguir un tratamiento médico conservador con seguimiento estrecho mediante valores secuenciales de CA 19.9 y TC cada 3-6 meses[10], dado que los estudios reflejan que en estos pacientes la resección local del tumor no aporta ningún beneficio adicional en términos de SG, siendo ésta comparable entre los pacientes intervenidos con resección R1 (margen de resección con infiltración neoplásica microscópica) y los pacientes que

únicamente reciben radio/quimioterapia[10].

Históricamente se consideraban no resecables todos los tumores con cualquier tipo de afectación de los vasos sanguíneos locorreionales. Progresivamente, distintos grupos publicaron su experiencia realizando resecciones más radicales en los ADCP que presentaban infiltración de la vena mesentérica y/o la vena porta mediante técnicas de resección venosa con o sin reconstrucción posterior, y obteniendo resultados de supervivencia muy similares a aquellos ADCP intervenidos con intención curativa y sin afectación venosa. El desarrollo de las técnicas de resección y reconstrucción venosa y el éxito que acompañó a éste en términos del aumento de resecciones R0 conseguidas, animó a otros grupos a realizar resecciones con intención curativa incluso en casos de afectación tumoral de la arteria hepática común, la arteria mesentérica superior e incluso del tronco celiaco, siempre que la afectación no sobrepasase los 180° de circunferencia del vaso y, por tanto, fuese factible realizar una reconstrucción vascular postexéresis. Estos tumores con afectación vascular local que podrían ser subsidiarios de cirugía con intención curativa, con o sin neoadyuvancia previa, son denominados tumores *borderline*. Los criterios que los definen en función de las arterias o venas afectadas se recogen en las tablas 5 y 6.

Por último, parece probado que la mortalidad asociada a la resección quirúrgica del ADCP con intención curativa es baja (<5%) en centros de alto volumen, con más de 15-20 intervenciones de este tipo al año[92]; sin embargo, la tasa de SG de estos pacientes a 5 años continúa siendo así mismo baja, del 15-20%[6], a pesar de haberse conseguido una resección R0 (con márgenes microscópicos negativos)[14, 90].

7.2. Quimioterapia/Radioterapia

El papel de los tratamientos con quimioterapia o quimio/radioterapia en los pacientes con ADCP es el de tratamiento adyuvante en aquellos casos sometidos a intervención quirúrgica curativa con el objetivo de disminuir la probabilidad de recurrencia locorreional, cuya tasa en ausencia de adyuvancia sigue siendo muy elevada[4]. Desde la introducción de la gemcitabina en 1997, consiguiendo buenos resultados en cuanto a respuesta clínica (mejoría del dolor, menos pérdida de peso)[75], los avances en este campo han sido numerosos y significativos en todas las áreas excepto en una: la tasa de SG de los pacientes. Los regímenes ensayados, basados en el 5-fluorouracilo (5-FU) y ácido folínico, o incluso la combinación adyuvante de radioterapia y quimioterapia, han arrojado resultados poco esperanzadores en este sentido[6, 10]. A día de hoy, no se ha demostrado aumento en la SG ni en la supervivencia libre de enfermedad (SLE) en los casos de ADCP

Tabla 5. Criterios *arteriales* de resecabilidad según los principales sistemas de clasificación y definición de ADCP *borderline* de páncreas según los mismos

CRITERIOS ARTERIALES DE RESECABILIDAD LOCAL SEGÚN LOS PRINCIPALES SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN						
Categorías	MDACC 2006	AHPBA/SSAT/SSO 2009	Alliance 2013	ISGPS 2014	NCCN 2018	
TC	Resecable	No afectación	Planos grasos libres, no afectación	No afectación	Planos grasos libres alrededor de arteria	Ausencia de contacto tumoral
	Borderline resecable	Contacto $\leq 180^\circ$	No afectación	Interfase tumor-arteria $< 180^\circ$	No afectación	<u>Cabeza y proceso uncinado:</u> No afectación. <u>Cuerpo y cola:</u> contacto tumoral sólido $\leq 180^\circ$ ó $> 180^\circ$ sin afectación de aorta o AGD
	Localmente avanzado irreseable	Afectación $> 180^\circ$ sin opción técnica de reconstrucción	Cualquier afectación	Interfase tumor-arteria $\geq 180^\circ$	Cabeza: cualquier contacto $< 180^\circ$. Cuerpo y cola: contacto $> 180^\circ$.	Contacto tumoral sólido $> 180^\circ$
AMS	Resecable	No extensión, plano graso normal entre tumor y arteria	Planos grasos libres, no afectación	No afectación	Planos grasos libres alrededor de arteria	Ausencia de contacto tumoral
	Borderline resecable	Contacto $\leq 180^\circ$	Contacto $\leq 180^\circ$	Interfase tumor-arteria $< 180^\circ$	Contacto $\leq 180^\circ$	Contacto $\leq 180^\circ$
	Localmente avanzado irreseable	Contacto tumoral $> 180^\circ$	Contacto tumoral $> 180^\circ$	Interfase tumor-arteria $> 180^\circ$	Contacto tumoral $> 180^\circ$	Contacto tumoral sólido $> 180^\circ$
AHC	Resecable	No afectación	Planos grasos libres, no afectación	No afectación	Planos grasos libres alrededor de arteria	Ausencia de contacto tumoral
	Borderline resecable	Contacto $< 180^\circ$ o $\geq 180^\circ$ en un corto segmento (origen AGD)	Contacto $< 180^\circ$ o $\geq 180^\circ$ en un corto segmento susceptible de reconstrucción	Interfase de un segmento corto entre tumor y AHC susceptible de reconstrucción (INDEPENDIENTE DE LOS GRADOS)	Afectación de un corto segmento o contacto directo $\leq 180^\circ$ sin extensión al tronco celiaco	<u>Cabeza y procesouncinado:</u> Contacto tumoral sólido con AHC sin extensión a TC o a bifurcación de AH, que permitan resección y reconstrucción. Contacto con variantes anatómicas arteriales.
	Localmente avanzado irreseable	Afectación $> 180^\circ$ no susceptible de reconstrucción	Afectación no susceptible de reconstrucción	Afectación no reconstruible	-	-

Criterios que definen tumor resecable, *borderline* o irreseable según su afectación arterial regional en los principales sistemas de clasificación de forma evolutiva: MDACC: MD Anderson Cancer Center; AHPBA: America's Hepato-BPancreat-Biliary Association; SSO: Society of Surgical Oncology; SSAT: Society for Surgery of the Alimentary Tract; ISGPS: International Study Group for Pancreatic Surgery; NCCN: National Comprehensive Cancer Network.

tratados con cirugía y gemcitabina en comparación con los tratados con 5-FU o ácido folínico, tal como exponen los resultados de los ensayos clínicos aleatorizados fase III CONKO-001 y ESPAC-1, llevados a cabo por Oettle et al y por el European Study Group for Pancreatic Cancer respectivamente[93]. Debido a esto, la gemcitabina (ya sea en monoterapia o en combinación con 5-FU), persiste como tratamiento de primera línea en la adyuvancia de los pacientes intervenidos por ADCP, sin que se haya objetivado hasta la fecha una mejoría significativa en el pronóstico a largo plazo sino consiguiendo prolongar la SG en unos escasos 20 días. En ocasiones, se plantea de entrada como tratamiento de

naturaleza paliativa gracias a sus efectos sobre la clínica de la enfermedad[4, 75].

Tabla 6. Criterios venosos de resecabilidad según los principales sistemas de clasificación y definición de ADCP *borderline* de páncreas según los mismos

CRITERIOS VENOSOS DE RESECABILIDAD LOCAL SEGÚN LOS PRINCIPALES SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN						
Categorías	MDACC 2006	AHPBA/SSAT/SSO 2009	Alliance 2013	ISGPS 2014	NCCN 2018	
VMS VP	Resecable	Patente	No evidencia de contacto, trombosis, distorsión o englobamiento	Interfase tumor-vena <180° sin oclusión	No evidencia Rx de distorsión venosa	Contacto tumoral igual o <180° sin irregularidad vena
	Borderline resecable	Oclusión de segmento corto susceptible de resección y reconstrucción	Contacto igual o <180° Contacto >180° sin afectación arterial Segmento corto ocluido por trombo o infiltrado, susceptible de resección y reconstrucción	Interfase tumor-vena igual o >180°, oclusión de segmento corto susceptible de resección y reconstrucción	Distorsión o estrechamiento venoso Oclusión que permite resección y reconstrucción seguras	Contacto tumoral sólido >180° Contacto <180° con irregularidad venosa o trombosis pero susceptible de resección y reconstrucción seguras
	Localmente avanzado irresecable	Ocluida y sin opción técnica de reconstrucción	Cualquier afectación no reconstruible o trombosis mayor que abarca varios cm	Cualquier afectación no reconstruible	Oclusión no reconstruible	Afectación sin posible reconstrucción Contacto con la 1ª vena yeyunal que drena en VMS

Criterios que definen tumor resecable, *borderline* o irresecable según su afectación venosa regional en los principales sistemas de clasificación de forma evolutiva: MDACC: MD Anderson Cancer Center; AHPBA: America's Hepato-BPancreat-Biliary Association; SSO: Society of Surgical Oncology; SSAT: Society for Surgery of the Alimentary Tract; ISGPS: International Study Group for Pancreatic Surgery; NCCN: National Comprehensive Cancer Network.

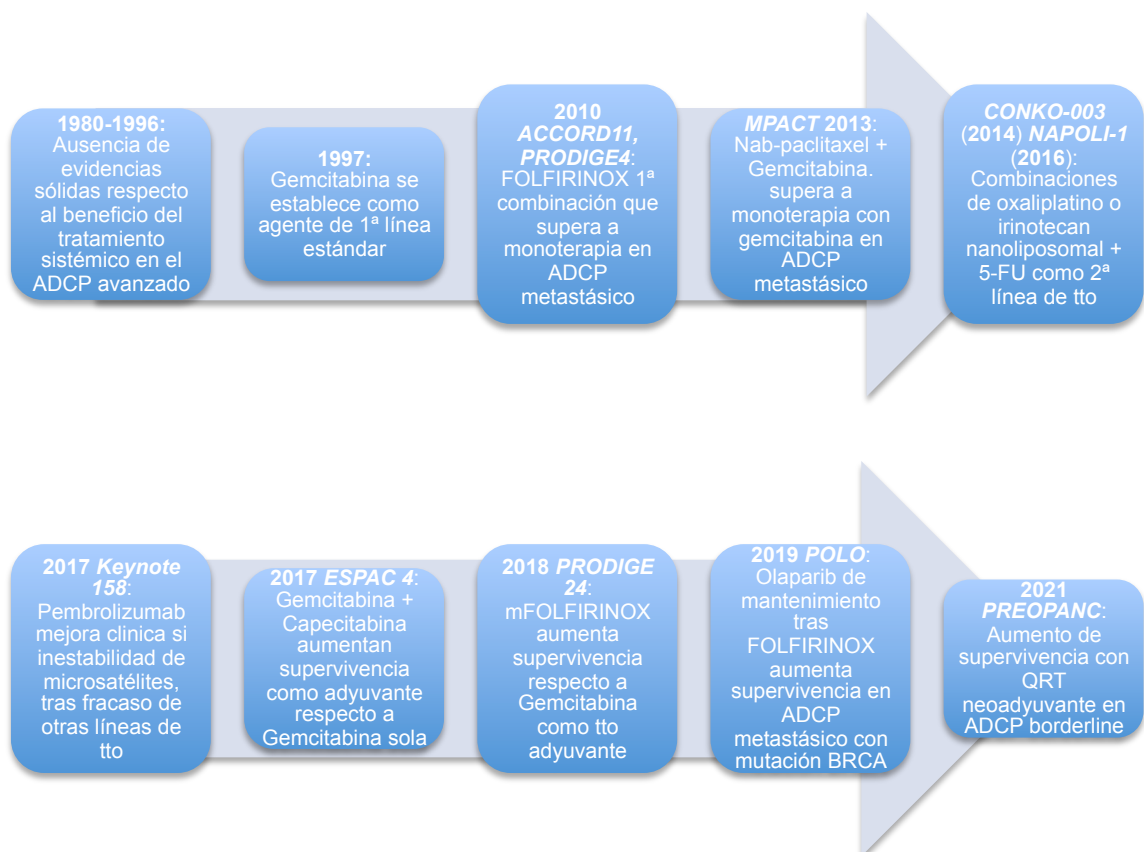
Más recientemente, se ha apuntado hacia la necesidad de implementar regímenes de terapias neoadyuvantes preoperatorias, necesidad avalada por diversos factores como la demora entre diagnóstico, cirugía, recuperación postoperatoria e inicio de tratamiento adyuvante, que se ve más retrasado aún en el caso de presentarse complicaciones quirúrgicas. Para ello, se han desarrollado nuevos fármacos como nab-paclitaxel (agente anti-estroma), así como combinaciones de erlotinib (anticuerpo monoclonal), y otros fármacos como capecitabina, fluoropirimidinas, análogos del platino o FOLFIRINOX (protocolo de combinación de 5-FU, leucovorin, irinotecan y oxaliplatino) junto con gemcitabina. Todas estas combinaciones (asociadas o no a radioterapia) dieron como resultado en los ensayos clínicos de fase III una mejoría significativa al ser administrados como terapia neoadyuvante en pacientes con enfermedad metastásica[93, 94]. No obstante, la utilización de regímenes con FOLFIRINOX conlleva una elevada toxicidad y empeoramiento de la calidad de vida[94], por lo que a pesar del entusiasmo inicial, continúan sin utilizarse en el tratamiento adyuvante del ADCP resecable o *borderline* de forma rutinaria por falta de evidencia sólida fuera del entorno de los ensayos clínicos[93].

Por último, en el momento actual se están desarrollando diversos agentes que

pretenden potenciar los efectos antineoplásicos de la gemcitabina, como: a) JP1201, fármaco desarrollado como agente mimético de la proteína Smac con capacidad para revertir la actividad inhibitoria de la apoptosis de dicha proteína; b) revestranol, supuestamente supresor de los marcadores de angiogénesis, proliferación, invasión local y metástasis; y finalmente c) timoquinona, con efecto antiinflamatorio y proapoptótico derivado de extractos vegetales[95, 96].

La evolución de los avances en el tratamiento quimioterápico del ADCP se pueden sintetizar como indica la figura 2.

Figura 2. Avances en terapia quimioterápica en el ADCP según la SEOM.



8. Evolución clínica y pronóstico

La evolución natural del ADCP, desde su génesis hasta el diagnóstico con la progresión hacia fases avanzadas de la enfermedad, suele ser paucisintomática o asociada a sintomatología altamente inespecífica. En caso de no ser diagnosticado y tratado precozmente, el tumor progresa con infiltración directa de los tejidos adyacentes al páncreas, los vasos sanguíneos locorreionales e incluso la cavidad peritoneal, para

inmediatamente después desarrollar metástasis de localización preferente hepática y pulmonar[97]. Por ello, dado que es frecuente que el paciente presente invasión de tejidos adyacentes en el momento del diagnóstico, la tasa de supervivencia del ADCP al año es solamente del 15-20%, disminuyendo a los 3 años hasta el 2-4%[98, 99]. Las mejores tasas de supervivencia (20-25% a 5 años) se logran en casos de tumores pequeños (≤ 2 cm), sin metástasis ganglionares ni infiltración de órganos adyacentes y localizado en cabeza de páncreas[16]. En estos casos, la mediana de SG es de 18 meses tras resección completa del tumor (R0)[98]. A pesar de conseguir una extirpación quirúrgica satisfactoria, el 80% de ellos recidivan a nivel local y la mitad de los casos desarrollaran metástasis hepáticas en este periodo[3]. Ésta es la razón de que se exploren diversas estrategias de actuación precoz mediante neoadyuvancia con quimioterapia o combinada con radioterapia[90]. La mediana de supervivencia para ADCP localmente avanzado se reduce a 12 meses, siendo en la enfermedad metastásica de tan solo 3-6 meses. Las nuevas estrategias de tratamiento neoadyuvante permite rescatar a un 30% de estos pacientes, que pasan de considerarse no resecables a ser intervenidos con intención curativa, y además lograr unas tasas de supervivencia comparables a las de los tumores localizados resecables que no han necesitado tratamiento neoadyuvante[6].

Como consecuencia de la evidencia científica expuesta, parece evidente que los parámetros directamente relacionados con la intervención quirúrgica (márgenes de resección negativos, tamaño tumoral, grado histológico tumoral y grado de afectación ganglionar) constituyan los factores pronósticos más importantes en el ADCP[10]. En este sentido, los tumores de mayor tamaño (>2 cm), pobremente diferenciados, márgenes de resección afectados e infiltración de ganglios linfáticos, presentan un pronóstico nefasto[6]. A pesar de ello, pocos estudios han caracterizado y/o validado los posibles factores pronósticos de la enfermedad, existiendo varias investigaciones con escasa significación estadística, probablemente por pequeño tamaño muestral o sesgos de la selección de los pacientes que estudian. De entre los factores pronósticos mencionados, se ha propuesto como factor pronóstico independiente el índice *lymph node ratio* (LNR, por sus siglas en inglés), definido como la tasa de ganglios afectados sobre el total de ganglios extirpados. Su impacto sobre la SG en sujetos de ADCP sometidos a duodenopancreatectomía ha sido estratificado de la siguiente forma: para un LNR de 0, la mediana de SG es de 25 meses; para un LNR $\leq 0,2$, 22 meses; para LNR entre 0,2 y 0,4, 15 meses; y de 12 meses para LNR $>0,4$ [100]. Del mismo modo, se ha descrito una mayor SG en pacientes pN0 que presentan mayor número de ganglios linfáticos analizados en la pieza de resección, con mediana de SG de 20 meses para pacientes con ≥ 10 ganglios en la pieza vs. mediana de 15 meses para <10 ganglios ($p < 0.0001$)[3]. Un mayor número de ganglios linfáticos

extirpados suele ser indicativo de una cirugía más radical, y por lo tanto, con mayor probabilidad de márgenes negativos; lo que es más, un bajo número de ganglios linfáticos en la pieza debe alertar de una probable infraestadificación del tumor.

También se ha sugerido que la infiltración diferencial de distintos niveles anatómicos de ganglios linfáticos presenta significación pronóstica. En este sentido, la invasión de ganglios peripancreáticos o adyacentes presentaría un pronóstico menos sombrío y una supervivencia global mayor que la infiltración tumoral de grupos ganglionares distantes, como los periportales, de la raíz del mesenterio, retroperitoneales o interaortocava. La invasión de estos grupos ganglionares remotos supone una disminución de la supervivencia global que acerca a estos pacientes a expectativas pronósticas sólo ligeramente mejores que los pacientes con enfermedad metastásica hepática[3].

Por otro lado, es lógico que los tumores de mayor tamaño (>2cm de diámetro mayor) presenten peor pronóstico, dado que el mayor tamaño puede representar mayor agresividad, mayor tiempo de evolución con mayor probabilidad de extensión ganglionar y micrometástasis, mayor dificultad técnica para conseguir resección completa R0, y por tanto, mayor probabilidad de afectación del margen de resección[3].

Hoy día se acepta que el valor predictivo de los factores pronósticos depende en gran medida del centro hospitalario y su volumen anual de casos, la experiencia de los cirujanos que llevan a cabo la resección, y la calidad del estudio histopatológico realizado sobre las piezas de resección[92]; por ejemplo, la exactitud a la hora de evaluar un margen de resección depende de las técnicas de marcado con tinta china para su posterior análisis por el patólogo, y del criterio de éste para definir la infiltración de dicho margen (distancia mínima libre entre el tumor y el margen de resección quirúrgica), de lo cual depende a su vez lograr un resección con márgenes libre (R0) o afectos (R1)[3].

El grado histológico de diferenciación tumoral es otro de los factores pronósticos propuestos sobre los que más se ha investigado, aunque en este caso, los diferentes autores arrojan en sus estudios datos discordantes respecto a su relevancia sobre la el pronóstico de la enfermedad, o en ocasiones incluso discordantes con la biología y la evolución natural del tumor (p.ej., tumores de alto grado con mayor supervivencia que los de bajo grado). En parte, esto es consecuencia de la gran dificultad que conlleva hacer una correcta evaluación anatomopatológica del ADCP, a cierto grado de subjetividad inherente al análisis que se debe a la experiencia individual del patólogo, y, en fin, a una gran variabilidad interobservador[3]. Más de un investigador sugiere que no disponemos de la mejor herramienta clasificatoria para evaluar este aspecto del ADCP. A pesar de todo, frecuentemente los estudios informan de un pronóstico más favorable para los tumores

bien diferenciados y un peor pronóstico para los ADCP moderadamente y pobremente diferenciados. Otros parámetros histológicos que se han asociado con una SG significativamente más corta incluyen la presencia de focos de fibrosis y necrosis en más del 25% del área del tumor[3].

Introducción

Adenocarcinoma ductal de páncreas (ADCP): aspectos genéticos y terapias dirigidas.

1. Alteraciones genéticas asociadas al ADCP.

La transformación neoplásica de las células se debe a la confluencia de una serie de alteraciones moleculares que suponen una alteración en los mecanismos que controlan la proliferación, la diferenciación y/o la supervivencia celular y de una serie de alteraciones en las interacciones de las células con su microambiente[101, 102]. Podemos clasificar estas alteraciones moleculares en dos tipos: primarias y secundarias. Las alteraciones primarias son las involucradas en el proceso de transformación neoplásica, mientras que las secundarias son las que determinan el grado de agresividad y malignidad del tumor[136, 138].

Las alteraciones primarias más importantes son la activación constitutiva del oncogén *KRAS* (75-90% de los ADCP) y la mutación del gen *BRAF* (5-15%). La activación constitutiva del oncogén *KRAS* (12p12.1) se produce por mutaciones en los codones 12, 13 y 61[20, 139]. La familia RAS está constituida por proteínas con actividad GTPasa que regulan la proliferación, diferenciación, supervivencia, motilidad, invasión y remodelamiento del esqueleto celular y que participan en diversas vías de señalización (MAPK, PI3K, NF- κ B)[60]. En el 5-15% de los casos de ADCP en los que no se detecta activación de *KRAS* suele estar mutado el gen *BRAF*, un gen activador implicado en la vía RAS/RAF/MAPK[134] y cuya mutación condicionaría la transformación maligna de la célula normal[66, 80, 142]. Otras alteraciones primarias que cabe destacar serían las que afectan al oncogén *GNAS* [88], las metaloproteasas de la matriz extracelular MMP-7, MMP-2 y MMP-9[169], que promueven el asentamiento a distancia de las células tumorales[157, 158]; los marcadores gástricos de diferenciación epitelial (PGC, MUC6, KLF4, GATA6, SOX-2, FOXI1, MDM2, TFF1)[84, 159, 165]; la fascina (FSCN1), que promueve la movilidad y la capacidad de invasión[154, 170]; las proteínas de adhesión celular (CLDN4, CLDN18); las proteínas de unión a calcio (S100A, S100P)[6, 11, 84]; las proteínas reguladoras del ciclo celular[159]; las proteínas que intervienen en la progresión tumoral y angiogénesis (COX2); PSCA; la queratina 19 (KRT19); el receptor de clase C asociado a

proteína G (GPRC5A); la proteasa inhibidora de la secreción de leucocitos (SLPI); la stratafina; la tetraspanina 1; la transglutaminasa 2; las mucinas (MUC1, MUC4, MUC5AC, MUC6, MUC2)[84]. Estas proteínas están sobreexpresadas en el ADCP invasivo y su expresión se incrementa paralelamente a la progresión histológica de la enfermedad[84, 134, 159].

De las alteraciones secundarias, cabe destacar la pérdida de función de los gen *CKDN2A*, situado la región cromosómica 9p21[80, 157] presente en el 80-95% de los ADCP[11], muy frecuente en los ADCP familiares y en pacientes con melanoma múltiple familiar atípico[60]); la pérdida de la región cromosómica 18q21, que conlleva la inactivación de *SMAD4*, un regulador transcripcional de la cascada de señales del TGF-Beta[37, 60, 134, 174] cuya mutación conduce a un control defectuoso de la inhibición del crecimiento, la diferenciación, la migración y la apoptosis mediados por este factor[60] y a una alteración de la interacción de la célula con su microambiente; y la inactivación del gen supresor de tumor *TP53* (50-75% de los ADCP), lo cual impide la reparación del ADN, facilitando la supervivencia y crecimiento de células portadoras de alteraciones cromosómicas complejas y la transformación maligna[60]. Otras alteraciones secundarias descritas son la amplificación y sobreexpresión del oncogén *CMYC* (8q24)[133, 134, 175, 186]; la inactivación de genes supresores de tumor *TGFBR1* (ALK5; 9q22), *TGFBR2* (3p22)[6, 11], *RB1* (13q14)[134], *MAP2K4/MKK4* (17p11), *FBXW7* (CDC4; 4q31)[11], *ACVR1B* (12q13)[11, 134], *ACVR2* (2q22), *BAX* (19q13), *FANCC* (9q22), *FANCG* (9p13)[151], *LKB1/STK11* (19q13), *PTEN* (10q23)[2] y *RUNX3* (1p36)[152]; la hipermetilación y/o mutación de genes reparadores del daño del ADN: hMLH1 (3p21), hMSH2 (2p11) y *BRCA2* (13q12)[65, 139]; y la activación de los genes *MYB* (6q21)[139], *TOP2A* (17q21), *GUCY2F* (Xq22) y *NTRK3* (15q25)[151, 159].

2. Alteraciones genéticas asociadas a ADCP familiar o hereditario.

Existen varios síndromes genéticos asociados a una mayor predisposición a padecer cáncer de páncreas: síndrome de Peutz-Jeghers, síndrome de Lynch tipo II, síndrome de melanoma familiar atípico con molas múltiples, síndrome hereditario de cáncer de mama y ovario, síndrome de poliposis adenomatosa familiar y algunos con pancreatitis hereditaria[127]. El cáncer de páncreas familiar agrupa a familias con al menos dos miembros de primer grado afectados de ADCP[9, 11] que no están incluidos en otros síndromes.

Las alteraciones genéticas más frecuentes en estos síndromes son las mutaciones germinales en los genes supresores de tumor *BRCA1* y *BRCA2* (17q21 y 13q12; respectivamente), presentándose en el 4-19% de los pacientes con historia familiar de

ADCP[139, 157, 220] y en el 7% de los ADCP esporádicos[65]. Otras mutaciones descritas afectan a los genes *LKB1/STK11*[9], *SPINK1*, *ACP*, *PRSS1*[11] y *ATM*[217] y a las alteraciones en los genes reparadores del ADN, *hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH2*, *hMSH6*, *hPMS1* y *hPMS2*[9]

3. Modelos genéticos de progresión tumoral.

Se postula que las alteraciones que tienen lugar en las lesiones premalignas ocurren en una secuencia temporal bien definida[84, 127, 150, 246]: las alteraciones primarias iniciarían el crecimiento neoplásico (mutaciones puntuales activadoras del gen *KRAS*, acortamiento de los telómeros, expresión de genes de las vías del desarrollo HH y Notch). Posteriormente, se inactivarían los genes *CDKN2A/p16*, *SMAD4/DPC4*, *TP53*, *BRCA2*, y se produciría la sobreexpresión de maspina[60, 85, 139, 159, 247]. Las alteraciones secundarias serían más tardías y se asociarían a la transformación maligna, crecimiento e invasión tumoral, afectando principalmente a los genes *CDKN2A*, *SMAD4/DPC4*, *TP53* y *BRCA2*[60, 85, 139, 159, 247].

4. Impacto pronóstico de las alteraciones genéticas del ADCP.

Se han descrito algunas alteraciones que podrían estar relacionadas con una SG más corta, como la activación del oncogen *KRAS*[20, 251-253], las mutaciones del gen *TP53* y la sobreexpresión del gen *EGFR*[256], aunque muchos de estos resultados no han podido ser confirmados. La activación de *KRAS*[20, 251-253] y las pérdidas de *SMAD4*[11], podrían estar relacionados con el desarrollo de metástasis a distancia[11], mientras que la sobreexpresión de *MUC17* podría tener significado pronóstico en relación con la presencia de metástasis linfáticas[264].

Algunos estudios relacionan perfiles de expresión genética con la respuesta al tratamiento con quimioterapia (especialmente gemcitabina) y radioterapia. En este sentido parece que los pacientes con sobreexpresión del gen *hENT1* se beneficiarían en mayor medida de la quimioterapia adyuvante con gemcitabina tras resección curativa del tumor[93] (aunque estos resultados no han podido ser contrastados en otros estudios[94]), y el aumento de expresión de la proteína HuR de unión al ARN y de miR-2111 se asociaría a una mayor SG en pacientes tratados con gemcitabina [21, 267].

5. Terapias dirigidas en el ADCP.

A pesar tanto del desarrollo de las técnicas quirúrgicas como de las médicas, el ADCP continúa presentando una baja supervivencia, razón por la cual se están realizando múltiples ensayos sobre moléculas que pueden intervenir en el proceso de proliferación e invasión de las células tumorales, tales como *EGFR*, *BRCA1/2*, *RAS*, así como los reordenamientos en los genes *NTRK*. La filosofía que subyace detrás de este concepto es que, siendo capaces de identificar las alteraciones genéticas responsables de la génesis tumoral y/o progresión de la enfermedad, sería posible desarrollar un inhibidor específico contra las células portadoras de esa mutación, y de esta manera conseguir mejores resultados en términos de supervivencia y calidad de vida. Dicho de otro modo, consiste en colocar la diana terapéutica en el origen genético o proteico del proceso de carcinogénesis y crecimiento tumoral. Por tanto, estos medicamentos *dirigidos* o de *alta precisión* funcionan de forma diferente a la quimioterapia convencional, generalmente en forma de inmunoterapia a base de anticuerpos monoclonales (AcMo).

En los últimos años, se han puesto en marcha diversos ensayos clínicos de terapias dirigidas específicas en diversos tipos de cáncer, tales como mama, gástrico, o colorrectal. En este sentido, destaca el ensayo publicado por los investigadores del Memorial Sloan Kettering Cancer Center, en el que se han incluido hasta la fecha a 12 pacientes con adenocarcinoma de recto localmente avanzado no resecable con inestabilidad de microsatélites por deficiencia en más de una proteína involucrada en la reparación de errores del emparejamiento (MMR) del ADN; mediante la administración del anticuerpo monoclonal anti-PD1 dostarlimab, y sin otra terapia sistémica, ni radioterapia ni tratamiento quirúrgico, han conseguido remisión completa tumoral en todos los pacientes sometidos al ensayo, sin objetivarse resto de tumor al examen clínico ni en las exploraciones complementarias, tras un tiempo de seguimiento de 6 a 22 meses[283]. Hasta el momento presente, éste constituye el mayor avance en este campo, siendo un hito histórico y esperanzador. Sin embargo, sólo un pequeño porcentaje de pacientes con determinadas alteraciones genéticas son susceptibles de beneficiarse de estos tratamientos (7% cáncer de recto con inestabilidad de microsatélites), su eficacia en la mayoría de los casos aún genera controversia, y los efectos secundarios aún pueden llegar a ser altamente invalidantes.

En el caso del ADCP, las terapias dirigidas ensayadas hasta este momento han sido las siguientes[284-286]:

a) Inhibidores de EGFR

La sobreexpresión de EGFR, receptor del factor de crecimiento epidérmico, puede detectarse hasta en el 90% de los tumores de páncreas. La sobreexpresión se correlaciona con una enfermedad más avanzada, una mala supervivencia y la presencia de metástasis. La FDA ha aprobado erlotinib en combinación con gemcitabina, para el tratamiento del cáncer de páncreas localmente avanzado, inoperable o metastásico en pacientes con mutaciones de EGFR y que no habían recibido tratamiento antineoplásico sistémico previo. El erlotinib es un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Inhibe de forma potente la fosforilación intracelular del EGFR expresado como antígeno de superficie celular, mediante la inhibición de la tirosin-cinasa específica del receptor de factor de crecimiento epidérmico humano tipo 1 (HER-1). Los estudios no reflejan de forma concluyente un claro beneficio en la SG de los pacientes que reciben esta combinación, ni siquiera en el subgrupo de pacientes que presentan la mutación específica[287-292]. Entre los efectos secundarios menos comunes, pero más graves, se incluyen enfermedad pulmonar grave, insuficiencia renal o hepática, perforaciones gastrointestinales espontáneas, graves afecciones de la piel y tendencia al sangrado o la trombosis. Al igual que sucede en el cáncer de pulmón, los pacientes que presentan la mutación T790M confiere resistencia a los tratamientos anti-EGFR y en este caso se utiliza el osimertinib.

b) Inhibidores de PARP

Mutaciones en los genes *BRCA* (*BRCA1* o *BRCA2*) permiten que las células tumorales puedan continuar dividiéndose sin control. En este sentido, se han desarrollado terapias contra la enzima poli ADP-ribosa polimerasa (PARP), involucradas en otro proceso de reparación del ADN. Al bloquearlo, dificulta en gran medida que las células del tumor *BRCA* mutado reparen el ADN dañado, lo cual desencadenaría la apoptosis de estas células.

El olaparib, como fármaco inhibidor de PARP, se ha utilizado como tratamiento de mantenimiento en el contexto de un ensayo clínico aleatorizado fase III (POLO) para tratar el cáncer pancreático metastásico en pacientes con alguna mutación en *BRCA1/2* y con ausencia de evidencia de progresión tumoral al menos cuatro meses tras quimioterapia adyuvante, que haya incluido un medicamento de platino (como el oxaliplatino o cisplatino), demostrando en sus resultados preliminares un incremento en la supervivencia libre de enfermedad (7.4 meses vs. 3.8 meses con placebo; $p=0.004$)[293]. Los primeros estudios en pacientes con ADCP avanzado han mostrado una respuesta favorable previa a adyuvancia basada en platino para otras alteraciones en los genes involucrados en la recombinación homóloga (HDR), mecanismo por el cual las células reparan el ADN dañado[294].

c) Inhibidores de NTRK

Las fusiones genéticas que comprometen los genes NTRK1, NTRK2, o NTRK3 pueden dar lugar a varios tipos de cáncer, siendo los más frecuentes los sarcomas, los tumores del estroma gastrointestinal (GIST, por sus siglas en inglés), de pulmón y de páncreas, aunque pueden estar presentes en cualquier tipo de tumor sólido. El tratamiento con larotrectinib o entrectinib puede emplearse en pacientes con cáncer de páncreas o con cualquier otra neoplasia que presenten este cambio genético[295]. El larotrectinib se ha ensayado tanto en adultos como en pacientes pediátricos, con o sin tratamiento sistémico previo. Los investigadores publicaron datos de respuesta parcial objetiva del tumor en el 64% de los pacientes[296]. Se objetivaron mutaciones que alteraron el dominio de la TRK quinasa y que promovían la resistencia a esta terapia, motivo por el cual se desarrolló el agente LOXO-195, específico para pacientes que presentan la mutación y además resistencia al larotrectinib. El entrectinib inhibidor de tirosin kinasa aprobado para cualquier tipo de tumor sólido con reordenamientos *NTRK* que no pueda ser abordable quirúrgicamente, independientemente de tratamientos sistémicos previos. La eficacia de Rozlytrek fue evaluada en un subgrupo integrado de pacientes adultos con tumores sólidos no resecables o metastásicos con una fusión en alguno de los genes NTRK reclutados en uno de los tres ensayos clínicos multicéntricos. Las variables principales de eficacia fueron la tasa de respuesta objetiva y la duración de la respuesta, evaluadas por un grupo de revisión central independiente. Los resultados de eficacia se resumen en una tasa de respuestas objetivas del 63'5%, la mayoría parciales[297]. Se trata de estudios con tamaño muestral pequeño y sin grupo de comparación dado lo infrecuente de estos reordenamientos en las neoplasias de páncreas (<1%).

d) Inhibidores de RAS

Por último, el iniciador genético más frecuente del cáncer de páncreas proviene de mutaciones en el gen *KRAS*, que ocurren en alrededor del 90% de los tumores de páncreas. Su estructura genética, ha hecho que *KRAS* sea aparentemente no quimiomodulable. Se están desarrollando nuevos fármacos dirigidos a una mutación muy específica dentro de *KRAS*, denominada *KRAS* G12C. Esta mutación se encuentra presente en un 2% de las neoplasias pancreáticas y actualmente está en marcha un ensayo en fase II conocido como KRYSTAL-1, e con unos resultados muy prometedores para los pacientes que presentan esta mutación y son tratados con el adagrasib.

Introducción

Adenocarcinoma ductal de páncreas (ADCP): epílogo.

Todo lo expuesto anteriormente refuerza varios paradigmas del ADCP: i) que se trata de un tumor frecuentemente avanzado al diagnóstico, siendo la mayoría de las veces incurable por localmente avanzado o metastásico; ii) que el mayor impacto en la supervivencia radica en la detección y actuación en fases más tempranas de la enfermedad, previamente a la invasión locorregional y a la aparición de metástasis[80]; iii) que a pesar de los importantes avances científicos sobre la biología y la genética del ADCP realizados en los últimos años gracias a las técnicas de genómica y proteómica de alto rendimiento, las características biológicas del tumor tienen un escaso impacto pronóstico frente a los aspectos clínicos directamente relacionados con el manejo del paciente.

Hipótesis y Objetivos

El adenocarcinoma ductal de páncreas (ADCP) es uno de los tipos de cáncer más letales; la mayoría de los pacientes fallecen durante los primeros 6 meses tras el diagnóstico de la enfermedad. Con una tasa de supervivencia del 5% a los 5 años, es la cuarta causa de muerte relacionada con cáncer en los países desarrollados. El único tratamiento potencialmente curativo es la resección quirúrgica del tumor, pancreatectomías o duodenopancreatectomías. Sin embargo, sólo el 15-20% de los pacientes presentan un tumor resecable en el momento del diagnóstico. Sin embargo, es bien sabido que los pacientes con margen quirúrgico retroperitoneal positivo (R1) tras la resección tumoral completa, frecuentemente tienen peores tasas de supervivencia que aquéllos intervenidos con márgenes negativos (R0), independientemente de la afectación ganglionar u otros factores pronósticos. Otros factores pronósticos que han sido descritos como significativos, favoreciendo la supervivencia a largo plazo tras pancreatectomía o pancreatoduodenectomía, son la edad (<70 años), el tamaño tumoral (<20-30 mm), el número de ganglios linfáticos regionales afectados (<2), niveles séricos preoperatorios normales del CA 19-9 en sangre periférica (<37 U/ml), y estadio tumoral IA según la AJCC. A pesar de estos conocimientos y de su continua actualización, no existe un consenso en la comunidad científica en cuanto a los diferentes factores pronósticos descritos por los diferentes grupos de investigación, probablemente debido a la gran variabilidad del tipo de muestra estudiada, en la selección de los pacientes, en los métodos empleados (diferentes sistemas de gradación del tumor) y al tamaño muestral estudiado. Por ejemplo, los valores de CA 19-9 sérico que han sido descritos como factor pronóstico independiente presentan unos umbrales muy variables (rango 37 - 1000 U/ml). Del mismo modo ocurre con el tamaño tumoral, encontrándonos en la literatura umbrales para el pronóstico de la enfermedad de 20 a 30 mm.

En la última década se ha avanzado notablemente en el conocimiento de los factores biológicos y genéticos del ADCP. Sin embargo, hasta la fecha el pronóstico de los pacientes aquejados de la enfermedad apenas ha variado, a penas de un mes a lo largo de los últimos 25 años. La amplia disparidad existente en la literatura acerca de los principales factores pronósticos de la enfermedad y su relevancia podrían explicar por qué pacientes clasificados de alta riesgo exceden en términos de supervivencia a otros que presentan características clínico-biológicas más favorables. En este sentido, un análisis detallado de las características clínicas e histopatológicas en una serie larga de pacientes asociadas al

pronóstico de la enfermedad tras cirugía con intención curativa, operados en un mismo centro y por el mismo equipo de cirujanos, podría aclarar cuales son los factores pronósticos con mayor influencia en la SG del paciente.

El **objetivo principal** del estudio fue analizar las principales características clínicas, histopatológicas y evolutivas de la enfermedad (*edad del paciente, localización y tamaño tumoral, tipo de cirugía realizada, clasificación histológica del tumor, afectación ganglionar, estadio según la AJCC, tipo de resección quirúrgica (R0 o R1), invasión retroperitoneal y/o perineural, niveles séricos de CA 19-9 preoperatorio y grado histológico del tumor*) en una serie larga de pacientes, con el fin de determinar cuáles son los factores pronósticos independientes asociados a la supervivencia de los pacientes con ADCP sometidos a cirugía resectiva con intención curativa en el Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA) que nos puedan ayudar a predecir la evolución de la enfermedad y al manejo clínico del paciente.

Para ello, nos planteamos los siguientes **objetivos específicos**:

- 1) Identificar las características clínico-biológicas e histopatológicas de la enfermedad con influencia significativa en la SG de una serie larga de pacientes.
- 2) Establecer las posibles correlaciones existentes entre las variables estudiadas, a través de la integración de datos clínicos e histopatológicos y los diferentes patrones de comportamiento del tumor, haciendo hincapié en la identificación de factores pronósticos independientes que nos puedan predecir la agresividad del tumor.

Material y Métodos

Se llevó a cabo un estudio observacional utilizando como herramienta una base de datos recogidos de forma prospectiva, en la que se incluyeron 78 casos consecutivos de pacientes adenocarcinoma ductal de páncreas (ADCP) sometidos a resección quirúrgica de con intención curativa (R0), diagnosticados desde Febrero de 2003 a Mayo de 2014, en el Servicio de Anatomía patológica del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA). Todas las cirugías fueron llevadas a cabo por la Unidad de Cirugía Hepato-Bilio-Pancreática del CAUSA, previo consentimiento informado normalizado según modelos de la Asociación Española de Cirujanos en todos los pacientes. Siguiendo los protocolos locales del Comité de Tumores del área Hepato-Bilio-Pancreática, ninguno de los pacientes recibió quimioterapia ni radioterapia preoperatoria, ni ninguna otra neoadyuvancia previa a la intervención quirúrgica. Cabe señalar, que 41 pacientes (53%) necesitaron drenaje biliar preoperatorio mediante colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) y colocación de prótesis plástica en colédoco previa a la resección quirúrgica. Los criterios de exclusión de pacientes del estudio comprenden aquéllas cirugías en las que no fue posible una resección con intención curativa: presencia de metástasis hepáticas objetivadas durante la exploración quirúrgica, adenopatías interaortocava con presencia de infiltración por el tumor (se consideran metástasis a distancia), intervenciones de derivación biliar o biliopancreática paliativa. Sin embargo, se incluyeron todos los pacientes con tumores clasificados preoperatoriamente como *borderline* resecables, al estimarse posible llegar a completar una resección R0. Todas las piezas de resección fueron estudiadas por el mismo grupo de patólogos especialistas en histopatología del aparato digestivo del Departamento de Anatomía Patológica del CAUSA, usando la clasificación propuesta por Adsay *et al.* para definir el grado histológico tumoral. Cada pieza fue reevaluada por un segundo patólogo del mismo grupo de trabajo de forma independiente. Sólo 6 casos fueron considerados *borderline* al diagnóstico y todos ellos fueron intervenidos con intención curativa. La mediana de tiempo de seguimiento postoperatorio fueron 19,7 meses.

Fuente de obtención y recogida de datos. La recogida de los datos epidemiológicos, clínicos y patológicos para la obtención de las variables se llevó a cabo mediante la revisión de los informes del Servicio de Anatomía Patológica mediante la búsqueda en la base de datos del Servicio (PAT-Win).

Estudio morfológico. Para llevar a cabo los estudios morfológicos, identificamos los cristales de cada uno de los pacientes incluidos en el presente estudio y se marcaron las zonas más representativas de cada tumor mediante el análisis al microscopio óptico de las preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina (HE).

Estudio de inmunohistoquímica (IHQ) y anticuerpos usados: Las técnicas de IHQ se realizaron de manera automática mediante el inmunoteñidor/procesador BOND-III (Leica Biosystems; Barcelona, España) así como el Sistema VENTANA HE 600 (Roche Diagnostics).

Búsqueda bibliográfica. Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura publicada entre el año 2000 y 2017 sobre los factores pronósticos en el ADCP. Se revisaron las bases PubMed, Cochrane library, Embase y Google Scholar.

Análisis estadístico. La media y la desviación estándar de todas las variables continuas se calculó utilizando el software SPSS (SPSS 22.0 Inc, Chicago, IL USA). Para evaluar la significación estadística de las diferencias halladas entre los grupos, se emplearon la T de Student o la U de Mann-Whitney (dependiendo de si la variable sigue o no una distribución normal) en el caso de las variables cuantitativas, y el test χ^2 para las variables cualitativas. Se obtuvieron curvas de supervivencia global (SG) según el método de Kaplan-Meier, y se usó el log-rank test de una vía para conocer la influencia de las variables estudiadas en el pronóstico de la enfermedad. Finalmente, se llevó a cabo un análisis multivariante incluyendo aquellas variables con significación estadística en el análisis univariante, mediante modelo de regresión de Cox. Se consideró significación estadística con intervalos de confianza del 95%, y p-valor de <0.05 .

Resultados

1. Características clínicas y biológicas de pacientes con ADCP de bajo grado (G1) vs. grado moderado-alto (G2-G3)

En términos generales, pacientes con ADCP de alto grado histológico presentaron tumores de mayor tamaño tumoral ($p=0.009$) en comparación con los casos de bajo grado. Desde el punto de vista del impacto pronóstico, los tumores de alto grado mostraron una frecuencia de decesos más alta asociada a una menor SG (mediana de SG 12.5 meses vs. 21.7 meses; $p=0.06$). Por el contrario, no se observó diferencias significativas entre los tumores de alto y bajo grado en lo relativo a edad, sexo, localización tumoral, obstrucción biliar preoperatoria, drenaje biliar preoperatorio, tipo de cirugía realizada, tamaño tumoral, afectación de ganglios linfáticos, niveles séricos de CA 19.9, ni en cuanto al grado de invasión retroperitoneal, vascular ni perineural. Además, como cabría esperar, a mayor grado histológico tumoral mayor es el número de fallecimientos ($p=0.06$). El análisis comparativo de las características clínico-biológicas de la enfermedad de los pacientes con ADCP de bajo y alto grado estudiados se puede observar en la tabla 7. Cuando realizamos el estudio de las características clínico-biológicas de la enfermedad analizando cada grado histológico por separado, sólo se observó una asociación significativa con el tamaño del tumor, con una mediana de 25 mm vs. 30 mm vs. 33 mm para los grados G1, G2 y G3; respectivamente ($p=0.035$). A mayor grado histológico se observa un mayor tamaño del tumor, con una diferencia más acusada entre el bajo grado (G1) y el resto (G2-G3), que entre grado intermedio y alto. Dicho análisis comparativo se describe en la Tabla 8.

Tabla 7. Características clínico-biológicas de los tumores de bajo (n=32) vs. alto grado (n=46) en los pacientes con ADCP estudiados.

Característica	Número de pacientes (%)		p-valor	Total de casos (n=78)
	Bajo Grado (n=32)	Alto Grado (n=46)		
Sexo				
Masculino	20 (24)	27 (35)	NS	47 (60)
Femenino	12 (15)	19 (24)		31 (40)
Edad (años)*	67 (33-79)	70 (41-84)	NS	68 (33-84)
Localización del tumor primario				
Cabeza	30 (38)	40 (51)	NS	70 (90)
Cuerpo/Cola	2 (3)	6 (8)		8 (10)
Tipo de técnica quirúrgica				
DPC	28 (36)	36 (46)		64 (82)
PCC	2 (3)	4 (5)	NS	6 (8)
DPT	2 (3)	6 (7)		8 (10)
Tamaño tumoral (cm)*	25 (14-65)	30 (15-60)	0.009	30 (14-65)
Clasificación histopatológica del tumor primario (pT)				
pT1-pT2	11 (14)	11 (14)	NS	22 (28)
pT3-pT4	21 (27)	35 (45)		56 (72)
Afectación histopatológica ganglios linfáticos regionales (pN)				
pN0	12 (15)	16 (21)	NS	28 (36)
pN1	20 (26)	30 (38)		50 (64)
Lymph Node Ratio (LNR)				
0	12 (15)	16 (20)		28 (36)
0-0.20	14 (18)	24 (31)	NS	38 (49)
>0.20	6 (8)	6 (8)		12 (15)
Estadio AJCC				
IA-IB	5 (6)	6 (8)	NS	11 (13)
IIA-IIIB	27 (35)	40 (51)		68 (87)
Tipo de resección quirúrgica				
R0	20 (26)	31 (40)	NS	51 (65)
R1	12 (15)	15 (19)		27 (35)
Invasión retroperitoneal				
Ausente	20 (26)	32 (41)	NS	52 (67)
Presente	12 (15)	14 (18)		26 (33)
Invasión vascular				
Ausente	24 (31)	32 (41)	NS	56 (72)
Presente	8 (10)	14 (18)		22 (28)
invasión perineural				
Ausente	9 (12)	12 (15)	NS	21 (27)
Presente	23 (29)	34 (44)		57 (73)
Tratamiento adyuvante				
Sí	24 (31)	36 (46)	NS	60 (77)
No	8 (10)	10 (13)		18 (23)
CA 19.9 (ng/ml)*	150 (0.6-17636)	120 (2.5-2548)	NS	130 (0.6-17636)
Decesos**	20 (26)	38 (49)	0.06	68 (87)
Seguimiento (meses)	26 (21.8-29.5)	16 (11.2-20.9)	NS	20 (16.7-22.6)
SG (meses)	22 (2.4-92)	13 (0.1-111.2)	0.06	17 (0.1-111.2)

*Resultados expresados como mediana (rango); NS: estadísticamente no significativo ($p>.05$); AJCC: American Joint Committee on Cancer; R0, márgenes de resección microscópicamente negativos; R1, márgenes de resección microscópicamente positivos; Lymph node ratio (Índice LNR) expresado como número de ganglios positivos sobre el total de ganglios analizados; DPC: duodenopancreatectomía cefálica; PCC: pancreatectomía córpore-caudal; DPT: duodenopancreatectomía total; CA19.9: antígeno carbohidrato 19.9; SG: supervivencia global.

Tabla 8. Características clínico-biológicas de los tumores de bajo (n=32) vs. intermedio (n=19) vs. alto grado (n=27) en los pacientes con ADCP estudiados

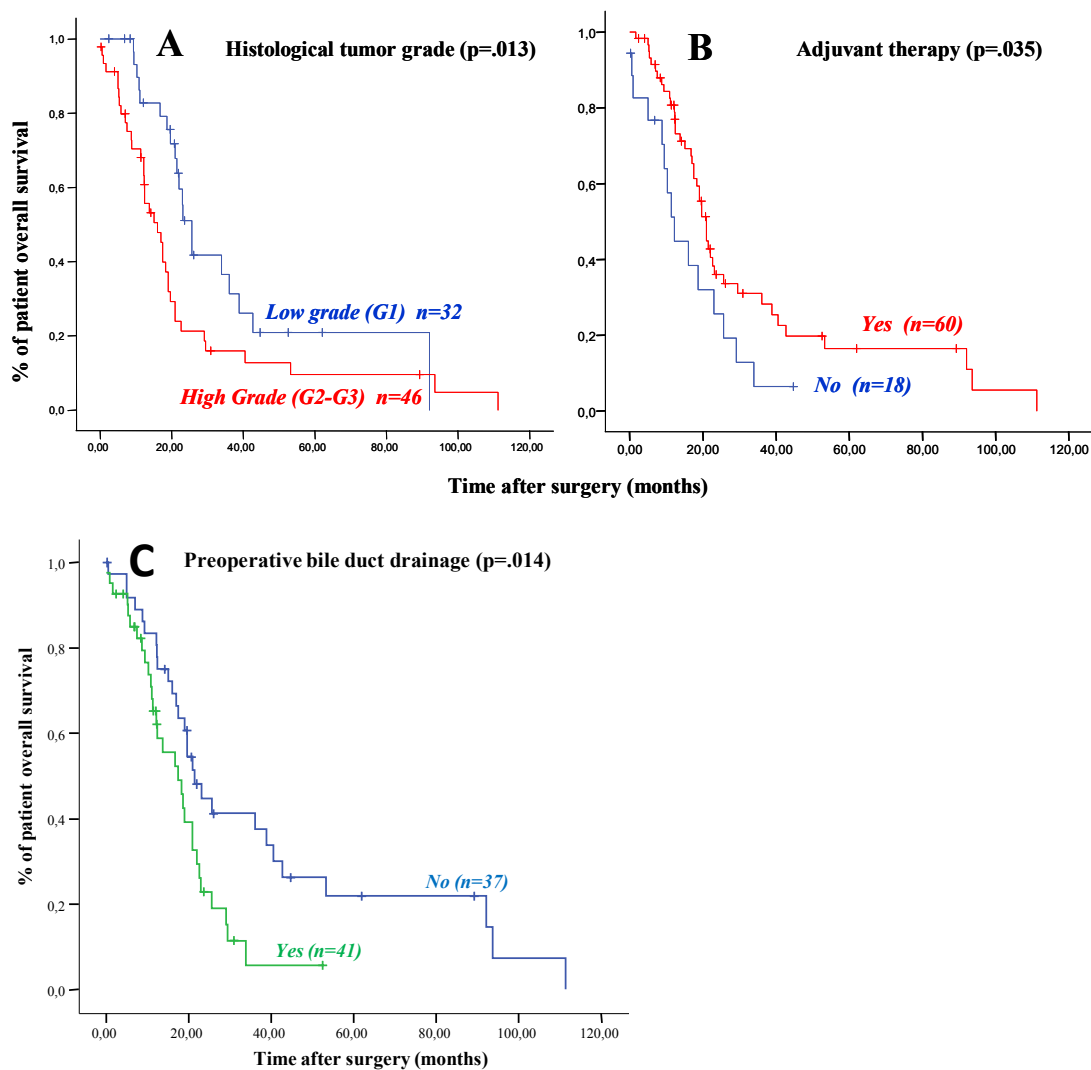
Característica	Nº pacientes (%)			p-valor	Total casos (n=78)
	G1 (n=32)	G2 (n=19)	G3 (n=27)		
Sexo					
Masculino	20 (43)	14 (30)	13 (27)	NS	47 (60)
Femenino	12 (39)	5 (16)	14 (45)		31 (40)
Edad (años)*	67 (33-79)	70 (45-84)	72 (41-81)	NS	68 (33-84)
Localización del tumor primario					
Cabeza	30 (43)	16 (23)	24 (34)	NS	70 (90)
Cuerpo/Cola	2 (25)	3 (37.5)	3 (37.5)		8 (10)
Obstrucción preoperatoria de vía biliar					
Presente	25 (40)	13 (21)	24 (39)	NS	62 (79)
Ausente	7 (44)	6 (37)	3 (19)		16 (21)
Drenaje preoperatorio de vía biliar					
Sí	17 (41)	9 (22)	15 (37)	NS	41 (53)
No	15 (41)	10 (27)	12 (32)		37 (47)
Tipo de técnica quirúrgica					
DPC	28 (44)	15 (23)	21 (33)	NS	64 (82)
PCC	2 (33)	1 (17)	3 (50)		6 (8)
DPT	2 (25)	3 (37.5)	3 (37.5)		8 (10)
Tamaño tumoral (cm)*	25 (14-65)	30 (20-60)	33 (15-58)	0.035	30 (14-65)
Clasificación histopatológica del tumor primario (pT)					
pT1-pT2	11 (50)	6 (27)	5 (23)	NS	22 (28)
pT3-pT4	21 (38)	13 (23)	22 (39)		56 (72)
Afectación histopatológica ganglios linfáticos regionales (pN)					
pN0	12 (43)	6 (21)	10 (36)	NS	28 (36)
pN1	20 (40)	13 (26)	17 (34)		50 (64)
Lymph node ratio (LNR)					
0	12 (43)	6 (21)	10 (36)	NS	28 (36)
0-0.20	14 (37)	11 (29)	13 (34)		38 (49)
>0.20	6 (50)	2 (17)	4 (33)		12 (15)
Estadio AJCC					
IA-IB	5 (46)	3 (27)	3 (27)	NS	11 (13)
IIA-IIIB	27 (40)	16 (24)	24 (36)		68 (87)
Tipo de resección quirúrgica					
R0	20 (39)	10 (20)	21 (41)	NS	51 (65)
R1	12 (44)	9 (34)	6 (22)		27 (35)
Invasión retroperitoneal					
Absent	20 (38)	12 (21)	22 (41)	NS	54 ()
Present	12 (46)	7 (29)	5 (21)		24 ()
Invasión vascular					
Absent	24 (43)	13 (23)	19 (34)	NS	56 (72)
Present	8 (36)	6 (28)	8 (36)		22 (28)
invasión perineural					
Absent	9 (43)	5 (24)	7 (33)	NS	21 (27)
Present	23 (40)	14 (25)	20 (35)		57 (73)
Tratamiento adyuvante					
Yes	24 (40)	15 (25)	21 (35)	NS	60 (77)
No	8 (45)	4 (22)	6 (33)		18 (23)
CA 19.9 (ng/ml)*	150 (0.6-17636)	56 (2.50-2548)	138 (2.50-500)	NS	130 (0.6-17636)
Seguimiento (meses)	26 (21.8-29.5)	13 (9.1-15.9)	17 (13.1-21.9)	NS	20 (16.7-22.6)
SG (meses)	22 (2.4-92)	19 (0.6-93.6)	20 (0.1-111.2)	NS	17 (0.1-111.2)

*Resultados expresados como mediana (rango); NS: estadísticamente no significativo ($p > .05$); AJCC: American Joint Committee on Cancer; R0, márgenes de resección microscópicamente negativos; R1, márgenes de resección microscópicamente positivos; Lymph node ratio (índice LNR) expresado como número de ganglios positivos sobre el total de ganglios analizados; DPC: duodenopancreatectomía cefálica; PCC: pancreatomectomía córpore-caudal; DPT: duodenopancreatectomía total; CA19.9: antígeno carbohidrato 19.9; SG: supervivencia global.

2. Impacto pronóstico de las características clínico-biológicas e histopatológicas de la enfermedad

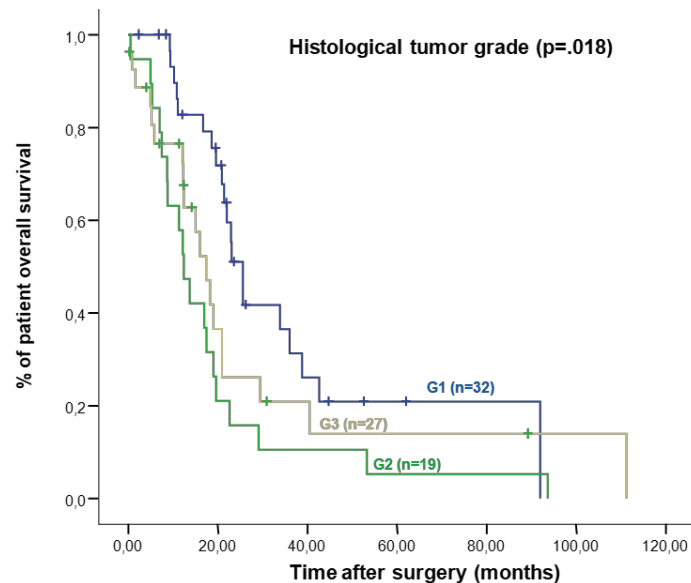
Desde el punto de vista pronóstico, los factores asociados de forma estadísticamente significativa a una menor supervivencia fueron: a) alto grado histológico ($p=0.013$); b) drenaje preoperatorio de vía biliar principal ($p=0.014$); y c) ausencia de tratamiento adyuvante ($p=0.035$), tal y como se muestra en la Figura 2.

Figura 2. Características clínico-biológicas de los pacientes de ADCP que demostraron impacto estadísticamente significativo sobre la supervivencia global en el análisis univariante: (A) grado histológico tumoral, (B) tratamiento adyuvante, y (C) drenaje preoperatorio de vía biliar, siendo los factores pronósticos independientes más importantes; $p<.05$.



Cabe destacar que al analizar la SG de los pacientes con ADCP en los 3 grupos individuales de acuerdo con el grado histológico (G1 vs. G2 vs. G3), la diferencia observada mantiene la significación estadística ($p=0.018$), como muestra la figura 3.

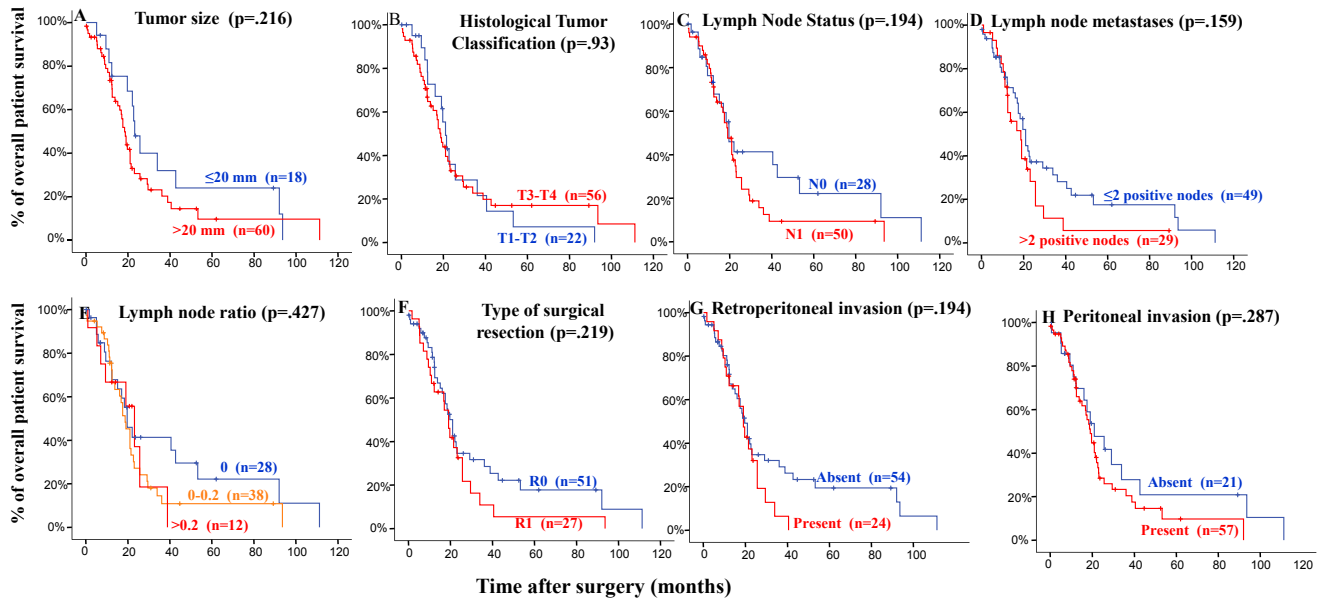
Figura 3. Curva de supervivencia global (Kaplan-Meier) mostrando el impacto estadísticamente significativo sobre la supervivencia comparando cada uno de los 3 grados histológicos (G1 v.s G2 vs. G3); $p<.05$.



3. Otras características de la enfermedad con relevancia pronóstica.

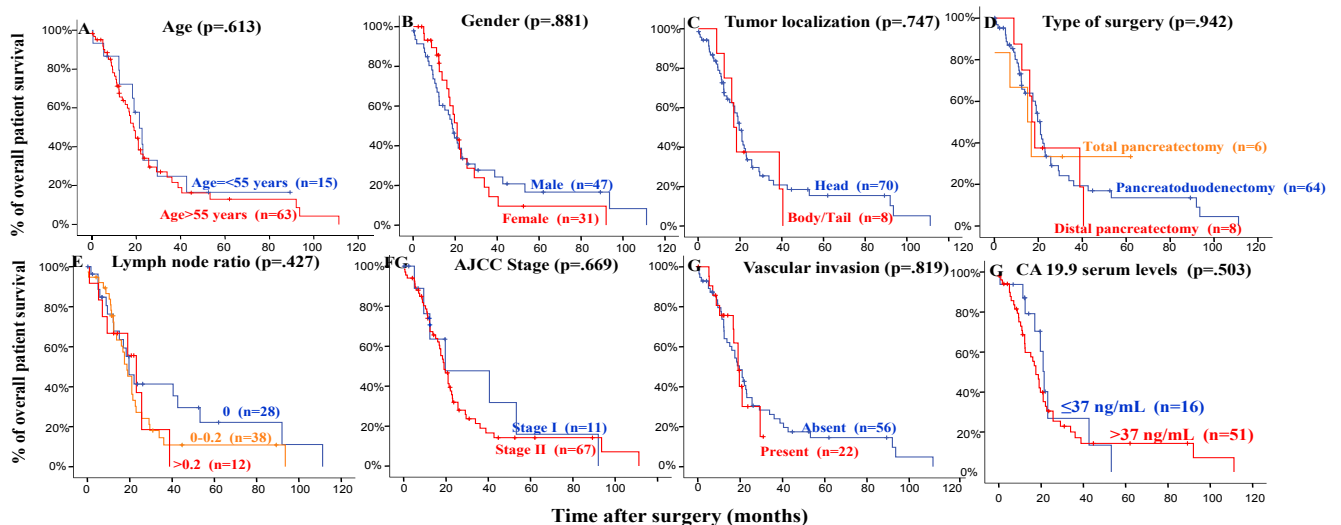
Como se observa en la Figura 4, otros parámetros clínico-biológicos presentaron un impacto negativo sobre la SG, aunque no alcanzaron la significación estadística. Entre ellos, cabe destacar el tamaño tumoral >2 cm ($p=0.216$), la clasificación histológica del estadio tumoral local pT3-T4 según la AJCC ($p=0.093$), la presencia de ganglios linfáticos metastásicos en la pieza de resección quirúrgica ($p=0.194$), la existencia de >2 ganglios linfáticos afectados ($p=0.159$), la resección quirúrgica tipo R1 ($p=0.219$), la afectación del margen retroperitoneal ($p=0.194$), y la invasión perineural ($p=0.287$).

Figura 4. Características clínico-biológicas del ADCP con impacto pronóstico no estadísticamente significativo: (A) Tamaño del tumor; (B) Grado histológico según AJCC; (C) Afectación ganglionar; (E) Número de metástasis ganglionares; (F) Tipo de resección quirúrgica; (G) Invasión del margen retroperitoneal; y (H) invasión perineural.



Por el contrario, como se muestra en la figura 5, la edad >55 años ($p=0.613$), el sexo masculino/femenino ($p=0.881$), la localización del tumor primario en cabeza o cuerpo/cola ($p=0.747$), el tipo de técnica quirúrgica empleada ($p=0.942$), el índice LNR >0.2 ($p=0.427$), el estadio tumoral II según la AJCC ($p=0.669$), la invasión vascular ($p=0.819$), y los niveles de CA 19.9 >37 ng/ml ($p=0.503$) no mostraron una influencia significativa sobre la SG al comparar las medianas de supervivencia.

Figura 5. Características clínico-biológicas del ADCP sin impacto pronóstico sobre la supervivencia global: (A) Edad; (B) Sexo; (C) Localización del tumor primario; (D) Tipo de técnica quirúrgica empleada; (E) LNR; (F) Estadio tumoral según la AJCC; (G) Invasión vascular; y (H) Niveles séricos de CA 19.9 en ng/ml.



4. Características clínico-biológicas e histopatológicas de la enfermedad valor pronóstico independiente.

No obstante, el análisis multivariante de todos los parámetros clínico-biológicos de los pacientes mostró que solo el grado histológico descrito por Adsay *et al.* y el drenaje biliar preoperatorio fueron las únicas variables pronósticas independientes de pronóstico adverso (*hazard ratio* -HR-: 1.99; p=0.019 y HR: 0.51; p=0.016, respectivamente). Las frecuencias, valores probabilísticos, *odds ratios*, *HRs* e intervalos de confianza se encuentran descritas en la Tabla 8. La predicción de la SG basada en el grado histológico demostró una sensibilidad y especificidad de 0.70 (0.36-0.81) y 0.76 (0.52-0.82) respectivamente, siendo el valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) estimados de 0.38 (0.21-0.56) y 0.83 (0.69-0.92). Por otro lado, la predicción de SG basada en el drenaje preoperatorio de la vía biliar mostró una sensibilidad de 0.60 (0.26-0.71) y especificidad de 0.66 (0.42-0.72); sus VPP y VPN fueron de 0.43 (0.28-0.66) y 0.79 (0.71-0.89), respectivamente.

Tabla 9. Análisis multivariante mostrando que el alto grado histológico y el drenaje biliar preoperatorio son los únicos predictores independientes de una corta SG (n=78).

<i>Variable</i>	<i>Odd's ratio</i> (95% CI)	p-valor	<i>Hazard ratio</i> (95% CI)	p-valor
Grado histológico tumoral				
G1	1.0		1.0	
G2-G3	2.85 (1.003-8.109)	0.045	1.99 (1.14-3.45)	0.019
Drenaje preoperatorio de vía biliar principal				
Sí	1.0		1.0	
No	0.88 (0.316-2.432)	0.504	0.51 (0.29-0.88)	0.016
Clasificación histopatológica tumoral (pT)				
pT1-pT2	1.0		1.0	
pT3-pT4	1.13 (0.368-3.435)	0.524	0.95 (0.46-2.03)	0.895
Afectación histopatológica de ganglios linfáticos regionales (pN)				
pN0	1.0		1.0	
pN1	1.679 (0.595-4.740)	0.236	1.34 (0.67-2.71)	0.421
Estadio AJCC				
IA-IB	1.0		1.0	
IIA-IIB	1.82 (0.472-7.031)	0.296	1.09 (0.32-3.75)	0.889

AJCC: American Joint Committee on Cancer; CI: intervalo de confianza.

Discusión

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la relevancia pronóstica de las diferentes características clínicas, biológicas e histopatológicas del ADCP. Nuestros datos muestran que el grado histológico del tumor (según propuesto por Adsay *et al.*) y el drenaje preoperatorio de la vía biliar son los únicos significativos como factores pronósticos independientes asociados a la supervivencia global en pacientes sometidos a resección quirúrgica de ADCP con intención curativa. Otras características como el tamaño tumoral, la presencia de metástasis ganglionares, el número de ganglios linfáticos afectados, el tipo de resección quirúrgica realizada (R0 vs. R1), la infiltración del margen retroperitoneal, y las imágenes de invasión perineural en la pieza de resección quirúrgica, han demostrado tener cierta relevancia pronóstica, pero sin significación estadística en el análisis univariante.

Numerosos estudios han descrito la importancia del grado histológico como predictor de supervivencia [61, 298-303]. Lim *et al* [298] condujeron un estudio de cohortes retrospectivo en el que hallaron una supervivencia significativamente disminuida en pacientes afroamericanos, intervenidos en instituciones no docentes, con tumores de más de 2 cm de diámetro, con grado histológico tumoral G2/G3 (moderada y pobremente diferenciados), presencia de metástasis ganglionares, ausencia de tratamiento adyuvante y con pobre estatus socioeconómico. En el trabajo llevado a cabo por Lüttges *et al* [299], el grado histológico mostró ser un factor pronóstico altamente significativo al comparar la supervivencia global de los pacientes con grados G1-G2 vs. G3; así, pacientes con tumores de alto grado histológico tumoral mostraron resultados adversos, principalmente asociado con fallecimientos precoces ($p=.0023$). Sin embargo, en una línea similar a lo encontrado en nuestro estudio, demostraron que el tipo de resección realizada (R0 vs. R1) es el parámetro individual más importante a la hora de predecir supervivencia global, seguido del grado histológico, estadio tumoral según la AJCC y la afectación ganglionar, presentando estos dos últimos, una fuerte significación estadística pronóstica en el análisis univariante. En el análisis multivariante, confirmaron que el tipo de resección y el grado histológico son los dos factores predictores de supervivencia más sólidos. Del mismo modo, en otro estudio publicado por Rochefort *et al* [300], los pacientes con tumores de bajo grado presentaron una supervivencia global media de 13 meses más en comparación con los pacientes con tumores de alto grado. Sin embargo, y al igual que ocurre con nuestros hallazgos, en el análisis multivariante el grado histológico tumoral fue el predictor

más fiable de supervivencia global, con un *HR* de 2.02 ($p < .001$). Los resultados del trabajo de Wasif *et al*[301] también señalaron al grado histológico como predictor independiente de supervivencia en el análisis multivariante, apuntando que la valoración combinada de grado histológico y estadio según la AJCC sería un herramienta útil como algoritmo a la hora de observar diferencias significativas entre ambos estadios histológicos. Tanto los trabajos de Wasif[301] como los de Rochefort[300] sugieren que la inclusión del grado histológico dentro de la clasificación TNM, contribuiría positivamente y de forma significativa a la hora de predecir supervivencia global, de manera que un estadiaje basado en la combinación de la clasificación TNM y grado histológico predeciría la supervivencia global de manera más precisa que el tamaño tumoral, la presencia de ganglios metastásicos o metástasis a distancia de forma aislada. En una línea muy similar, Hartwig *et al*[302] llevaron a cabo un estudio con un gran número de pacientes intervenidos de manera consecutiva y recolección prospectiva de datos. Sus resultados indicaron como factores independientes predictores de resultado adverso en el análisis multivariante a la edad >70 años, la diabetes mellitus no insulino-dependiente (DMNID) previa, niveles de CA 19-9 >400 U/ml, tumores pT4, metástasis a distancia, índice LNR >0.2 , y grado histológico alto (G3). Por el contrario, el análisis multivariante presentó como factores independientes de buen pronóstico a los tumores hasta pT2, los tumores bien diferenciados (grado histológico G1), y la consecución de una resección quirúrgica R0, señalando a este último como el factor de mayor importancia. A diferencia de lo que muestra nuestro estudio, los autores no encontraron al empleo de adyuvancia ninguna significación en el análisis univariante. Con estos datos, se estratificó a los pacientes en 4 subgrupos pronósticos relevantes, que permitieron mejorar la precisión pronóstica especialmente en pacientes con estadio II de la AJCC. Los autores proponían en el mencionado trabajo que no sólo el grado histológico, sino también el tipo de resección conseguida, deberían sumarse a la clasificación TNM para mejorar la estadificación y su relevancia pronóstica, especialmente en los pacientes con ADCP estadio II. El hecho de que el grado histológico posea relevancia pronóstica ocurre en muchos otros tipos de tumores, en los cuales el grado histológico es parte esencial del estadiaje, tales como en el cáncer de próstata[62], los sarcomas (cita) y algunas neoplasias óseas como los tumores de células gigantes (cita). También es ampliamente reconocida su importancia en los cánceres de colon (cita) y mama (cita). En el presente estudio, nuestros hallazgos confirmaron que la clasificación del grado histológico tumoral del ADCP según propuesta por Adsay *et al*[61] es la que mejor refleja la inmensa variabilidad y heterogeneidad histopatológica existente en este tipo de tumores, tanto intertumoral como intratumoral, del mismo modo que sucede con la clasificación de Gleason para el adenocarcinoma de próstata[62]. Para poder plantear la inclusión de un factor pronóstico dentro del estadiaje tumoral de forma sistemática, éste

debe explicar la heterogeneidad asociada a la propia historia natural del tumor, su curso clínico esperado, y el desenlace de la enfermedad.

Aparte de los grados histológicos propuestos por Adsay *et al*, varios autores han propuesto otras características de la enfermedad como predictores significativos e independientes de supervivencia global, tales como el tamaño del tumor, la afectación ganglionar e índice LNR, la infiltración tumoral del margen de resección quirúrgica, el estadio según la AJCC, la localización del tumor, la invasión vascular y/o perineural, los niveles séricos anormalmente elevados de CA 19-9 y la administración de tratamiento adyuvante, entre otros[298, 303-314].

El tamaño del tumor primario ha sido considerado clásicamente como un factor pronóstico de relevancia. Estudios con un gran tamaño de muestra han arrojado resultados de SG a 5 años con una mediana de supervivencia significativamente mejor en tumores de pequeño tamaño ($\leq 20\text{-}30\text{ mm}$)[298, 315-318]. En un estudio por Meyer *et al*[315] donde se analizaban los factores clínico-biológicos de pacientes intervenidos de ADCP con intención curativa y con resección R0, los autores hallaron una diferencia de supervivencia a 5 años de 5% en pacientes con afectación ganglionar hasta el 26,5% en pacientes sin afectación ganglionar. Sin embargo, a pesar de este halazgo, los únicos factores independientes de relevancia pronóstica en el análisis multivariante fueron la invasión de vasos linfáticos, el tamaño tumoral con umbral en los 2 cm, y el grado histológico. En otro estudio, Pantalone *et al*[316] describen una supervivencia a 5 años en pacientes operados de ADCP del 16% que se eleva hasta el 33% en los pacientes con tumores de 2 cm ó menos (pT1), con una importante significación estadística ($p < .01$). Sin embargo, más de la mitad de los pacientes sometidos a cirugía resectiva incluidos en el estudio fueron intervenidos con intención puramente paliativa.

Por otro lado, numerosos estudios avalan que la presencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales es uno de los mejores predictores de resultado adverso, así como el índice LNR[298, 303-306, 319-325]. Benassai *et al*[304] describen como factores independientes predictores de pobre supervivencia la presencia de metástasis ganglionares, el tamaño tumoral $>3\text{ cm}$, y la afectación de los márgenes quirúrgicos de resección ($p < 0.001$), seguido del alto grado histológico ($p < 0.006$). El número de ganglios linfáticos extirpados es de una crucial importancia, ya que aquellos pacientes clasificados como pN0 con menos de 12 ganglios extirpados en la pieza quirúrgica pueden ser fácilmente infraestadificados[324]. En este sentido, Huebner *et al*[325] encontraron diferencia significativa en la supervivencia a 3 años de los pacientes pN0 con >12 ganglios evaluados en la pieza de los pacientes con <12 ganglios extirpados; por el contrario, en pacientes pN1 el mejor predictor de supervivencia global a 3 años fue el índice $\text{LNR} > 0.17$, asociado a resultado adverso con un *hazard ratio* de 1.76 (1.3-2.4; $p = 0.001$). Berger *et*

al[320] validaron en su estudio el valor pronóstico del índice LNR al subestratificar a los pacientes en 3 grupos (0, 0-0.15, >0.15), resultando en dicha investigación el factor predictor significativo más fiable de supervivencia global ($p=0.037$) y de supervivencia libre de enfermedad ($p=0.013$). En la misma línea, Pawlik *et al*[321], hallaron diferencias significativas entre la supervivencia de pacientes con metástasis ganglionares y aquellos sin afectación linfática (16.5 meses vs. 25.3 meses, respectivamente; $p=.001$). Del mismo modo, observaron que la mediana de supervivencia global empeoraba a medida que lo hacía el índice LNR, pasando de una mediana de supervivencia de 25.3 meses para los pacientes con LNR=0, a una de tan sólo 12.2 meses para pacientes con LNR >0.4 ($p=.001$). Con estos datos afirmaron que el índice LNR era el factor predictor de supervivencia más importante, y el único independiente en el análisis multivariante ($p<.001$). Riediger *et al*[322] afirmaron que el índice LNR era el factor pronóstico más importante tras resección de ADCP con intención curativa, con mayor riesgo relativo (RR) a mayor LNR (para LNR>0.3, RR 2.2; $p<0.001$), seguido de la afectación de márgenes quirúrgicos (RR 1.7, $p<0.02$), y del grado histológico pobremente diferenciado (RR 1.5, $p<0.03$). Debido al fenómeno de “migración de estadio”, algunas investigaciones han propuesto al índice LNR como el mejor factor predictivo en pacientes sometidos a cirugía resectiva con intención curativa, sugiriendo que no sólo podría ser útil para estratificar a los pacientes con fines científicos, sino que debería ser calculado de forma sistemática en la práctica clínica habitual para la indicación o no, de terapia adyuvante[320-323]. Los resultados de estas investigaciones difieren de lo hallado en nuestro estudio, donde el índice LNR no ha demostrado relevancia pronóstica alguna. No obstante, los pacientes con ganglios infiltrados por el tumor no constituyen un grupo homogéneo.

Pocos estudios analizan el impacto del número de ganglios positivos en la pieza de resección. Tummala *et al*[311] encontraron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia global a 5 años al dividir a los pacientes en subgrupos con ≤ 1 vs. ≥ 2 metástasis ganglionares, así como entre tumores mayores o menores de 25 mm. En la misma línea, Zacharias *et al*[305] hallaron idénticas diferencias al estudiar a subpoblación de pacientes sometidos a exéresis tumoral completa (R0), con una supervivencia a 5 años del 44% para el grupo de pacientes con 0-1 metástasis ganglionares, frente a tan sólo un 5% en el grupo con 2 ó más ganglios linfáticos afectados. Para Kimura *et al*[], el predictor independiente más importante de supervivencia a 5 años era la existencia de <2 metástasis ganglionares (OR 6.02; $p=.038$), seguido de niveles de CA 19-9 <40 U/ml (OR 5.02; $p=.0036$), y la resección R0 (OR 3.63; $p=.0316$).

Dado que la resección quirúrgica radical continúa siendo la única opción potencialmente curativa, es lógico sugerir que tanto los márgenes quirúrgicos libres como la obtención de una resección R0 debería tener una gran relevancia pronóstica[310, 311,

326-328], aún más si cabe con el incremento en las tasas de resecciones R1 detectadas gracias a los avances realizados en el análisis histopatológico y a la nueva definición de resección R1[329, 330]. Menon *et al*[326] afirmaron que la mediana de supervivencia para pacientes sometidos a resección R1 (14 meses) era significativamente peor que la de los pacientes con resección R0 (no alcanzada, los autores apuntan a >55 meses), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0.046$). Cabe destacar que este estudio incluye ADCP, colangiocarcinomas distales y ampulomas. Raut *et al*[327] describieron una mediana de supervivencia global para pacientes sometidos a resección R1 de 21.5 meses, comparada con 27.8 meses para pacientes sometidos a resección R0. La afectación del margen de resección no influyó de forma independiente a la supervivencia en el análisis multivariante. La pregunta de si los pacientes con un margen de resección positivo deberían recibir modalidades de adyuvancia más radicales o agresivas, aún continúa en debate científico. De cualquier modo, el beneficio obtenido por los pacientes sometidos a resección R0 no es uniforme para todos los tipos de ADCP, sino que se asocia a un incremento de supervivencia significativo en el subgrupo de pacientes con tumores de ≤ 25 mm y ≤ 1 metástasis ganglionares[311].

Tanto la invasión vascular como perineural han sido identificados como indicadores pronósticos de supervivencia global[328, 331, 332]. Así, Lee *et al*[331] describen la presencia de metástasis ganglionares y de invasión perineural como los dos únicos factores independientes predictores de supervivencia global en pacientes intervenidos con intención curativa. Del mismo modo, Chatterjee *et al*[332] encontraron una asociación entre la invasión vascular y perineural y la afectación ganglionar tras neoadyuvancia. Ambos se correlacionaron fuertemente con el hallazgo de margen retroperitoneal positivo en las piezas de resección. A pesar de que en nuestro estudio la invasión perineural no ha resultado estadísticamente significativa, sí presenta cierta relevancia pronóstica, posiblemente por su asociación con la cantidad de tejido pancreático sustituido por estroma, que pone a esta característica en relación de forma intuitiva con el grado histológico y el tamaño tumoral.

Distintos estudios han descrito diferentes umbrales con relevancia pronóstica para los niveles séricos del antígeno carbohidratado 19-9 (CA19-9)[307-309, 312, 313, 333]; sin embargo, en la actualidad no hay un consenso sobre el umbral asociado a un pronóstico adverso. Así, mientras que Park *et al*[313] propusieron un umbral de >670 U/mL de CA 19-9 como factor pronóstico independiente para supervivencia global de los pacientes con ADCP, Humphris *et al*[333] encontraron un subgrupo de pacientes con pronóstico favorable correspondientes a los pacientes que presentaban cifras de CA 19-9 <90 U/ml, alcanzando supervivencia del 42% a los 5 años. Según los autores, los pacientes con cifras >90 U/ml no se beneficiarían de quimioterapia adyuvante, presentando una sobrevida de casi 10

meses menos que los pacientes con cifras inferiores (mediana de supervivencia global de 16.7 meses vs. 26 meses, respectivamente; $p=0.01$); es interesante señalar que la normalización de los niveles en los primeros 3 y 6 meses del postoperatorio es un indicador pronóstico favorable independiente en este estudio. La existencia de datos tan dispares y heterogéneos en la literatura es probablemente debida a la inmensa heterogeneidad en los tiempos de análisis de los niveles de CA 19-9 entre los diferentes pacientes estudiados, a la heterogeneidad en las mismas muestras de pacientes, así como al tamaño de muestra analizado en las diferentes series publicadas, y a los distintos umbrales establecidos en cada estudio como significativos. En nuestra investigación, los niveles séricos de CA 19-9 no presentaron ninguna relevancia pronóstica, estableciendo un umbral de 37 ng/ml.

Los resultados de nuestro estudio demostraron una diferencia de 6 meses en la mediana de supervivencia global a favor del grupo de pacientes tratados con quimioterapia adyuvante. A pesar de que dicha diferencia resultó significativa en el análisis univariante, no mantuvo la significación en el multivariante, probablemente debido a que la quimioterapia solamente ha demostrado una efectividad modesta tanto en enfermedad avanzada no resecable como en su papel de terapia adyuvante. En este sentido, tanto el 5-fluorouracilo como sobre todo la gemcitabina han mejorado la supervivencia a 5 años en subgrupos de pacientes, comparados con sólo cirugía resectiva sin adyuvancia[334-337]. Park *et al*[313] describieron el uso de quimioterapia y quimiorradioterapia como un indicador favorable de supervivencia global en pacientes con ADCP estadios III y IV, frente al tratamiento paliativo. Lee *et al*[331], mostró que el único indicador pronóstico independiente para pacientes con ADCP avanzado o irresecable fue el empleo de regímenes de quimioterapia basados en la gemcitabina. Más aun, el ensayo clínico CONKO-001[338] sostuvo que el tratamiento con gemcitabina adyuvante tras resección quirúrgica mejoró la supervivencia global en un 24% al compararlo con la observación postoperatoria sin adyuvancia.

La ictericia obstructiva es la presentación clínica más frecuente en los tumores de cabeza de páncreas[304]. El drenaje preoperatorio de la vía biliar principal, ya sea mediante colocación de stent por vía endoscópica (colangiopancreatografía retrógrada endoscópica, CPRE), drenaje por ecoendoscopia o transhepático percutáneo – transparietohepático (DTPH), ha sido ampliamente utilizado para resolver provisionalmente el problema de la colestasis y ganar tiempo de cara a la cirugía con intención curativa, pero su implementación de forma rutinaria es controvertida y su posible beneficio diagnóstico o terapéutico no parece del todo claro[339]. Se ha argumentado que la colocación de un stent biliar preoperatorio en pacientes con ictericia obstructiva puede resultar beneficioso[340], ya que los cambios patológicos asociados al incremento de

bilirrubina[341] (picor, endotoxemia, sangrado, insuficiencia hepática) y a la retención de sales biliares[342] (hipovolemia, hipotensión, descenso del filtrado glomerular) pueden comprometer el resultado de la cirugía.

Al estudiar los factores predictores de supervivencia global, observamos una diferencia significativa entre los pacientes que requirieron drenaje preoperatorio de la vía biliar con respecto a los que no lo necesitaron (17.5 vs. 21.5 meses, respectivamente; $p=0.01$). Esta diferencia continúa siendo estadísticamente significativa en el subsecuente análisis multivariante ($p=0.016$), a pesar de su limitada sensibilidad y especificidad (60% y 66%, respectivamente). Dada la escasez de datos a este respecto en la literatura, la baja sensibilidad y especificidad observadas demandan ser confirmadas por otras investigaciones futuras en series largas de pacientes.

Finamente, existe evidencia de que el drenaje biliar, endoscópico o percutáneo, incrementa el riesgo de colonización bacteriana de la bilis y predispone a infección ascendente proveniente del duodeno[343, 344], aumentando de este modo la morbilidad y mortalidad postoperatorias [345]. Claramente la literatura muestra una incidencia significativamente mayor de infecciones de herida quirúrgica postoperatoria a pacientes drenados endoscópicamente con colocación de stent previamente a duodenopancreatectomía[342, 346-348]. De este modo, Gaag *et al*[349] demostraron en un ensayo aleatorizado multicéntrico que el drenaje biliar preoperatorio incrementaba las tasas de complicación postoperatoria en comparación con cirugía sin stent previo en pacientes con ADCP resecable, especialmente debido a pancreatitis post-CPRE y disfunción del stent biliar. Las conclusiones de los autores fueron que la descompresión biliar rutinaria en el preoperatorio no debería ser recomendada actualmente. Sin embargo, para pacientes que debutan con colangitis o que presentan prurito intratable, la colocación endoscópica de un stent biliar puede ser una intervención apropiada de forma previa a la duodenopancreatectomía. En la misma línea, Gavazzi *et al*[350] hallaron una incidencia significativamente mayor de infecciones profundas de sitio quirúrgico en los pacientes drenados con stent biliar, tanto en el análisis univariante ($p=0.03$) como multivariante ($p=0.04$). Las bacterias aisladas con mayor frecuencia en los cultivos de bilis (75%) y exudado por drenaje quirúrgico (69%) fueron *Enterococcus spp.*[344]. Por el contrario, en un meta-análisis de 14 estudios con un total de 2248 pacientes no encontraron diferencias significativas entre pacientes con y sin stent biliar preoperatorio con respecto a tasas de mortalidad, infecciones, fístula pancreática, fístula biliar o retraso del vaciamiento gástrico. Los autores recomendaron su uso sólo en pacientes seleccionados, con preferencia por los stents metálicos o metálicos recubiertos autoexpandibles sobre los plásticos[351].

Conclusiones

En relación con la asociación de las características clínicas, biológicas y evolutivas de pacientes con ADCP y el grado histológico del tumor:

Los tumores de grado histológico mayor presentaron mayor tamaño tumoral, siendo esta asociación estadísticamente significativa tanto al analizar el tamaño de los tumores de los ADCP de bajo (G1), moderado (G2) y alto grado (G3) por separado ($p=0.035$), como al analizarlo agrupando los ADCP en bajo (G1) y alto grado (G2-G3), presentando una asociación incluso más fuerte ($p=0.009$).

El grado histológico alto (G2-G3) también se asoció con una mayor frecuencia de decesos (0.065) y un acortamiento de la supervivencia global comparado con el bajo grado histológico (12.5 meses vs. 21.7 meses; $p=0.06$).

No se observaron otras asociaciones relevantes entre otras características clínico-biológicas y el grado histológico del ADCP.

En relación con el impacto pronóstico del grado histológico y otras características de la enfermedad:

En el análisis univariante, los únicos factores que demostraron un impacto pronóstico desfavorable en la supervivencia global de forma estadísticamente significativa fueron el alto grado histológico ($p=0.013$), el drenaje biliar preoperatorio ($p=0.014$), y la ausencia de tratamiento adyuvante postoperatorio ($p=0.035$).

Una serie de variables mostraron cierta relevancia pronóstica al comparar sus medianas de supervivencia global, pero sin alcanzar significación estadística. Entre ellas se encuentran el tamaño tumoral >2 cm ($p=0.216$), la clasificación histológica del estadio tumoral local pT3-T4 según la AJCC ($p=0.093$), la presencia de ganglios linfáticos metastásicos en la pieza de resección quirúrgica ($p=0.194$), la existencia de >2 ganglios linfáticos afectados ($p=0.159$), la resección quirúrgica tipo R1 ($p=0.219$), la afectación del margen retroperitoneal ($p=0.194$), y la invasión perineural ($p=0.287$).

El resto de características analizadas no mostraron impacto pronóstico sobre la supervivencia global.

En el análisis multivariante, las únicas características que demostraron ser factores pronósticos independientes de resultado adverso sobre la supervivencia global fueron el alto grado histológico según descrito por Adsay *et al* (*hazard ratio* 1.99; $p=0.019$) y el drenaje preoperatorio de la vía biliar (*hazard ratio* 0.51; $p=0.016$). La predicción de la SG basada en el grado histológico demostró una sensibilidad y especificidad de 0.70 y 0.76 respectivamente, con un valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) de 0.38 y 0.83. Por otro lado, la predicción de SG basada en el drenaje preoperatorio de la vía biliar mostró una sensibilidad de 0.60 y especificidad de 0.66, siendo éstas relativamente bajas; sus VPP y VPN fueron de 0.43 y 0.79, respectivamente.

Bibliografía

1. Real, X.F., A. Rodolose, and A. Merlos, The cell biology of pancreatic cancer, in Exocrine páncreas cancer (EPC-RC), T.M. Gress, et al., Editors. 2005, Feisenstein CCCP: Hannover. p.108-117.
2. Stanger, B.Z. and Y. Dor, Dissecting the cellular origins of pancreatic cancer. *Cell Cycle*, 2006. 5(1):p.43-46.
3. Neuzillet, C., A. Sauvanet, and P. Hammel, Prognostic factors for resectable pancreatic adenocarcinoma. *J.Visc.Surg.*, 2011. 148(4):p.e232-e243.
4. Saif, M.W., Pancreatic neoplasm in 2011: an update. *JOP.*, 2011. 12(4):p.316-321.
5. Jemal, A., et al., Global cancer statistics. *CA Cancer J.Clin.*, 2011. 61(2):p.69-90.
6. Vincent, A., et al., Pancreatic cancer. *Lancet*, 2011. 378(9791):p.607-620.
7. Hidalgo, M., et al., Epidemiology and diagnosis of pancreatic cancer. 2003. p.714-722.
8. Torres, M.P., P.J. T rraga, and J.A. Rodríguez, Incidencia del c ncer de p ncreas en la provincia de Albacete. 2008. p.111-116.
9. Stoita, A., I.D. Penman, and D.B. Williams, Review of screening for pancreatic cancer in high risk individuals. *World J.Gastroenterol.*, 2011. 17(19):p.2365-2371.
10. Tempero, M.A., et al., Pancreatic adenocarcinoma. *J.Natl.Compr.Canc.Netw.*, 2010. 8(9):p.972-1017.
11. Hong, S.M., et al., Molecular signatures of pancreatic cancer. *Arch.Pathol.Lab Med.*, 2011. 135(6):p.716- 727.
12. Hruban, R.H. and N. Fukushima, Pancreatic adenocarcinoma: update on the surgical pathology of carcinomas of ductal origin and PanINs. *Mod.Pathol.*, 2007. 20 Suppl 1:p.S61-S70.
13. Krech, R.L. and D. Walsh, Symptoms of pancreatic cancer. *J.Pain Symptom.Manage.*, 1991. 6(6):p.360-367.
14. Takhar, A.S., et al., Recent developments in diagnosis of pancreatic cancer. *BMJ*, 2004. 329(7467):p.668-673.
15. Kim, C.B., S. Ahmed, and E.C. Hsueh, Current surgical managment of pancreatic cancer. *J.of Gastrointes.Oncol.*, 2011. 2(3):p.126-135.
16. Tummala, P., O. Junaidi, and B. Agarwal, Imaging of pancreatic cancer: An overview. *J.of*

- Gastrointes.Oncol., 2011. 2(3):p.168-174.
17. Humphris, J.L., et al., The prognostic and predictive value of serum CA19.9 in pancreatic cancer. *Ann.Oncol.*, 2011.
 18. Egawa, S., et al., Clinicopathological aspects of small pancreatic cancer. *Pancreas*, 2004. 28(3):p.235-240.
 19. Tempero, M.A., et al., Relationship of carbohydrate antigen 19-9 and Lewis antigens in pancreatic cancer. *Cancer Res.*, 1987. 47(20):p.5501-5503.
 20. Talar-Wojnarowska, R. and E. Malecka-Panas, Molecular pathogenesis of pancreatic adenocarcinoma: potential clinical implications. *Med.Sci.Monit.*, 2006. 12(9):p.RA186-RA193.
 21. Winter, J.M., C.J. Yeo, and J.R. Brody, Diagnostic, prognostic, and predictive biomarkers in pancreatic cancer. *J.Surg.Oncol.*, 2013. 107(1):p.15-22.
 22. Chan, A., et al., Validation of biomarkers that complement CA19.9 in detecting early pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 2014. 20(22):p.5787-95.
 23. Simeone, D.M., et al., CEACAM1, a novel serum biomarker for pancreatic cancer. *Pancreas*, 2007. 34(4):p.436-43.
 24. Koopmann, J., et al., Serum macrophage inhibitory cytokine 1 as a marker of pancreatic and other periampullary cancers. *Clin Cancer Res*, 2004. 10(7):p.2386-92.
 25. Brand, R.E., et al., Serum biomarker panels for the detection of pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 2011. 17(4):p.805-16.
 26. Kang, C.Y., et al., Clinical significance of serum COL6A3 in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg*, 2014. 18(1):p.7-15.
 27. Takayama, R., et al., Serum tumor antigen REG4 as a diagnostic biomarker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Gastroenterol*, 2010. 45(1):p.52-9.
 28. Bauer, A.S., et al., Diagnosis of pancreatic ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis by measurement of microRNA abundance in blood and tissue. *PLoS One*, 2012. 7(4):p.e34151.
 29. Kong, X., et al., Detection of differentially expressed microRNAs in serum of pancreatic ductal adenocarcinoma patients: miR-196a could be a potential marker for poor prognosis. *Dig.Dis.Sci.*, 2011. 56(2):p.602-609.
 30. Seux, M., et al., MicroRNAs in pancreatic ductal adenocarcinoma: new diagnostic and therapeutic clues. *Pancreatol.*, 2009. 9(1-2):p.66-72.
 31. Wang, J., et al., MicroRNAs in plasma of pancreatic ductal adenocarcinoma patients as novel blood-based biomarkers of disease. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2009. 2(9):p.807-13.
 32. Baraniskin, A., et al., Circulating U2 small nuclear RNA fragments as a novel diagnostic biomarker for pancreatic and colorectal adenocarcinoma. *Int J Cancer*, 2013. 132(2):p.E48-57.
 33. Cote, G.A., et al., A pilot study to develop a diagnostic test for pancreatic ductal adenocarcinoma based on differential expression of select miRNA in plasma and bile. *Am J Gastroenterol*, 2014. 109(12):p.1942-52.

34. Bournet, B., et al., Gene expression signature of advanced pancreatic ductal adenocarcinoma using low density array on endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration samples. *Pancreatology*, 2012. 12(1):p.27-34.
35. Chen, Y., et al., Accurate discrimination of pancreatic ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis using multimarker expression data and samples obtained by minimally invasive fine needle aspiration. *Int J Cancer*, 2007. 120(7):p.1511-7.
36. Harsha, H.C., et al., A compendium of potential biomarkers of pancreatic cancer. *PLoS Med*, 2009. 6(4):p.e1000046.
37. Singh, P., R. Srinivasan, and J.D. Wig, Major molecular markers in pancreatic ductal adenocarcinoma and their roles in screening, diagnosis, prognosis, and treatment. *Pancreas*, 2011. 40(5):p.644-652.
38. Zhang, P., et al., Development of serum parameters panels for the early detection of pancreatic cancer. *Int J Cancer*, 2014. 134(11):p.2646-55.
39. Zhang, L., et al., Salivary transcriptomic biomarkers for detection of resectable pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 2010. 138(3):p.949-57 e1-7.
40. Wang, Y., et al., Detection of p53 gene mutations in the supernatant of pancreatic juice and plasma from patients with pancreatic carcinomas. *Pancreas*, 2004. 28(1):p.13-9.
41. Zeng, L., et al., Perineural Invasion and TAMs in Pancreatic Ductal Adenocarcinomas: Review of the Original Pathology Reports Using Immunohistochemical Enhancement and Relationships with Clinicopathological Features. *J Cancer*, 2014. 5(9):p.754-60.
42. Willumsen, N., et al., Extracellular matrix specific protein fingerprints measured in serum can separate pancreatic cancer patients from healthy controls. *BMC Cancer*, 2013. 13:p.554.
43. Willmore-Payne, C., et al., Molecular diagnostic testing as an adjunct to morphologic evaluation of pancreatic ductal system brushings: potential augmentation for diagnostic sensitivity. *Diagn Cytopathol*, 2007. 35(4):p.218-24.
44. Awadallah, N.S., et al., Detection of B7-H4 and p53 in pancreatic cancer: potential role as a cytological diagnostic adjunct. *Pancreas*, 2008. 36(2):p.200-6.
45. Balasenthil, S., et al., A migration signature and plasma biomarker panel for pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2011. 4(1):p.137-49.
46. Chung, H.W. and J.B. Lim, Clinical significance of elevated serum soluble CD40 ligand levels as a diagnostic and prognostic tumor marker for pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Transl Med*, 2014. 12:p.102.
47. Chung, H.W. and J.B. Lim, Clinical significance of serum levels of immune-associated molecules, uric acid and soluble MHC class I chain-related molecules A and B, as diagnostic tumor markers for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Sci*, 2011. 102(9):p.1673-9.
48. Mirus, J., et al., Cross-species antibody microarray interrogation identifies a 3-protein panel of plasma biomarkers for the early detection of pancreas cancer. *Clin Cancer Res*, 2015.
49. Gao, H., et al., Evaluation of serum diagnosis of pancreatic cancer by using surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Int J Mol Med*, 2012. 30(5):p.1061-8.

50. Gao, J., et al., Identification of pancreatic juice proteins as biomarkers of pancreatic cancer. *Oncol Rep*, 2010. 23(6):p.1683-92.
51. Hoffmann, K., et al., Detection of disseminated pancreatic cells by amplification of cytokeratin-19 with quantitative RT-PCR in blood, bone marrow and peritoneal lavage of pancreatic carcinoma patients. *World J Gastroenterol*, 2007. 13(2):p.257-63.
52. Ohuchida, K., et al., Twist, a novel oncogene, is upregulated in pancreatic cancer: clinical implication of Twist expression in pancreatic juice. *Int J Cancer*, 2007. 120(8):p.1634-40.
53. Xue, A., et al., Discovery of serum biomarkers for pancreatic adenocarcinoma using proteomic analysis. *Br J Cancer*, 2010. 103(3):p.391-400.
54. Shaw, V.E., et al., Serum cytokine biomarker panels for discriminating pancreatic cancer from benign pancreatic disease. *Mol Cancer*, 2014. 13:p.114.
55. Tonack, S., et al., iTRAQ reveals candidate pancreatic cancer serum biomarkers: influence of obstructive jaundice on their performance. *Br J Cancer*, 2013. 108(9):p.1846-53.
56. Uehara, H., et al., In situ telomerase activity in pancreatic juice may discriminate pancreatic cancer from other pancreatic diseases. *Pancreas*, 2008. 36(3):p.236-40.
57. Kloppel, G., et al., Classification of pancreatic neoplasms and their genetics, in *Exocrine pancreas cancer (EPC-RC)*, T.M. Gress, et al., Editors. 2005, Feisenstein CCCP: Hannover. p.62-83.
58. Kloppel, G. and J. Luttges, WHO-classification 2000: exocrine pancreatic tumors. *Verh.Dtsch.Ges.Pathol.*, 2001. 85:p.219-228.
59. Hruban, R.H., et al., Ductal adenocarcinoma of the pancreas, in *WHO classification of tumors of the digestive system*, F.T. Bosman, et al., Editors. 2010, IARC Press: Lyon. p.279-291.
60. Hezel, A.F., et al., Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes Dev.*, 2006. 20(10):p.1218-1249.
61. Adsay, N.V., et al., A proposal for a new and more practical grading scheme for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Am.J.Surg.Pathol.*, 2005. 29(6):p.724-733.
62. Gleason, D.F. and G.T. Mellinger, Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J.Urol.*, 1974. 111(1):p.58-64.
63. Edge, S.B., et al., *Exocrine Pancreas*, in *American Joint Committee on Cancer: AJCC Cancer Staging Manual*. 2002, Springer: New York, NY. p.157-164.
64. Vogelstein, B., et al., Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N.Engl.J.Med.*, 1988. 319(9):p.525-532.
65. Baumgart, M., et al., The genetic basis of sporadic pancreatic cancer. *Cell Oncol.*, 2005. 27(1):p.3-13.
66. Bardeesy, N. and R.A. DePinho, Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat.Rev.Cancer*, 2002. 2(12): p. 897-909.
67. Lee, C.J., J. Dosch, and D.M. Simeone, Pancreatic cancer stem cells. *J Clin Oncol*, 2008. 26(17):p.2806-12.
68. Korc, M., Pancreatic cancer-associated stroma production. *Am.J.Surg.*, 2007.194

- (4Suppl):p.S84-S86.
69. Whitcomb, D.C., Inflammation and Cancer V. Chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Am.J.Physiol Gastrointest.Liver Physiol*, 2004. 287(2):p.G315-G319.
 70. Rhim, A.D., et al., EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. *Cell*, 2012. 148(1-2):p.349-361.
 71. Balic, A., et al., Stem cells as the root of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Exp Cell Res*, 2012. 318(6):p.691-704.
 72. Guerra, C., et al., Chronic pancreatitis is essential for induction of pancreatic ductal adenocarcinoma by KRas oncogenes in adult mice. *Cancer Cell*, 2007. 11(3):p.291-302.
 73. Guerra, C., et al., Pancreatitis-induced inflammation contributes to pancreatic cancer by inhibiting oncogene-induced senescence. *Cancer Cell*, 2011. 19(6):p.728-39.
 74. Kong, B., et al., From tissue turnover to the cell of origin for pancreatic cancer. *Nat.Rev.Gastroenterol.Hepatol.*, 2011. 8(8): p.467-472.
 75. Dorado, J., et al., Pancreatic cancer stem cells: new insights and perspectives. *J.Gastroenterol.*, 2011. 46(8):p.966-973.
 76. Rasheed, Z.A. and W. Matsui, Biological and clinical relevance of stem cells in pancreatic adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012. 27 Suppl 2:p.15-8.
 77. Penchev, V.R., et al., Heterogeneity and targeting of pancreatic cancer stem cells. *Clin Cancer Res*, 2012. 18(16):p.4277-84.
 78. Mihaljevic, A.L., et al., Molecular mechanism of pancreatic cancer--understanding proliferation, invasion, and metastasis. *Langenbecks Arch.Surg.*, 2010. 395(4):p.295-308.
 79. Rhim, A.D. and B.Z. Stanger, Molecular biology of pancreatic ductal adenocarcinoma progression: aberrant activation of developmental pathways. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2010. 97:p.41-78.
 80. Singh, M. and A. Maitra, Precursor lesions of pancreatic cancer: molecular pathology and clinical implications. *Pancreatology.*, 2007. 7(1):p.9-19.
 81. Cubilla, A.L. and P.J. Fitzgerald, Morphological lesions associated with human primary invasive nonendocrine pancreas cancer. *Cancer Res.*, 1976. 36(7 PT 2): p. 2690-2698.
 82. Klimstra, D.S. and D.S. Longnecker, K-ras mutations in pancreatic ductal proliferative lesions. *Am.J.Pathol.*, 1994. 145(6):p.1547-1550.
 83. Hruban, R.H., et al., Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *Am.J.Surg.Pathol.*, 2001. 25(5): p. 579-586.
 84. Hruban, R.H., A. Maitra, and M. Goggins, Update on pancreatic intraepithelial neoplasia. *Int.J.Clin.Exp.Pathol.*, 2008. 1(4):p.306-316.
 85. Luttges, J., S.A. Hahn, and G. Kloppel, Preneoplastic pancreatic lesions and their genetic features, in *Exocrine pancreas cancer (EPC-RC)*, T.M. Gress, et al., Editors. 2005, Feisenstein CCCP: Hannover. p.84-91.
 86. Tanaka, M., et al., International consensus guidelines for management of intraductal papillary mucinous neoplasms and mucinous cystic neoplasms of the pancreas. *Pancreatology.*, 2006. 6(1-2):p.17-32.

87. Sakorafas, G.H., et al., Primary pancreatic cystic neoplasms revisited: part II. Mucinous cystic neoplasms. *Surg.Oncol.*, 2011. 20(2):p.e93-101.
88. de Wilde, R.F., et al., Reporting precursors to invasive pancreatic cancer: pancreatic intraepithelial neoplasia, intraductal neoplasms and mucinous cystic neoplasm. *Diagnostic Histopathology*, 2012. 18(1):p.17-30.
89. Hruban, R.H. and N.V. Adsay, Molecular classification of neoplasms of the pancreas. *Hum.Pathol.*, 2009. 40(5):p.612-623.
90. Varadhachary, G.R., Preoperative therapies for resectable and borderline resectable pancreatic cancer. *J.of Gastrointes.Oncol.*, 2011. 2(3):p.136-142.
91. Kneuert, P.J., et al., Palliative surgical management of patients with unresectable pancreatic adenocarcinoma: trends and lessons learned from a large, single institution experience. *J.Gastrointest.Surg.*, 2011. 15(11):p.1917-1927.
92. Cheng, C., D. Duppler, and B.K. Jaremko, Can pancreaticoduodenectomy performed at a comprehensive community cancer center have comparable results as major tertiary center? *J.of Gastrointes.Oncol.*, 2011. 2(3):p.143-150.
93. Puleo, F., et al., New challenges in perioperative management of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*, 2015. 21(8):p.2281-2293.
94. Graham, J.S., et al., Pancreatic cancer genomics: where can the science take us? *Clin Genet*, 2014.
95. Rossi, M.L., A.A. Rehman, and C.S. Gondi, Therapeutic options for the management of pancreatic cancer. *World J.Gastroenterol.*, 2014. 20(32):p.11142-11159.
96. Chehl, N., et al., Anti-inflammatory effects of the *Nigella sativa* seed extract, thymoquinone, in pancreatic cancer cells. *HPB (Oxford)*, 2009. 11(5):p.373-81.
97. Wang, F. and P. Kumar, The role of radiotherapy in management of pancreatic cancer. *J.of Gastrointes.Oncol.*, 2011. 2(3):p.157-167.
98. Lillemoe, K.D., Current management of pancreatic carcinoma. *Ann.Surg.*, 1995. 221(2):p.133-148.
99. Parker, S.L., et al., Cancer statistics, 1997. *CA Cancer J.Clin.*, 1997. 47(1):p.5-27.
100. Pawlik, T.M., et al., Prognostic relevance of lymph node ratio following pancreaticoduodenectomy for pancreatic cancer. *Surgery*, 2007. 141(5):p.610-618.
101. Nowell, P.C., The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 1976. 194(4260):p.23-28.
102. Nowell, P.C., Mechanisms of tumor progression. *Cancer Res.*, 1986. 46(5):p.2203-2207.
103. Gorunova, L., et al., Cytogenetic analysis of pancreatic carcinomas: intratumor heterogeneity and nonrandom pattern of chromosome aberrations. *Genes Chromosomes.Cancer*, 1998. 23(2):p.81-99.
104. Harada, T., et al., Interglandular cytogenetic heterogeneity detected by comparative genomic hybridization in pancreatic cancer. *Cancer Res.*, 2002. 62(3):p.835-839.
105. Kowalski, J., et al., Chromosomal abnormalities of adenocarcinoma of the pancreas:

- identifying early and late changes. *Cancer Genet.Cytogenet.*, 2007. 178(1):p.26-35.
106. Gorunova, L., et al., Massive cytogenetic heterogeneity in a pancreatic carcinoma: fifty-four karyotypically unrelated clones. *Genes Chromosomes Cancer*, 1995. 14(4):p.259-266.
107. Schleicher, C., et al., Gain of chromosome 8q: a potential prognostic marker in resectable adenocarcinoma of the pancreas? *Ann.Surg.Oncol.*, 2007. 14(4): p. 1327-1335.
108. Holzmann, K., et al., Genomic DNA-chip hybridization reveals a higher incidence of genomic amplifications in pancreatic cancer than conventional comparative genomic hybridization and leads to the identification of novel candidate genes. *Cancer Res.*, 2004. 64(13):p.4428-4433.
109. Mahlamaki, E.H., et al., Frequent amplification of 8q24, 11q, 17q, and 20q-specific genes in pancreatic cancer. *Genes Chromosomes.Cancer*, 2002. 35(4):p.353-358.
110. Mahlamaki, E.H., et al., Comparative genomic hybridization reveals frequent gains of 20q, 8q, 11q, 12p, and 17q, and losses of 18q, 9p, and 15q in pancreatic cancer. *Genes Chromosomes.Cancer*, 1997. 20(4):p.383-391.
111. Tirado, C.A., A.A. Sandberg, and J.F. Stone, Identification of a novel amplicon at 1q31 in pancreatic cancer cell lines. *Cancer Genet.Cytogenet.*, 1999. 113(2):p.110-114.
112. Schleger, C., et al., Identification of frequent chromosomal aberrations in ductal adenocarcinoma of the pancreas by comparative genomic hybridization (CGH). *J.Pathol.*, 2000. 191(1): p. 27-32.
113. Harada, T., et al., Identification of genetic alterations in pancreatic cancer by the combined use of tissue microdissection and array-based comparative genomic hybridisation. *Br.J.Cancer*, 2007. 96(2):p.373-382.
114. Lin, M., D. Cai, and M. Luo, Identification of chromosomal imbalances in pancreatic carcinoma using comparative genomic hybridization. *Chin Med.J.(Engl.)*, 2003. 116(8):p.1156-1160.
115. Heidenblad, M., et al., Genome-wide array-based comparative genomic hybridization reveals multiple amplification targets and novel homozygous deletions in pancreatic carcinoma cell lines. *Cancer Res.*, 2004. 64(9):p.3052-3059.
116. Nowak, N.J., et al., Genome-wide aberrations in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Genet.Cytogenet.*, 2005. 161(1):p.36-50.
117. Pole, J.C., et al., High-resolution analysis of chromosome rearrangements on 8p in breast, colon and pancreatic cancer reveals a complex pattern of loss, gain and translocation. *Oncogene*, 2006. 25(41):p.5693-5706.
118. Aguirre, A.J., et al., High-resolution characterization of the pancreatic adenocarcinoma genome. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 2004. 101(24):p.9067-9072.
119. Loukopoulos, P., et al., Genome-wide array-based comparative genomic hybridization analysis of pancreatic adenocarcinoma: identification of genetic indicators that predict patient outcome. *Cancer Sci.*, 2007. 98(3):p.392-400.
120. Cooke, S.L., et al., High-resolution array CGH clarifies events occurring on 8p in

- carcinogenesis. *BMC.Cancer*, 2008. 8:p.288.
121. Hilgers, W. and S.E. Kern, Molecular genetic basis of pancreatic adenocarcinoma. *Genes Chromosomes.Cancer*, 1999. 26(1):p.1-12.
 122. Jonson, T., et al., Molecular analyses of the 15q and 18q SMAD genes in pancreatic cancer. *Genes Chromosomes.Cancer*, 1999. 24(1):p.62-71.
 123. Tarafa, G., et al., DCC and SMAD4 alterations in human colorectal and pancreatic tumor dissemination. *Oncogene*, 2000. 19(4):p.546-555.
 124. Sunamura, M., et al., The role of chromosome 18 abnormalities in the progression of pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas*, 2004. 28(3):p.311-316.
 125. Lefter, L.P., et al., Functional analysis of chromosome 18 in pancreatic cancer: strong evidence for new tumour suppressor genes. *Asian J.Surg.*, 2004. 27(2):p.85-92.
 126. Ryschich, E., et al., Loss of heterozygosity in the HLA class I region in human pancreatic cancer. *Tissue Antigens*, 2004. 64(6):p.696-702.
 127. Luttgies, J., et al., Allelic loss is often the first hit in the biallelic inactivation of the p53 and DPC4 genes during pancreatic carcinogenesis. *Am.J.Pathol.*, 2001. 158(5):p.1677-1683.
 128. Calhoun, E.S., et al., Identifying allelic loss and homozygous deletions in pancreatic cancer without matched normals using high-density single-nucleotide polymorphism arrays. *Cancer Res.*, 2006. 66(16):p.7920-7928.
 129. Salek, C., et al., Mutation Status of K-ras, p53 and Allelic Losses at 9p and 18q Are Not Prognostic Markers in Patients with Pancreatic Cancer. *Anticancer Res.*, 2009. 29(5):p.1803-1810.
 130. Nomoto, S., et al., Adverse prognosis of epigenetic inactivation in RUNX3 gene at 1p36 in human pancreatic cancer. *Br.J.Cancer*, 2008. 98(10):p.1690-1695.
 131. Abe, T., et al., Identification of three commonly deleted regions on chromosome arm 6q in human pancreatic cancer. *Genes Chromosomes Cancer*, 1999. 25(1):p. 60-64.
 132. Wallrapp, C., et al., Loss of the Y chromosome is a frequent chromosomal imbalance in pancreatic cancer and allows differentiation to chronic pancreatitis. *Int.J.Cancer*, 2001. 91(3):p.340-344.
 133. Jones, S., et al., Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses. *Science*, 2008. 321(5897):p.1801-1806.
 134. Feldmann, G. and A. Maitra, Molecular genetics of pancreatic ductal adenocarcinomas and recent implications for translational efforts. *J.Mol.Diagn.*, 2008. 10(2):p.111-122.
 135. Sandberg, A.A., Chromosomes as markers in human cancer. *Int.Adv.Surg.Oncol.*, 1981. 4:p.311-336.
 136. Sandberg, A.A., Cytogenetics of human neoplasias: advances and perspectives. *Prog.Clin.Biol.Res.*, 1991. 368:p. 113-144.
 137. Sayagues, J.M., et al., Intratumoral patterns of clonal evolution in meningiomas as defined by multicolor interphase fluorescence in situ hybridization (FISH): is there a

- relationship between histopathologically benign and atypical/anaplastic lesions? *J.Mol.Diagn.*, 2004. 6(4):p.316-325.
138. Sayagues, J.M., et al., Intratumoural cytogenetic heterogeneity of sporadic colorectal carcinomas suggests several pathways to liver metastasis. *J.Pathol.*, 2010. 221(3):p.308-319.
 139. Koorstra, J.B., et al., Pancreatic carcinogenesis. *Pancreatology*. 2008. 8(2):p.110-125.
 140. Ji, Z., et al., Oncogenic KRAS activates hedgehog signaling pathway in pancreatic cancer cells. *J.Biol.Chem.*, 2007. 282(19):p.14048-14055.
 141. Pugliese, V., et al., Pancreatic intraductal sampling during ERCP in patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer: cytologic studies and k-ras-2 codon 12 molecular analysis in 47 cases. *Gastrointest.Endosc.*, 2001. 54(5):p.595-599.
 142. Delpu, Y., et al., Genetic and epigenetic alterations in pancreatic carcinogenesis. *Curr.Genomics*, 2011. 12(1):p.15-24.
 143. Van Heek, N.T., et al., Telomere shortening is nearly universal in pancreatic intraepithelial neoplasia. *Am.J.Pathol.*, 2002. 161(5):p.1541-1547.
 144. Hashimoto, Y., et al., Telomere shortening and telomerase expression during multistage carcinogenesis of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *J.Gastrointest.Surg.*, 2008. 12(1):p.17-28.
 145. Hingorani, S.R., et al., Trp53R172H and KrasG12D cooperate to promote chromosomal instability and widely metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma in mice. *Cancer Cell*, 2005. 7(5):p.469-483.
 146. Pryczynicz, A., et al., Expression of epidermal growth factors and apoptosis markers in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Folia Histochem.Cytobiol.*, 2009. 47(4):p.667-671.
 147. Dancer, J., et al., Coexpression of EGFR and HER-2 in pancreatic ductal adenocarcinoma: a comparative study using immunohistochemistry correlated with gene amplification by fluorescent in situ hybridization. *Oncol.Rep.*, 2007. 18(1):p.151-155.
 148. Hruban, R.H., R.E. Wilentz, and S.E. Kern, Genetic progression in the pancreatic ducts. *Am.J.Pathol.*, 2000. 156(6):p.1821-1825.
 149. Tsiambas, E., et al., HER2/neu expression and gene alterations in pancreatic ductal adenocarcinoma: a comparative immunohistochemistry and chromogenic in situ hybridization study based on tissue microarrays and computerized image analysis. *JOP.*, 2006. 7(3):p.283-294.
 150. Vimalachandran, D., et al., Genetics and prevention of pancreatic cancer. *Cancer Control*, 2004. 11(1):p.6-14.
 151. Kern, S.E. and R.H. Hruban, *Molecular Biology of Pancreas Cancer*, in *Cancer: Principles & Practice of Oncology*, V.J. Devita, et al., Editors. 2008, Lippincott Williams & Wilkins: Hagerstown.
 152. Maitra, A., S.E. Kern, and R.H. Hruban, Molecular pathogenesis of pancreatic cancer. *Best.Pract.Res.Clin.Gastroenterol.*, 2006. 20(2):p.211-226.

153. Liu, H., et al., Reevaluation and Identification of the Best Immunohistochemical Panel (pVHL, Maspin, S100P, IMP-3) for Ductal Adenocarcinoma of the Pancreas. *Arch.Pathol.Lab Med.*, 2012. 136(6):p.601-609.
154. Adsay, N.V., et al., Ductal neoplasia of the pancreas: nosologic, clinicopathologic, and biologic aspects. *Semin.Radiat.Oncol.*, 2005. 15(4):p.254-264.
155. Huo, Z., et al., Intraductal papillary mucinous neoplasm of pancreas: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 19 cases. *Zhonghua Bing.Li Xue.Za Zhi.*, 2008. 37(10):p.670-675.
156. Chou, A., et al., Clinical and molecular characterization of HER2 amplified-pancreatic cancer. *Genome Med*, 2013. 5(8):p.78.
157. Saif, M.W., L. Karapanagiotou, and K. Syrigos, Genetic alterations in pancreatic cancer. *World J.Gastroenterol.*, 2007. 13(33):p.4423-4430.
158. Komoto, M., et al., HER2 overexpression correlates with survival after curative resection of pancreatic cancer. *Cancer Sci.*, 2009. 100(7):p.1243-1247.
159. Feldmann, G., et al., Molecular genetics of pancreatic intraepithelial neoplasia. *J.Hepatobiliary.Pancreat.Surg.*, 2007. 14(3):p.224-232.
160. Ebert, M., et al., Increased mdm2 expression and immunoreactivity in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Int.J.Oncol.*, 1994. 5(6):p.1279-1284.
161. Bramhall, S.R., et al., Imbalance of expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of the matrix metalloproteinases (TIMPs) in human pancreatic carcinoma. *J.Pathol.*, 1997. 182(3):p.347-355.
162. Nakamura, T., et al., Zonal heterogeneity for gene expression in human pancreatic carcinoma. *Cancer Res.*, 2007. 67(16):p.7597-7604.
163. Xu, H., et al., Expression of KL-6/MUC1 in pancreatic cancer tissues and its potential involvement in tumor metastasis. *Oncol.Rep.*, 2011. 26(2):p.371-376.
164. Terada, T., et al., Expression of MUC apomucins in normal pancreas and pancreatic tumours. *J.Pathol.*, 1996. 180(2):p.160-165.
165. Prasad, N.B., et al., Gene expression profiles in pancreatic intraepithelial neoplasia reflect the effects of Hedgehog signaling on pancreatic ductal epithelial cells. *Cancer Res.*, 2005. 65(5):p.1619-1626.
166. Biankin, A.V., et al., Overexpression of p21(WAF1/CIP1) is an early event in the development of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Res.*, 2001. 61(24):p.8830-8837.
167. Rosty, C., et al., Overexpression of S100A4 in pancreatic ductal adenocarcinomas is associated with poor differentiation and DNA hypomethylation. *Am.J.Pathol.*, 2002. 160(1):p.45-50.
168. Shields, M.A., et al., Biochemical role of the collagen-rich tumour microenvironment in pancreatic cancer progression. *Biochem.J.*, 2012. 441(2):p.541-552.
169. Yamamoto, H., et al., Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human pancreatic adenocarcinomas: clinicopathologic and prognostic significance of matrilysin expression. *J.Clin.Oncol.*, 2001. 19(4):p.1118-1127.

170. Xu, Y.F., et al., Fascin promotes the motility and invasiveness of pancreatic cancer cells. *World J.Gastroenterol.*, 2011. 17(40):p.4470-4478.
171. Furukawa, T. and A. Horii, Molecular pathology of pancreatic cancer: in quest of tumor suppressor genes. *Pancreas*, 2004. 28(3):p.253-256.
172. Liu, F., SMAD4/DPC4 and pancreatic cancer survival. Commentary re: M. Tascilar et al., The SMAD4 protein and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 7: 4115-4121, 2001. *Clin.Cancer Res.*, 2001. 7(12):p.3853-3856.
173. Tascilar, M., et al., The SMAD4 protein and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin.Cancer Res.*, 2001. 7(12):p.4115-4121.
174. Hua, Z., et al., Loss of DPC4 expression and its correlation with clinicopathological parameters in pancreatic carcinoma. *World J.Gastroenterol.*, 2003. 9(12):p.2764-2767.
175. Schleger, C., et al., c-MYC activation in primary and metastatic ductal adenocarcinoma of the pancreas: incidence, mechanisms, and clinical significance. *Mod.Pathol.*, 2002. 15(4):p.462-469.
176. Handra-Luca, A., et al., Biological and prognostic relevance of mitogen-activated protein kinases in pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas*, 2012. 41(3): p. 416-421.
177. Hong, S.N., et al., The effect of aberrant maspin expression on the invasive ability of pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Oncol.Rep.*, 2009. 21(2):p.425-430.
178. Ohike, N., et al., Clinicopathological significance and molecular regulation of maspin expression in ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Lett.*, 2003. 199(2):p.193-200.
179. Seo, Y., et al., High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis and a poor prognosis for patients with ductal pancreatic adenocarcinoma. *Cancer*, 2000. 88(10):p.2239-2245.
180. Schneider, G. and R.M. Schmid, Genetic alterations in pancreatic carcinoma. *Mol.Cancer*, 2003. 2:p.15.
181. Beger, C., et al., Down-regulation of BRCA1 in chronic pancreatitis and sporadic pancreatic adenocarcinoma. *Clin.Cancer Res.*, 2004. 10(11):p.3780-3787.
182. Hong, S.M., et al., Loss of E-cadherin expression and outcome among patients with resectable pancreatic adenocarcinomas. *Mod.Pathol.*, 2011. 24(9):p.1237-1247.
183. Furukawa, T., et al., Distinct progression pathways involving the dysfunction of DUSP6/MKP-3 in pancreatic intraepithelial neoplasia and intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas. *Mod.Pathol.*, 2005. 18(8):p.1034-1042.
184. Xu, S., et al., Abrogation of DUSP6 by hypermethylation in human pancreatic cancer. *J.Hum.Genet.*, 2005. 50(4):p.159-167.
185. Sato, N., et al., STK11/LKB1 Peutz-Jeghers gene inactivation in intraductal papillary-mucinous neoplasms of the pancreas. *Am.J.Pathol.*, 2001. 159(6): p. 2017-2022.
186. Pan, S., et al., Quantitative proteomics investigation of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Electrophoresis*, 2009. 30(7):p.1132-1144.
187. Mardin, W.A., et al., SERPINB5 and AKA. *BMC.Cancer*, 2010. 10:p.549.
188. Crnogorac-Jurcevic, T., Transcriptomics: expression profiling in pancreatic cancer

- using microarray technology, in Exocrine pancreas cancer (EPC-RC), T.M. Gress, et al., Editors. 2005, Feisenstein CCCP: Hannover. p.201-217.
189. Bartel, D.P., MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004. 116(2):p.281-297.
 190. Esquela-Kerscher, A. and F.J. Slack, Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat.Rev.Cancer*, 2006. 6(4):p.259-269.
 191. Wang, J. and S. Sen, MicroRNA functional network in pancreatic cancer: from biology to biomarkers of disease. *J.Biosci.*, 2011. 36(3):p.481-491.
 192. Lee, E.J., et al., Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int.J.Cancer*, 2007. 120(5):p.1046-1054.
 193. Szafranska, A.E., et al., MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene*, 2007. 26(30):p.4442-4452.
 194. Steele, C.W., et al., Clinical potential of microRNAs in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas*, 2011. 40(8):p.1165-1171.
 195. Li, W., D.G. Lebrun, and M. Li, The expression and functions of microRNAs in pancreatic adenocarcinoma and hepatocellular carcinoma. *Chin J.Cancer*, 2011. 30(8):p.540-550.
 196. Park, J.Y., et al., MicroRNAs in pancreatic ductal adenocarcinoma. *World J.Gastroenterol.*, 2011. 17(7):p.817-827.
 197. Yu, J., et al., MicroRNA alterations of pancreatic intraepithelial neoplasias. *Clin Cancer Res*, 2012. 18(4): p. 981-92.
 198. Xue, Y., et al., MicroRNAs as diagnostic markers for pancreatic ductal adenocarcinoma and its precursor, pancreatic intraepithelial neoplasm. *Cancer Genet*, 2013. 206(6):p.217-21.
 199. Frampton, A.E., et al., microRNAs as markers of survival and chemoresistance in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2011. 11(12):p.1837-42.
 200. Nakata, K., et al., MicroRNA-10b is overexpressed in pancreatic cancer, promotes its invasiveness, and correlates with a poor prognosis. *Surgery*, 2011. 150(5):p.916-922.
 201. Ma, M.Z., et al., Candidate microRNA biomarkers of pancreatic ductal adenocarcinoma: meta-analysis, experimental validation and clinical significance. *J Exp Clin Cancer Res*, 2013. 32:p.71.
 202. Papaconstantinou, I.G., et al., Expression of microRNAs in patients with pancreatic cancer and its prognostic significance. *Pancreas*, 2013. 42(1):p.67-71.
 203. Bloomston, M., et al., MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *JAMA*, 2007. 297(17):p.1901-1908.
 204. Panarelli, N.C. and R.K. Yantiss, MicroRNA Expression in Selected Carcinomas of the Gastrointestinal Tract. *Patholog.Res.Int.*, 2011. 2011:p.124608.
 205. Jamieson, N.B., et al., MicroRNA molecular profiles associated with diagnosis,

- clinicopathologic criteria, and overall survival in patients with resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin.Cancer Res.*, 2012. 18(2):p.534-545.
206. Volinia, S., et al., A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006. 103(7):p.2257-61.
207. Sureban, S.M., et al., DCAMKL-1 regulates epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cells through a miR-200a-dependent mechanism. *Cancer Res.*, 2011. 71(6):p.2328-2338.
208. Piepoli, A., et al., Mirna expression profiles identify drivers in colorectal and pancreatic cancers. *PLoS One*, 2012. 7(3):p.e33663.
209. Greither, T., et al., Elevated expression of microRNAs 155, 203, 210 and 222 in pancreatic tumors is associated with poorer survival. *Int.J.Cancer*, 2010. 126(1):p.73-80.
210. Dweep, H., et al., miRWalk--database: prediction of possible miRNA binding sites by "walking" the genes of three genomes. *J.Biomed.Inform.*, 2011. 44(5):p.839-847.
211. Zhao, G., et al., MiR-130b is a prognostic marker and inhibits cell proliferation and invasion in pancreatic cancer through targeting STAT3. *PLoS One*, 2013. 8(9):p.e73803.
212. Morris, K.V. and J.S. Mattick, The rise of regulatory RNA. *Nat Rev Genet*, 2014. 15(6):p.423-37.
213. Li, A., et al., Pancreatic cancers epigenetically silence SIP1 and hypomethylate and overexpress miR-200a/200b in association with elevated circulating miR-200a and miR-200b levels. *Cancer Res.*, 2010. 70(13):p.5226-5237.
214. Esteller, M., Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet*, 2011. 12(12):p.861-74.
215. Su, H., et al., Elevated snoRNA biogenesis is essential in breast cancer. *Oncogene*, 2014. 33(11):p.1348-58.
216. Mei, Y.P., et al., Small nucleolar RNA 42 acts as an oncogene in lung tumorigenesis. *Oncogene*, 2012. 31(22):p.2794-804.
217. Lochan, R., et al., Genetic susceptibility in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Br.J.Surg.*, 2008. 95(1):p.22-32.
218. Earl, J., et al., Evaluation of the 4q32-34 locus in European familial pancreatic cancer. *Cancer Epidemiol.Biomarkers Prev.*, 2006. 15(10):p.1948-1955.
219. Eberle, M.A., et al., A new susceptibility locus for autosomal dominant pancreatic cancer maps to chromosome 4q32-34. *Am.J.Hum.Genet.*, 2002. 70(4):p.1044-1048.
220. Lowery, M.A., et al., An emerging entity: pancreatic adenocarcinoma associated with a known BRCA mutation: clinical descriptors, treatment implications, and future directions. *Oncologist.*, 2011. 16(10):p.1397-1402.
221. Arnold, M.A. and M. Goggins, BRCA2 and predisposition to pancreatic and other cancers. *Expert.Rev.Mol.Med.*, 2001. 2001:p.1-10.
222. Hidalgo, M. and D.D. Von Hoff, Translational therapeutic opportunities in ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Clin Cancer Res*, 2012. 18(16):p.4249-56.
223. Whipple, C. and M. Korc, Targeting angiogenesis in pancreatic cancer: rationale and

- pitfalls. *Langenbecks Arch Surg*, 2008. 393(6):p.901-10.
224. Preis, M. and M. Korc, Signaling pathways in pancreatic cancer. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2011. 21(2):p.115-29.
225. Neuzillet, C., et al., Targeting the Ras-ERK pathway in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Metastasis Rev*, 2013. 32(1-2):p.147-62.
226. Eser, S., et al., Oncogenic KRAS signalling in pancreatic cancer. *Br J Cancer*, 2014. 111(5):p.817-22.
227. Arlt, A., S.S. Muerkoster, and H. Schafer, Targeting apoptosis pathways in pancreatic cancer. *Cancer Lett*, 2013. 332(2):p.346-58.
228. Hamacher, R., et al., Apoptotic pathways in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Cancer*, 2008. 7:p.64.
229. Kong, B., et al., A subset of metastatic pancreatic ductal adenocarcinomas depends quantitatively on oncogenic Kras/Mek/Erk-induced hyperactive mTOR signalling. *Gut*, 2015.
230. Huang, X., et al., Chronic alcohol exposure exacerbates inflammation and triggers pancreatic acinar-to-ductal metaplasia through PI3K/Akt/IKK. *Int J Mol Med*, 2015. 35(3):p.653-63.
231. Yeh, J.J. and C.J. Der, Targeting signal transduction in pancreatic cancer treatment. *Expert Opin Ther Targets*, 2007. 11(5):p.673-94.
232. Morton, J.P. and B.C. Lewis, Shh signaling and pancreatic cancer: implications for therapy? *Cell Cycle*, 2007. 6(13):p.1553-7.
233. Morris, J.P.t., S.C. Wang, and M. Hebrok, KRAS, Hedgehog, Wnt and the twisted developmental biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat Rev Cancer*, 2010. 10(10):p.683-95.
234. Feldmann, G., et al., Hedgehog inhibition prolongs survival in a genetically engineered mouse model of pancreatic cancer. *Gut*, 2008. 57(10): p. 1420-1430.
235. Luo, G., et al., Stroma and pancreatic ductal adenocarcinoma: an interaction loop. *Biochim Biophys Acta*, 2012. 1826(1):p.170-8.
236. Costello, E., W. Greenhalf, and J.P. Neoptolemos, New biomarkers and targets in pancreatic cancer and their application to treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012. 9(8):p.435-44.
237. Avila, J.L. and J.L. Kissil, Notch signaling in pancreatic cancer: oncogene or tumor suppressor? *Trends Mol Med*, 2013. 19(5):p.320-7.
238. Hernandez-Munoz, I., et al., Pancreatic ductal adenocarcinoma: cellular origin, signaling pathways and stroma contribution. *Pancreatology*, 2008. 8(4-5):p.462-9.
239. Weekes, C.D. and R.A. Winn, The many faces of wnt and pancreatic ductal adenocarcinoma oncogenesis. *Cancers (Basel)*, 2011. 3(3):p.3676-86.
240. Nakamoto, M., et al., Prognostic significance of WNT signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Virchows Arch*, 2014. 465(4):p.401-8.
241. Hausmann, S., et al., The role of inflammation in pancreatic cancer. *Adv Exp Med Biol*, 2014. 816:p.129-51.

242. Zhang, H., et al., TGFbeta signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Tumour Biol*, 2015. 36(3):p.1613-8.
243. Maginn, E.N., et al., Opportunities for translation: targeting DNA repair pathways in pancreatic cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2014. 1846(1):p.45-54.
244. Waddell, N., et al., Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer. *Nature*, 2015. 518(7540):p.495-501.
245. Abaji, C., I. Cousineau, and A. Belmaaza, BRCA2 regulates homologous recombination in response to DNA damage: implications for genome stability and carcinogenesis. *Cancer Res*, 2005. 65(10):p.4117-25.
246. Yamano, M., et al., Genetic progression and divergence in pancreatic carcinoma. *Am.J.Pathol.*, 2000. 156(6):p.2123-2133.
247. Goggins, M., R.H. Hruban, and S.E. Kern, BRCA2 is inactivated late in the development of pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence and implications. *Am.J.Pathol.*, 2000. 156(5):p.1767-1771.
248. Nichols, L.S., R. Ashfaq, and C.A. Iacobuzio-Donahue, Claudin 4 protein expression in primary and metastatic pancreatic cancer: support for use as a therapeutic target. *Am J Clin Pathol*, 2004. 121(2):p.226-30.
249. Sanada, Y., et al., Immunohistochemical study of claudin 18 involvement in intestinal differentiation during the progression of intraductal papillary mucinous neoplasm. *Anticancer Res*, 2010. 30(7):p.2995-3003.
250. Kashima, K., et al., Expression of the tumor suppressor gene maspin and its significance in intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Hepatobiliary.Pancreat.Dis.Int.*, 2008. 7(1):p.86-90.
251. Kim, J., et al., Unfavourable prognosis associated with K-ras gene mutation in pancreatic cancer surgical margins. *Gut*, 2006. 55(11):p.1598-1605.
252. Shin, S.H., et al., Genetic alterations of K-ras, p53, c-erbB-2, and DPC4 in pancreatic ductal adenocarcinoma and their correlation with patient survival. *Pancreas*, 2013. 42(2):p.216-222.
253. Rachakonda, P.S., et al., Somatic mutations in exocrine pancreatic tumors: association with patient survival. *PLoS.One.*, 2013. 8(4):p.e60870.
254. Luebke, A.M., et al., Losses at chromosome 4q are associated with poor survival in operable ductal pancreatic adenocarcinoma. *Pancreatology.*, 2012. 12(1):p.16-22.
255. Lee, J.H., et al., Loss of 18q22.3 involving the carboxypeptidase of glutamate-like gene is associated with poor prognosis in resected pancreatic cancer. *Clin.Cancer Res.*, 2012. 18(2):p.524-533.
256. Yachida, S., et al., Clinical significance of the genetic landscape of pancreatic cancer and implications for identification of potential long-term survivors. *Clin.Cancer Res.*, 2012. 18(22):p.6339-6347.
257. Lefter, L.P., et al., Inserting chromosome 18 into pancreatic cancer cells switches them to a dormant metastatic phenotype. *Clin.Cancer Res.*, 2003. 9(13):p.5044-5052.

258. Biankin, A.V., et al., DPC4/Smad4 expression and outcome in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Clin Oncol*, 2002. 20(23):p.4531-42.
259. Sharif, S., et al., HER2 gene amplification and chromosome 17 copy number do not predict survival of patients with resected pancreatic adenocarcinoma. *Dig.Dis.Sci.*, 2008. 53(11):p.3026-3032.
260. Winter, J.M., et al., A novel survival-based tissue microarray of pancreatic cancer validates MUC1 and mesothelin as biomarkers. *PLoS.One.*, 2012. 7(7):p.e40157.
261. Marechal, R., et al., Sonic hedgehog and gli1 expression predict outcome in resected pancreatic adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*, 2015. 21(5):p.1215-24.
262. Ohara, Y., et al., Histological and prognostic importance of CD44 /CD24 /EpCAM expression in clinical pancreatic cancer. *Cancer Sci.*, 2013.
263. Takikita, M., et al., Associations between selected biomarkers and prognosis in a population-based pancreatic cancer tissue microarray. *Cancer Res.*, 2009. 69(7): p. 2950-2955.
264. Hirono, S., et al., Molecular markers associated with lymph node metastasis in pancreatic ductal adenocarcinoma by genome-wide expression profiling. *Cancer Sci.*, 2010. 101(1):p.259-266.
265. Schultz, N.A., et al., Prognostic microRNAs in cancer tissue from patients operated for pancreatic cancer--five microRNAs in a prognostic index. *World J.Surg.*, 2012. 36(11):p.2699-2707.
266. Song, B. and J. Ju, Impact of miRNAs in gastrointestinal cancer diagnosis and prognosis. *Expert Rev Mol Med*, 2010. 12:p.e33.
267. Giovannetti, E., et al., High-throughput microRNA (miRNAs) arrays unravel the prognostic role of MiR-211 in pancreatic cancer. *PLoS One*, 2012. 7(11):p.e49145.
268. Samuel, N. and T.J. Hudson, The molecular and cellular heterogeneity of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012. 9(2):p.77-87.
269. Cowley, M.J., et al., Understanding pancreatic cancer genomes. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2013.
270. Hudson, T.J., et al., International network of cancer genome projects. *Nature*, 2010. 464(7291):p.993-8.
271. Collisson, E.A., et al., Subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma and their differing responses to therapy. *Nat Med*, 2011. 17(4):p.500-3.
272. Stratford, J.K., et al., A six-gene signature predicts survival of patients with localized pancreatic ductal adenocarcinoma. *PLoS Med*, 2010. 7(7):p.e1000307.
273. Haider, S., et al., A multi-gene signature predicts outcome in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genome Med*, 2014. 6(12):p.105.
274. Donahue, T.R., et al., Integrative survival-based molecular profiling of human pancreatic cancer. *Clin.Cancer Res.*, 2012. 18(5):p.1352-1363.
275. Biankin, A.V., et al., Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes. *Nature*, 2012. 491(7424): p. 399-405.

276. Nones, K., et al., Genome-wide DNA methylation patterns in pancreatic ductal adenocarcinoma reveal epigenetic deregulation of SLIT-ROBO, ITGA2 and MET signaling. *Int J Cancer*, 2014. 135(5):p.1110-8.
277. Dal Molin, M., et al., Very Long-term Survival Following Resection for Pancreatic Cancer Is Not Explained by Commonly Mutated Genes: Results of Whole-Exome Sequencing Analysis. *Clin Cancer Res*, 2015.
278. Campbell, P.J., et al., The patterns and dynamics of genomic instability in metastatic pancreatic cancer. *Nature*, 2010. 467(7319):p.1109-13.
279. Yachida, S., et al., Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature*, 2010. 467(7319):p.1114-7.
280. Iacobuzio-Donahue, C.A., Genetic evolution of pancreatic cancer: lessons learnt from the pancreatic cancer genome sequencing project. *Gut*, 2012. 61(7):p.1085-94.
281. Bailey, J.M., et al., DCLK1 marks a morphologically distinct subpopulation of cells with stem cell properties in preinvasive pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 2014. 146(1):p.245-56.
282. Iacobuzio-Donahue, C.A., et al., Genetic basis of pancreas cancer development and progression: insights from whole-exome and whole-genome sequencing. *Clin Cancer Res*, 2012. 18(16):p.4257-65
283. Cercek A, Lumish M, Sinopoli J, Weiss J, Shia J, Lamendola-Essel M, El Dika IH, Segal N, Shcherba M, Sugarman R, Stadler Z, Yaeger R, Smith JJ, Rousseau B, Argiles G, Patel M, Desai A, Saltz LB, Widmar M, Iyer K, Zhang J, Gianino N, Crane C, Romesser PB, Pappou EP, Paty P, Garcia-Aguilar J, Gonen M, Gollub M, Weiser MR, Schalper KA, Diaz LA Jr. PD-1 Blockade in Mismatch Repair-Deficient, Locally Advanced Rectal Cancer. *N Engl J Med*. 2022 Jun 5. doi: 10.1056/NEJMoa2201445. Epub ahead of print. PMID: 35660797.
284. Chan K, Shah K, Lien K, Coyle D, Lam H, Ko Y-J. A Bayesian Meta-Analysis of Multiple Treatment Comparisons of Systemic Regimens for Advanced Pancreatic Cancer. Brody JR, editor. *PLoS One*. 2014 Oct;9(10):e108749.
285. Zagouri F, Sergentanis TN, Chrysikos D, Zografos CG, Papadimitriou CA, Dimopoulos M-A, et al. Molecularly Targeted Therapies in Metastatic Pancreatic Cancer. *Pancreas*. 2013 Jul;42(5):760–73.
286. Gresham GK, Wells GA, Gill S, Cameron C, Jonker DJ. Chemotherapy regimens for advanced pancreatic cancer: a systematic review and network meta-analysis. *BMC Cancer*. 2014 Dec;14(1):471.
287. Ottaiano A, Capozzi M, De Divitiis C, De Stefano A, Botti G, Avallone A, et al. Gemcitabine mono-therapy versus gemcitabine plus targeted therapy in advanced pancreatic cancer: a meta-analysis of randomized phase III trials. *Acta Oncol (Madr)*. 2017 Mar;56(3):377–83.
288. Funakoshi T, Latif A, Galsky MD. Safety and efficacy of addition of VEGFR and EGFR-family oral small-molecule tyrosine kinase inhibitors to cytotoxic chemotherapy in

- solid cancers: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Cancer Treat Rev.* 2014 Jun;40(5):636–47.
289. Yang Z-Y, Yuan J-Q, Di M-Y, Zheng D-Y, Chen J-Z, Ding H, et al. Gemcitabine Plus Erlotinib for Advanced Pancreatic Cancer: A Systematic Review with Meta-Analysis. Biondi-Zoccai G, editor. *PLoS One.* 2013 Mar;8(3):e57528.
290. Tian W, Ding W, Kim S, Xu X, Pan M, Chen S. Efficacy and safety profile of combining agents against epidermal growth factor receptor or vascular endothelium growth factor receptor with gemcitabine-based chemotherapy in patients with advanced pancreatic cancer: A meta-analysis. *Pancreatol.* 2013 Jul;13(4):415–22.
291. Wang Y, Hu G, Zhang Q, Tang N, Guo J, Liu L, et al. Efficacy and safety of gemcitabine plus erlotinib for locally advanced or metastatic pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis. *Drug Des Devel Ther.* 2016 Jun;10:1961.
292. Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, Figer A, Hecht JR, Gallinger S, et al. Erlotinib Plus Gemcitabine Compared With Gemcitabine Alone in Patients With Advanced Pancreatic Cancer: A Phase III Trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol.* 2007 May;25(15):1960–6.
293. Golan T, Hammel P, Reni M et al. Maintenance Olaparib for Germline *BRCA*-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *N Engl J Med* 2019; 381:317-327.
294. Javle M, Shacham-Schmueli E, Xiao L, et al. Olaparib Monotherapy for Previously Treated Pancreatic Cancer With DNA Damage Repair Genetic Alterations Other Than Germline *BRCA* Variants Findings From 2 Phase 2 Nonrandomized Clinical Trials. *JAMA Oncol.* 2021;7(5):693-699.
295. Drilon A. TRK inhibitors in TRK fusion-positive cancers. *Ann Oncol.* 2019 Nov;30 Suppl 8:viii23-viii30
296. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med.* 2018;378: 731–739.
297. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, et al NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol.* 2020 Feb;21(2):271-282. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30691-6. Epub 2019 Dec 11. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2020 Feb;21(2):e70. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2020 Jul;21(7):e341. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2020 Aug;21(8):e372.
298. Lim JE, Chien MW, Earle CC. Prognostic factors following curative resection for pancreatic adenocarcinoma. A population-based, linked database analysis of 396 patients. *Ann Surg.* 2003;237:74–85.
299. Lüttges J, Schemm S, Vogel I, et al. The grade of pancreatic ductal carcinoma is an independent prognostic factor and is superior to the immunohistochemical assessment of proliferation. *J Pathol.* 2000;191:154–161.
300. Rochefort MM, Ankeny JS, Kadera BE, et al. Impact of tumor grade on pancreatic cancer prognosis: validation of a novel TNMG staging system. *Ann Surg Oncol.* 2013;20:4322–4329.

301. Wasif N, Ko CY, Farrell J, et al. Impact of tumor grade on prognosis in pancreatic cancer: should we include grade in AJCC staging? *Ann Surg Oncol.* 2010;17:2312–2320.
302. Hartwig W, Hackert T, Hinz U, et al. Pancreatic cancer surgery in the new millennium. Better prediction of outcome. *Ann Surg.* 2011;254:311–319.
303. Dusch N, Weiss C, Ströbel P, et al. Factors predicting longterm survival following pancreatic resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas: 40 years of experience. *J Gastrointest Surg.* 2014;18:674–681.
304. Benassai G, Mastroianni M, Quarto G, et al. Factors influencing survival after resection for ductal adenocarcinoma of the head of the pancreas. *J Surg Oncol.* 2000;73:212–218.
305. Zacharias T, Jaeck D, Oussoultzoglou E, et al. Impact of lymph node involvement on long-term survival after R0 pancreaticoduodenectomy for ductal adenocarcinoma of the pancreas. *J Gastrointest Surg.* 2007;11:350–356.
306. Kimura K, Amano R, Nakata B, et al. Clinical and pathological features of five-year survivors after pancreatectomy for pancreatic adenocarcinoma. *World J Surg Oncol.* 2014;12:360–368.
307. Waraya M, Yamashita K, Katagiri H, et al. Preoperative serum CA19-9 and dissected peripancreatic tissue margin as determiners of long-term survival in pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol.* 2009;16:1231–1240.
308. Ferrone CR, Finkelstein DM, Thayer SP, et al. Perioperative CA19-9 levels can predict stage and survival in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Oncol.* 2006;24:2897–2902.
309. Hallemeier CL, Botros M, Corsini MM, et al. Preoperative CA19-9 level is an important prognostic factor in patients with pancreatic adenocarcinoma treated with surgical resection and adjuvant concurrent chemoradiotherapy. *Am J Clin Oncol.* 2011;34:567–572.
310. Ferrone CR, Brennan MF, Gonen M, et al. Pancreatic adenocarcinoma: the actual 5-year survivors. *J Gastrointest Surg.* 2008;12:701–706.
311. Tummala P, Howard T, Agarwal B. Dramatic survival benefit related to R0 resection of pancreatic adenocarcinoma in patients with tumor <25mm in size and <1 involved lymph nodes. *Clin Transl Gastroenterol.* 2013;4:1–10.
312. Zhang DX, Dai YD, Yuan SX, et al. Prognostic factors in patients with pancreatic cancer. *Exp Ther Med.* 2012;3:423–432.
313. Park JK, Yoon YB, Kim YT, et al. Survival and prognostic factors of unresectable pancreatic cancer. *J Clin Gastroenterol.* 2008;42:86–91.
314. Wentz SC, Zhao ZG, Shyr Y, et al. Lymph node ratio and preoperative CA 19-9 levels predict overall survival and recurrence-free survival in patients with resected pancreatic adenocarcinoma. *World J Gastrointest Oncol.* 2012;4:207–215.
315. Meyer W, Jurowich C, Reichel M, et al. Pathomorphological and histological prognostic factors in curatively resected ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Surg Today.* 2000;30:582–587.
316. Pantalone D, Ragioneri I, Nesi G. Improved survival in small pancreatic cancer. *Dig*

- Surg. 2001;18:41–46.
317. Pongprasobchai S, Pannala R, Smyrck TC, et al. Long-term survival and prognostic indicators in small (<2 cm) pancreatic cancer. *Pancreatology*. 2008;8:587–592.
 318. Yeo CJ, Cameron JL, Lillemoe KD, et al. Pancreaticoduodenectomy for cancer of the head of the pancreas: 201 patients. *Ann Surg*. 1995;221:721–731.
 319. Schnelldorfer T, Ware AL, Sarr MG, et al. Long-term survival after pancreatoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma: is cure possible? *Ann Surg*. 2008;247:456–462.
 320. Berger AC, Watson JC, Ross EA, et al. The metastatic/ examined lymph node ratio is an important prognostic factor after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Am Surg*. 2004;70:235–240.
 321. Pawlik TM, Gleisner AL, Cameron JL, et al. Prognostic relevance of lymph node ratio following pancreaticoduodenectomy for pancreatic cancer. *Surgery*. 2007;141:610–618.
 322. Riediger H, Keck T, Wellner U, et al. The lymph node ratio is the strongest prognostic factor after resection of pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg*. 2009;13:1337–1344.
 323. Valsangkar NP, Bush DM, Michaelson JS, et al. N0/N1, PNL or LNR? The effect of lymph node number on accurate survival prediction in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg*. 2013;17:257–266.
 324. Slidell MB, Chang DC, Cameron JL, et al. Impact of total lymph node count and lymph node ratio on staging and survival after pancreatectomy for pancreatic adenocarcinoma: a large, population-based analysis. *Ann Surg Oncol*. 2007;15:155–174.
 325. Huebner M, Kendrick M, Reid-Lombardo KM, et al. Number of lymph nodes evaluated: prognostic value in pancreatic adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg*. 2012;16:920–926.
 326. Menon KV, Gomez D, Smith AM, et al. Impact of margin status on survival following pancreatoduodenectomy for cancer: the Leeds Pathology Protocol. *HPB*. 2009;11:18–24.
 327. Raut CP, Tseng JF, Sun CC, et al. Impact of resection status on pattern of failure and survival after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Ann Surg*. 2007;246:52–60.
 328. Andrén-Sandberg A. Prognostic factors in pancreatic cancer. *N Am J Med Sci*. 2012;4:9–12.
 329. Esposito I, Kleeff J, Bergman F, et al. Most pancreatic resections are R1 resections. *Ann Surg Oncol*. 2008;15:1651–1660.
 330. Verbeke CS, Leitch D, Menon KV, et al. Redefining the R1 resection in pancreatic cancer. *Br J Surg*. 2006;93:1232–1237.
 331. Lee SR, Kim HO, Son BH, et al. Prognostic factors associated with long-term survival and recurrence in pancreatic adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2013;60:358–362.
 332. Chatterjee D, Katz MH, Lee JE, et al. Perineural and blood vessel invasion identified

- after neoadjuvant treatment correlates with poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. American Pancreas Club; 45th Annual Meeting May 6-7, 2011.
333. Humphris JL, Chang DK, Johns AL, et al. The prognostic and predictive value of serum CA19.9 in pancreatic cancer. *Ann Oncol.* 2012;23:1713–1722.
 334. Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, et al. A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med.* 2004;350:1200–1210.
 335. Regine WF, Winter KA, Abrams RA, et al. Fluorouracil vs gemcitabine chemotherapy before and after fluorouracil-based chemoradiation following resection of pancreatic adenocarcinoma: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2008;299:1019–1026.
 336. Thomas A, Dajani K, Neoptolemos JP, et al. Adjuvant therapy in pancreatic cancer. *Dig Dis.* 2010;28:684–692.
 337. Neoptolemos JP, Stocken DD, Bassi C, et al. Adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid vs gemcitabine following pancreatic cancer resection: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2010;304:1073–1081.
 338. Oettle H, Neuhaus P, Hochhaus A, et al. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine and long-term outcomes among patients with resected pancreatic cancer: the CONKO-001 randomized trial. *JAMA.* 2013;310:1473–1481.
 339. Wang Q, Gurusamy KS, Lin H, et al. Preoperative biliary drainage for obstructive jaundice. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008:CD005444.
 340. Sewnath ME, Birjmohun RS, Rauws EAJ, et al. The effect of preoperative biliary drainage on postoperative complications after pancreaticoduodenectomy. *J Am Coll Surg.* 2001;192:726–734.
 341. Gouma DJ. Stent versus surgery. *HPB.* 2007;9:408–413.
 342. Hodul P, Creech S, Pickleman J, et al. The effect of preoperative biliary stenting on postoperative complications after pancreaticoduodenectomy. *Am J Surg.* 2003;186:420–425.
 343. Sugiyama M, Atomi Y. Does endoscopic sphincterotomy cause prolonged pancreatobiliary reflux? *Am J Gastroenterol.* 1999; 94:795–798.
 344. Nomura T, Shirai Y, Hatakeyama K. Enterococcal bactibilia in patients with malignant biliary obstruction. *Dig Dis Sci.* 2000;45:2183–2186.
 345. Sewnath ME, Karsten TM, Prins MH, et al. A meta-analysis on the efficacy of preoperative biliary drainage for tumors causing obstructive jaundice. *Ann Surg.* 2002;236:17–27.
 346. Limongelli P, Pai M, Bansi D, et al. Correlation between preoperative biliary drainage, bile duct contamination, and postoperative outcomes for pancreatic surgery. *Surgery.* 2007; 142:313–318.
 347. Pisters PWT, Hudec WA, Hess KR, et al. Effect of preoperative biliary decompression on pancreaticoduodenectomy-associated morbidity in 300 consecutive patients. *Ann Surg.* 2001;234:47–55.
 348. Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, et al. Do preoperative biliary stents increase

- postpancreaticoduodenectomy complications? *J Gastrointest Surg.* 2000;4:258–268.
349. van der Gaag NA, Rauws EA, van Eijck CH, et al. Preoperative biliary drainage for cancer of the head of the pancreas. *N Engl J Med.* 2010;362:129–137.
350. Gavazzi F, Ridolfi C, Capretti G, et al. The role of preoperative biliary stents, bile contamination and antibiotic prophylaxis in surgical site infections after pancreaticoduodenectomy. *BMC Gastroenterol.* 2016;16:43–54.
351. Sun C, Yan G, Li Z, et al. A meta-analysis of the effect of preoperative biliary stenting on patients with obstructive jaundice. *Medicine (Baltimore).* 2014;93:e189